رقم الترتيب:..... الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

رقم التسلسل:..... وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر–الوادي–

كلية العلوم الدقيقة

قسم الكيمياء

مذكرة التخرج تدخل ضمن متطلبات نيل شهادة الماستر

تخصص: كيمياء عضوية

من إعداد الطلبة

بلحسن إيمان

بوقطاية يسرى

غريسي نزيهة

تحت عنوان:

دراسة تأثير درجة الحرارة على مستخلص نبات المردقوش (Origanum Majorana L)على النشاط المضاد للاكسدة

نوقشت يوم 2022/6/15

امام لجنة المناقشة:

وهراني محمد رضا	استاذ تعليم عالي	جامعة الوادي	رئيسا
نغموش نصر صالح	استاذ محاضر ب	جامعة الوادي	مؤطر
زمالي جعفر	استاذ مساعد ا	جامعة الوادي	ممتحنا

السنة الجامعية:2022/2021

الإهداء

اهدي هذا العمل وثمرة جهدي هذا الى الوالدين الكريمين و إلى روح التي فارقة عيني وفي قلبي إلى من كان داعما لي في أول حياتي أبي رحمه الله والى شقيقي في حياتي فرقني عنه الموت أخي خالد رحمه الله

إلى أمي الغالية التي شاركتني لحظات انكساري قبل فرحي إلى توأمي إكرام إلى قوتي واستمراري في الحياة إخواني انس وياسر إلى سندي الدائم دلال الى نور عيني أمنة إلى صديقاتي الوفيات مروة نجيمة ونهلة سيدراتة إلى عائلتي بلحسن وخالدي

إلى كل يد قدمت العون في السر والعلن

إلى جامعتي.إعداد الطالبة بلحسن ا يمان

جامعة الشهيد حمة لخضر –الوادي-

الإهداء

اهدي هذا العمل وثمرة جهدي هذا الى

والدي

لا استطيع ان اقول لك شكرا فهي لا تقال الا في نهاية الاحداث

وانا ارى نفسي دائما في البداية انهل من خيرك وعطائك

...حفظك الله لي ولي اخوتي ورعاك

والدتي

الى من بسمتها غايتي وماتحت اقدامها جنتي ربما لا تتاح الفرصة

لي دائما لا اقول لكي شكرا ...وربما لا املك دائما حرية التعبير

عن الامتنان والعرفان ولكن يكفي ان تعرفي يانور العين ...وان

لكي ولي والدي ابنتة تنتظر فرصة واحدة لتقدم لكما القلب

والروح والعين هدية رخيصة لكل ما قدمتماه. حماك الله وادامك

الي جميع افراد الاسرة كل باسمه

الي زملائي

الي كل يد قدمت العون في السر والعلن

بوقطاية يسرى

الإهداء

الحمد لله الذي وفقنا هذه الخطوة لمسيرتنا الدراسية لمذكرتنا هذه ثمرة الجهد والنجاح

والصلاة والسلام على سيدنا مُحَمَّد

اهدي هذا العمل وثمرة جهدي إلى من مهد لي طريق العلم ومن علمني العطاء بدون انتظار إلى من احمل اسمه بفخر أبي الغالي حفظه الله

إلى من أنارت دربي وأعانتني بدعوات إلى من كان وجودها سبب أفراحي ورضاها سر نجاحي ... أمي الغالية حفظها الله

إلى من هم سندي في الحياة إخوتي وأخواتي حفظهم الله ورعاهم

إلى من كان له اثر في حياتي

و إلى كل من سكنوا قلبي ونسيهم قلبي ولم تتسع لهم هذه الورقة

و إلى كل يد قدمت العون في السر والعلن

إلى جامعتي جامعة الشهيد حمه لخضر –الوادي–

غريسي نزيهة

الشكر والعرفان

نحمد الله الذي تفرد بالجلال والعظمة والكبرياء
ونشكره شكر عبد معترف بالتقصير عن شكر بعض ما أولاه من
النعم والأفضال

نتقدم بالشكر والثناء للأستاذ الدكتور الفاضل **نغموش نصر صالح**
لقبوله الإشراف على هذا العمل
وعلى توجهاته ونصائحه القيمة لإنجاز هذا العمل

نتقدم بالشكر الجزيل إلى **والدينا ووالدتينا** إلى من كللهم الله بالهيبة
والوقار وكانا حافز لنا على
مواصلة دراستنا لذا نطرز من خيوط الشمس اللامعة حروف شكر
ومن ماء الذهب عرفان لحرصهم الدائم
بالدعاء لنا وتشجيعنا

كما نتوجه بكل عبرات الشكر والامتنان إلى كامل أفراد أسرة العلوم
الدقيقة نخص أساتذتنا في قسم الكيمياء
دمتم في خدمة العلم والطلبة

ونتوجه بالشكر الجزيل إلى كل أصدقائنا وزملائنا في الدراسة
2022والعمل وكل طلبة دفعة ماستر

كما نشكر لجنة المناقشة المكونة من الأستاذ **وهراني محمد رضا**
والأستاذ زمالي جعفر على قبولهم مناقشة
وإثراء عملنا هذ ا

ملخص:

في هذه الدراسة ، تم تقييم المستخلص الايثانولي لنبات المردقوش الدي يستعمل في الطب الشعبي الجزائري من حيث الفعالية المضادة للأكسدة الكلية بواسطة اختبار DPPH. تمت دراسة حركية التغيرات في عينات المستخلص المسخنة عند درجات حرارة مختلفة (45 ، 50 ، 60 درجة مئوية) على مدى ساعة واحدة. أدت زيادة درجة حرارة العلاج وزمنه إلى زيادة جميع العوامل بما في ذلك ، نشاط مضادات الأكسدة وتفاوت الارتفاع في نشاط مضادات الأكسدة اعتمادًا على درجات حرارة التسخين والزمن ، أظهرت النتائج أن كل المستخلصات تزيح بشكل معتبر جذر DPPH ، حيث وجد أن تسخين مستخلص المردقوش إلى 60 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة أكثر فعالية من التسخين إلى 45 أو 50 درجة مئوية.

الكلمات المفتاحية: *الإجهاد التأكسدي، النباتات الطبية، مضادات الأكسدة، نبات المردقوش*

Summary:

In this study, the ethanolic extract of the *Origanum majorana* plant, used in Algerian folk medicine, was evaluated in terms of total antioxidant activity by the DPPH test. The kinetics of changes in *Origanum majorana* samples heated at different temperatures (45, 50, and 60 °C) over one hour were studied. The results showed that increasing the treatment temperature and time increased all factors, including, the antioxidant activity and the variation of the rise in the antioxidant activity depending on the heating temperatures and time. The results showed that all extracts significantly displace the DPPH root, as it was found that heating the marjoram extract to 60 degrees Celsius for 30 minutes is more effective than heating to 45 or 50 degrees Celsius.

Key words: *oxidative stress, medicinal plants, antioxidants, marjoram*

Resumée :

Dans cette étude, l'extrait éthanolique de la plante *Origanum majorana*, utilisée dans la médecine traditionnelle algérienne, a été évalué en termes d'activité antioxydante totale par le test DPPH. La cinétique des changements d'échantillons d'*Origanum majorana* chauffés à différentes températures (45, 50 et 60 °C) pendant une heure a été étudiée. Les résultats ont montré que l'augmentation de la température et du temps de traitement augmentait tous les facteurs, y compris l'activité antioxydante et la variation de l'augmentation de l'activité antioxydante en fonction des températures et du temps de chauffage. Les résultats ont montré que tous les extraits déplacent de manière significative la racine de DPPH, car il a été constaté que le chauffage de l'extrait de marjolaine à 60 degrés Celsius pendant 30 minutes est plus efficace que le chauffage à 45 ou 50 degrés Celsius.

Mots clés *: stress oxydatif, plantes médicinales, antioxydants, marjolaine*

قائمة الاشكال

الشكل(I–1)	الصورة الفوتوغرافية ل origanum Majorana L	4
الشكل (I–2)	رسم تخطيطي ل origanum Majorana L	5
الشكال (I–3)	انتشار النبات origanum Majorana L بالجزائر	5
الشكل(II –1)	تفاعل اكسدة الليبيدات	17
الشكل(III – 1)	يوضح طريقة الاستخلاص	31
الشكل(III–2)	مخطط توضيح مراحل الاستخلاص	32
الشكل(IV–1)	منحنى بياني يوضح امتصاصية المحلول الميثانولي للجذر DPPHالحر من اللون البنفسجي الى اللون الاصفر بدلالة طول الموجة	36
الشكل(IV–2)	تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز عند درجة حرارة الغرفة 22م°	37
الشكل(IV–3)	تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز عند درجة حرارة45م°	40
الشكل(IV–4)	تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز عند درجة حرارة50م°	41
الشكل(IV–5)	تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز عند درجة حرارة60م°	43
الشكل IV–6)	قيم IC50عند درجات حرارة وازمنة مختلفة	44

قائمة الجداول

الجدول I.1	التصنيف النباتي ل origanum Majorana L	3
الجدول IV.1	المردود(%)لمستخلص الاجزاء الهوائية لنبتة المردقوش	36
الجدول IV.2	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 22م°	37
الجدول IV.3	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 45م° لمدة 10د	38
الجدول IV.4	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 45م° لمدة 30د	39
الجدول IV.5	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 45م° لمدة 60د	39
الجدول IV. 6	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 50م° لمدة 10د	40
الجدول IV.7	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 50م °لمدة 30د	41
الجدول IV.8	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 50م °لمدة 60د	41
الجدول IV.9	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 60م° لمدة 10د	42
الجدول IV.10	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 60م° لمدة 30د	42
الجدول IV.11	نسبة التشبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 60م° لمدة 60د°	43

قائمة المختصرات:

BHT *butylated hydroxytoluene*

DPPH *2, 2´-diphenlyl-1-picrylhydrazyl*

O_2^- *Superoxide anion*

OH^- *Hydroxyl radical*

ROS *Reactive oxygen species*

P^{53} *tumor protein 53*

FRAP *Ferric reducing ability of plasma*

TP *total polyphinol*

RSM *response surface methodology*

ALT *Alanine Transaminase Test*

MIC Minimum Inhibitory Concentration

MBC *Minimum Bactericidal Concentration*

BHA *Butuylated hydroxyanisole*

TBH *tert- Butylhyroquinone*

ORAC *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

CAT *Catalase*

الفهرس

الفـــــــــــــــهرس

الشكر والعرفان

الملخص I

قائمة الأشكال II

قائمة الجداول III

قائمة المختصرات 1

مقدمة عامة 1

الجزء النظري

الفصل الاول: دراسة نظرية حول النبتة Origanum Majorana L

I. دراسة نظرية حول النبتة *Origanum Majorana L*..... 3

I.1.التعريف بنبتة *Origanum Majorana* L..... 3

I.2. التصنيف النباتي..... 3

I.3. الوصف النباتي..... 4

I.3.1. الإنتشار الجغرافي 5

I.3.2. الاستعمالات الاقتصادية والطبية..... 6

I.4. الدراسات السابقة المنشورة على مستخلص نبات المردقوش :..... 6

قائمة مراجع الفصل الأول

الفصل الثاني: الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

II. الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة:..... 15

II.1. الليبيدات..... 15

II.3. تقسيم الليبيدات..... 16

II.4. الهيدروبيروكسيدات..... 16

II.4.1. الأكسدة الآلية:..... 16

II.4.2. الأكسدة الضوئية:..... 16

II.3.4. الأكسدة الإنزيمية:..... 17
II.5. المركبات المضادة للتأكسد..... 18
II.6. تعريف الجذور الحرة..... 18
II .7. المركبات الأوكسجينية النشطة (ROS)..... 18
II.8.الماء الأوكسجيني:H_2O_2 19
II.8.1.جذر الهيدروكسيل: $OH^{\cdot}$..... 19
II.8.2. جذور البيروكسيل $ROO^{\cdot}$ 20
II.8.3. الهيدروبيروكسيدات العضوية ROOH 20
II.8.4. جذور الألكوسيل $RO^{\cdot}$ 20
II.9. مكافحة الجذور الحرة..... 20
II.9.1. نظام الدفاع داخل العضوية : 20
II.9.2. نظام دفاع خارج العضوية: 21
II.10. مضادات التأكسد..... 21
II.10.1. استعمالات مضادات التأكسد..... 21
II.10.2.النباتات ومضادات التأكسد : 22
II.10.3. مضادات التأكسد الطبيعية: 23
II.11. طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد : 23
II.11.1. تحليل المركبات المتأكسدة..... 23
II.11.2. تحليل البيروكسيدات..... 23
II.11.3. الاختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد 24
II.12. إجهاد التأكسد :Oxidative stress 25

قائمة مراجع الفصل الثاني

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث: الطرق والوسائل

III.الجزء العملي 29
III..تحضير العينة 29
2.III.الاجهزة والادوات المستعملة 29
3.III.تعريف الاستخلاص 30
3.III 1. .استخلاص صلب –سائل..... 30
أ.استخلاص على البارد (النقع) 31
ب. طريقة الاستخلاص لنبتة البردقوش 32
4.III. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكيميائية 33
III .4.1.اختبار تثبيط الجذر الحر: DPPH 33
III. .4.2.طريقة العمل :..... 34
أ. عند درجة حرارة عادية..... 35
ب. عند درجة حرارةمختلفة في ازمنة مختلفة..... 35
الفصل الرابع: النتائج والمناقشة
IV.القدرةالمضادةللتأكسد لمستخلص المردقوش..... 36
1.IV. الطريقة المتبعة في الدراسة 36
2.IV. مردود الاستخلاص 36
3.IV. تأثير درجة الحرارة على القدرة المضادة للأكسدة..... 37
3.IV 1. . القدرة المضادة للأكسدة عند درجة الحرارة الغرفة (22°م)..... 37
2.IV 2. . القدرة المضادة للأكسدة عند درجة الحرارة (45°م) 38
تأثيرالزمن على القدرة المضادة للأكسدة 38
أ.عند درجة الحرارة 45°م لمدة 10 دقائق..... 38
ب.عند درجة الحرارة 45°م لمدة 30 دقيقة 39
ج.عند درجة الحرارة 45°م لمدة 60 دقيقة..... 39
2.IV 3. . القدرة المضادة للأكسدة عند درجة الحرارة (50°م) 40
تغيرات الزمن على القدرة المضادة للأكسدة..... 40
أ.عند درجة الحرارة 50°م لمدة 10 دقائق..... 40
ب.عند درجة الحرارة 50°م لمدة 30 دقيقة 40

ج.عند درجة الحرارة50°م لمدة60 دقيقة..... 41
IV.2. 4 .القدرة المضادة للأكسدة عند درجةالحرارة(60°م)..... 41
تغيرات الزمن على القدرة المضادة للأكسدة..... 41
أ.عند درجة الحرارة 60°م لمدة 10 دقائق..... 42
ب.عند درجة الحرارة60°م لمدة 30 دقيقة.....42
ج.عند درجةالحرارة60°م لمدة60 دقيقة.....42
IV.3. تحديد الشروط المثلى.....43
IV.4.مناقشة النتائج.....44
قائمة مراجع الفصل الرابع
خاتمة عامة
الملاحق

المقدمة العامة

مقــدمة عامـــــة

تعد اغلب النباتات مصدرا غذائية مهما فبإضافة إلى قيمتها الغذائية العالية لاحتوائها على مصدر الطاقة الحياتية من الكربوهيدرات والبروتينات والدهون فانه لها فائدة طبية علاجية حيث أنها لها دور في معالجة الكثير من الحالات المرضية ومنها الربو و الالتهابات الشعب الهوائية والسعال ألديكي وحساسية الجلد وهناك كثير من النباتات مثل الزنجبيل والحبة السوداء والحلبة والحنة والخروع والكزبرة والكمون والتي تمت دراستها كنبتات فعالة دوائية لاحتوائها على مركبات كيميائية ولها فعالية بيولوجية واضحة ضد البكتيريا والفطريات المرضية المختلفة .

المردقوش هو نبات عشبي معمر عطري وموطنه بلاد حوض البحر الأبيض المتوسط وهو من مجموعة النعانع المشهورة ويحتوي على كثير من الفيتامينات والمعادن وعلى الزيوت المتقبلة لفلافونيدات والجليكوسيدات الهيدروكوينون وعلى السكريات القابلة للذوبان في الماء والتربينات الثلاثية تعطى البردقوش من الخصائص الصحية الهامة مثل مضادات المكروبات ومضادات الالتهابات ومسكن ومضاد الاكتئاب ومضادات الفيروسات ويحتوي النبات على زيت طيار واهم مركب فيه ثمول والكاف كرول وتستخدم أوراقه وازهاره كتوابل أو يشرب كالشاي ويستخدم زيته لعلاج نزلات البرد ويستخدم في صناعة الصابون والعطور والمستحضرات التجميل لرائحته العطرية ويستخدم طبية في تنشيط المخ ويقلل من خطر التعرض لمرض الزهايمر ويساعد على تقوية الجهاز المناعي ويخفض الكوليسترول ويقلل من التعرض للإصابة بالتصلب الشرايين .

بسبب وجود مركب حمض الروزمارنيك ويعتبر مفيد في امراض القلب والدم والحمى ويعتبر مهدئ ويستخدم في الولايات المتحدة الأمريكية كمضاد للمكروبات إذ يوضع مع اللحوم المصنعة كالمادة حافظة طبيعية وكذلك يعتبر مضاد للأكسدة حيث استخدمت كمضادات الأكسدة وكمضادات لمكروبات في صناعة بكر الدجاج ويستخدم لتغليف السمك كمضادات الأكسدة لما لها من أهمية في مجال حفظ الأغذية وتأخير الفعل التأكسدي المسؤول عن الطعم والنكهة الكريهة الغير المرغوب فيها والتغير في اللون الذي ينجم عنه فقدان القيمة الغذائية للأغذية وتأثيرها على صحة الإنسان وتكوين مركبات سامة.

لذا يتطلب الأمر إضافة المواد المضادة للأكسدة لعرقلة ومنع أكسدة الدهون والزيوت الأغذية ومنها مضادات الأكسدة الصناعية BHT و BHA ولكن في الآونة الأخيرة برز العديد من الشكوك حول تأثير بعض العوامل مثل الحرارة على فعاليتها وأثارها الجانبية على صحة الإنسان مما يتطلب الأمر في البحث عن مصادر طبيعية تكون أكثر أمان .

تهدف الدراسة الحالية إلى معرفة تأثير درجة الحرارة على القدرة المضادة للأكسدة لمستخلص نبات المردقوش، حيث يشمل عملنا هذا ما يلي :

جزء نظري الذي يتضمن فصلين:

- **الفصل الأول**: يشمل دراسة بيبليوغرافية حول نبات المردقوش و الدارسات العلمية السابقة حول هذا النبات
- **الفصل الثاني**: يدرس طرق مضادات الأكسدة واستعمالاتها واهم مركبات التي لها قدرة مثالية لي الإجهاد التأكسدي

وجزء تطبيقي يشمل فصلين :

- **الفصل الثالث**: يشمل النتائج التجريبية المحصل عليها ومناقشتها ومقارنتها مع النتائج المنشورة في المراجع.

- ✓ **الفصـل الرابـع**: ويتظمن الأجهزة والوسـائل المستعملة بالإضـافة إلى المواد ، وخطوات العمل التجريبية لتحديد القدرة المضادة للأكسدة وتأثير الزمن عليها .

وننهي عملنا هذا بخلاصة عامة

المراجـــــع

[1] D. Khadka, M. K. Dhamala, F. Li, P. C. Aryal, P. R. Magar, S. Bhatta, et al., "The use of medicinal plants to prevent COVID-19 in Nepal," Journal of ethnobiology and ethnomedicine, vol. 17, pp. 1-17, 2021.

[2] B. B. Petrovska, "Historical review of medicinal plants' usage," Pharmacognosy reviews, vol. 6, p. 1, 2012 .

[3] A. Hutchings, Zulu medicinal plants: An inventory: University of Natal press, 1996.

[4] N. Vasudeva, "Origanum majorana L.-Phyto-pharmacological review," 2015.

[5] K. Baser, N. Kirimer ,and G. Tümen, "Composition of the essential oil of Origanum majorana L. from Turkey," Journal of Essential Oil Research, vol. 5, pp. 577-579, 1993.

[6] S. Khaleghi, J. Khayatzadeh, and A. Neamati, "Biosynthesis of Zinc Oxide nanoparticles, " using Origanum majorana L. leaf extract, its antioxidant and cytotoxic activities Materials Technology, pp. 1-10, 2022.

[7] G. N. Mohapatra, B. Tripathy, B. Kumar, B. Chowdhury, and R. Das, "Review on Methods Used to Determine Antioxidant Activity of Origanum majorana," Current Nutrition & Food Science, vol. 18, pp. 181-192, 2022.

الجزء النظري

الفصل الاول

دراسة نظرية حول النبتة

origanum Majorana L

I. دراسة نظرية حول النبتة *Origanum Majorana L*

1.I. التعريف بنبتة *Origanum Majorana L*

الاسم Origanum أصله من كلمتين يونانيتين " *oros"* وتعني الجبال و*"gonos"* وتعني الإشراقة المتعة وهكذا أصبح معروفا بمتعة الجبال لجماله ووفرته في المناطق الجبلية في حوض البحر الأبيض المتوسط.[1]

Origanum Majorana L المعروف سابقًا باسم *Majoranahortensis Moench* هو عشب معمر[2] يتميز الجنس بالتنوع المورفولوجي والكيميائي الكبير وله تسعة وأربعون تصنيفا مقسمة إلى محليا موزعة حول البحر الأبيض المتوسط.جنس عشب معروف بشكل شائع باسم المردقوش الحلو والموطن الأصلي في الأناضول (تركيا) وقبرص ومتجنس في أجزاء من منطقة البحر الأبيض المتوسط خاصة مصر [3]، استخدم المردقوش في البداية من قبل أبقراط كعامل مطهر. إنه علاج منزلي جيد للعدوى الصدرية والسعال والتهاب الحلق [4, 5].

2.I. التصنيف النباتي لـ *Origanum Majorana L*

الإسم العلمي : *Origanum Majorana L*

مـرادفــة: *Marjolaine*

الإسم الشائع : المردقوش

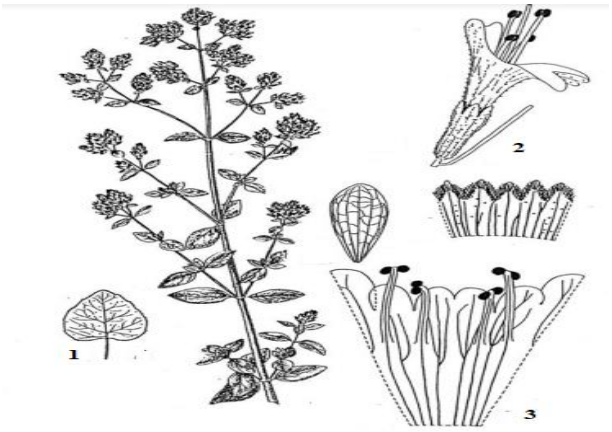
الجدول1 : التصنيف النباتي لـ *Origanum Majorana L*

Espèce	*Majorana L*	**النوع**
Genere	*Origanum*	**الجنس**
Famille	Lamiaceae	**العائلة**
Order	Lamiales	**الرتبة**
Class	Mangnoliopsida	**الطائفة**
Embranchement	Mangnoliophyta	**الشعبة**
Règne	Végétales	**المملكة**

3.I. الوصف النباتي لـ *Origanum Majorana L*

هي شجيرة نصف معمرة تنمو سنويًا حساسة للبرد شجيرة عطرية يصل إلى 30-60 سم ارتفاعًا، ولها جذوع محمرة مربعة متعددة الفروع تنتشر لتشكل كومة. السيقان مستقيمة، ضعيفة، مشعرة، مستديرة خضراء مع بقع حمراء [6]. الأوراق ناعمة، بسيطة، سويقيه وبيضاوية إلى مستطيل بيضوي، خضراء رمادية اللون مرتبطة بعكس بعضها البعض على ساق مربع. هي ناعمة للغاية بسبب وجود العديد من الشعر. طولها 0.5-1.5 سم وعرضها 0.2–0.8 سم، مع قمة منفرجة، وحافة كاملة، وقاعدة متناظرة ولكنها مستقيمة، وعروق شبكية. لها زهور صغيرة أنبوبية، بيضاء أو وردية شاحبة مع براكتس أخضر رمادي يزهر في السنبلة كعناقيد من منتصف إلى أواخر الصيف (جوان إلى سبتمبر). يبلغ طولها أقل من 0.3 سم وترتبها طول الرؤوس 13 سم. الزهور هي خنثى في الطبيعة [7] ببذور دقيقة، بيضاوية داكنة وبنية اللون التي تنضج من أغسطس إلى سبتمبر. لديها اسطوانية فرعية. الجذور مجعره طوليا مع شقوق عرضية: 0.2-0.6 مم في القطر السطح الخارجي للجذر بني داكن في حين أن اللون البني الفاتح داخلي مع العديد من الجذيرات الطويلة وندبات الجذور موجودة أيضا. الشقوق تكون طويلة، متناظرة وليفية لها رائحة عطرية وغير لاذعة [8].

الشكل I-1 : الصورة الفوتوغرافية لـ *Origanum Majorana L*



1-الأوراق ناعمة، بسيطة بيضاوية إلى مستطيل بيضوي

2-زهور صغيرة أنبوبية

3-براكتس يزهر في السنبلة كعناقيد

الشكل I-2: رسم تخطيطي لـ *Origanum Majorana L*

I.3.1. الإنتشار الجغرافي لـ *Origanum Majorana L*

موطنه تركيا وقبرص وانتشر منه في بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط (مثل لبنان) وفي إيران وشمال أمريكا والجزيرة العربية والهند .ينمو على المنحدرات المشمسة في المروج والحقول والأراضي الحجرية في الأجواء الجافة. يزرع بكثرة في المناطق الجنوبية من السعودية[9].و الشكل (I-3) يوضح انتشار نبات *Origanum Majorana L* بالجزائر.

الشكل I-3:انتشار نبات *Origanum Majorana L* بالجزائر

I.2.3. الاستعمالات الاقتصادية والطبية لـ *Origanum Majorana L*

علاج منزلي جيد للعدوى الصدرية والسعال والتهاب الحلق ولألم روماتزمي، اضطرابات عصبية، أمراض قلبية وعائية، أرق الصرع، انتفاخ البطن العناية بالبشرة واضطرابات المعدة [3, 10].

يستخدم على نطاق واسع في الصناعات الغذائية كتوابل مع اللحوم والخضراوات. وينصح بعدم تناوله أثناء الحمل، لأنه منبه رحمي نشط[4, 5] .

في التقاليد الأوراق تستخدم لعلاج السكر الأرق الزكام الربو والهلع [11] زيتها الطيار يستخدم لإضفاء نكهة لمختلف الأطعمة خاصة الحساء، المرق، اللحم، السمك، المأكولات المعلبة، الخمور، والبيرة [4, 12].

I.4. الدراسات السابقة المنشورة على مستخلص نبات المردقوش :

في دراسة سنة 2007 لـ Massoud Hekmat [13] تم تقدير التركيب الكيميائي والعناصر المعدنية لأوراق نبات المردقوش حيث كانت النسبة المئوية لمحتوى الرطوبة والبروتين والدهن والرماد والكاربوهيدرات (5.7 / 8.4/6.6 66.3/ 18.7/) ٪ بينما كانت تراكيز العناصر المعدنية Ba . Fe . K . Co . Na (0.01 / 0.49 /0.039/ 5.1/ 0.6/) جزء من المليون على التوالي. وشخصت المجاميع الفعالة من خلال اجراء الكشوفات النوعية على مستخلصات العشبة المائية والكحولية، إذ لوحظ احتوائها على التانينات والفينولات والفلافونيدات والصابونيات والكاربوهيدرات والقلويدات ودرست الفحوصات الفيزيائية والكيميائية إذ لوحظ ذوبانها جزئيا في المذيبات القطبية وكليا في المذيبات الغير قطبية .

في مقالة لـ Veenstra et al[14] سنة 2019 ، حيث درس تأثير أوراق العشبة المطحون كمادة حافظة للحم البقر بتراكيز (0.5- 1) ٪ المخزون بالتبريد بدرجة 5 درجة مئوية لمدة (0-7- 10) أيام وتم متابعة التغيرات التي تطرأ على قطع اللحم من خلال تقدير رقم البيرو كسيد حيث بينت النتائج إنخفاض قيمته في العينات المعاملة بمسحوق أوراق العشبة بالمقارنة مع العينة الطازجة خلال فترة الخزن، وكذالك درس تأثيره في لوغاريتم أعداد البكتيريا الكلى وبكتيريا الكولون الموجودة في اللحم بنفس فترة الخزن والتراكيز السابقة واظهرت النتائج أن للعشبة دور في تقليل أعداد الأحياء المجهرية في نماذج اللحم المفروم وكذالك امتلاكها فعالية مضادة للأكسدة من خلال إطالة العمر التخزيني لقطع اللحم.

في دراسة أخرى لـ Leeja et al سنة 2007 [15] تم اختبار نشاط مبيد الميكروبات لمستخلص الميثانولي للمردقوش ضد سبعة فطريات وستة بكتيريا. حيث خلصت الدراسة أن مستخلص المردقوش يمكن أن يستخدم

كواقي عشبي فعال ضد البكتيريا والفطريات المسببة للأمراض المختلفة. تم تشخيص سمية عالية ضد نمو Aspergillus niger.

قام Abdel-Massih et al سنة 2010 [16] ، باختبار النشاط المضاد للتكاثر للمستخلصات النباتية من المردقوش على خلايا سرطان الدم الليمفاوي البشري Jurkat. تم فحص السمية الخلوية باستخدام مقايسة السمية الخلوية غير المشعة وتم حساب IC_{50}. في التركيزات غير السامة للخلايا انخفضت صلاحية الخلايا مع زيادة تركيز المستخلص النباتي. وجد أيضًا أن التأثير المضاد للتكاثر يعتمد على الجرعة. يظهر التحليل عن طريق قياس التدفق الخلوي أن مستخلصات المردقوش حفزت موت الخلايا المبرمج. كان سبب تحريض موت الخلايا المبرمج هو التنظيم الأعلى لمستويات البروتين p53 والتنظيم السفلي لـ Bcl-2α. أظهر المردقوش نشاطًا قويًا في الكسح ($I_{C50} = 0.03$ مغ بالوزن الجاف). تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن مستخلصات المردقوش تظهر تأثيرًا مضادًا للتكاثر ونشاطًا عاليًا لمضادات الأكسدة.

تم فحص الخواص المضادة للأكسدة والفينولات الكلية لمذيبات الاستخلاص المختلفة للمردقوش باستخدام طريقة (DPPHradical) وطريقة Folin-Ciocalteu على التوالي من طرف Roby et al سنة 2013 [17]. أظهر الميثانول أعلى قدرة استخلاص لمثل هذا المركبات الفينولية ، حيث كان إجمالي الفينولات 5.20 (ملغ مكافئ حمض الغاليك / غرام وزن جاف) وأظهر أيضًا أقوى قدرة مضادة للأكسدة. بناءً على النتائج التي تم الحصول عليها ، يمكن استخدام المردقوش كمضادات أكسدة طبيعية نظرًا لفعاليتها المضادة للأكسدة. أظهر تحليل HPLC للمستخلص الميثانولي وجود: حمض روزمارنيك ، ميثيل روزمارينات ، حمض الكافيك ، حمض سيناميك ، حمض الكلوروجينيك وحمض الكينيك كأحماض فينولية ، إلى جانب بعض مركبات الفلافونويد مثل حمض الفيروليك والأبيجينين واللوتولين والكيرسيتين. أظهرت النتائج أن مستخلص ميثانول المردقوش يمتلك أفضل نشاط مضاد للأكسدة ، والذي كان أفضل من تلك الموجودة في النباتات الأخرى ، α−tocopherol و BHA.

تم تقديم الخصائص المضادة للأكسدة لعشب المردقوش في دراسة لـ Vagi et al سنة 2005[18] ، المستخلصات التي تم الحصول عليها باستخدام الإيثانول ، n−hexane ، واستخراج ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج. تم قياس كمية مضادات الأكسدة الفردية وحمض أورسوليك وحمض الكرنوسيك والكارنوسول باستخدام كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء. تمت دراسة تأثير العوامل المختلفة (درجة الحرارة والضغط) للاستخلاص بالضغط العالي على محصول الكرنوسول. علاوة على ذلك ، تمت مقارنة عشبين من المردقوش من المجر ومصر في قياس قدرات فقدان

الهيدروجين مع diphenyl-2-picrylhydrazyl-1،1 بواسطة مقياس الطيف الضوئي وقدرات الكسح الكلية بواسطة طرق القياس الكيميائي من المستخلصات المائية للأعشاب. تم إجراء الأنشطة المضادة للأكسدة للمستخلصات المذيبة باستخدام طريقة Rancimat، حيث وجد أن مستخلصاتها تمتلك أنشطة مضادة للأكسدة. بتطبيق استخراج ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج ، تم الحصول على أعلى قيمة للكارنوسول عند 400 بار و 60 درجة مئوية

وجد Al Dhaheri et al سنة 2013 [19] أن مستخلص المردقوش كان قادرًا على تثبيط صلاحية خلايا MDA-MB-231 في وقت و بطريقة تعتمد على التركيز. حيث تم تأكيد تأثيره على الحيوية الخلوية من خلال تثبيط المستعمرة، حيث تسببت التركيزات البالغة 150 و 300 ملغ / مل في تراكم تجمعات مقاومة موت الخلايا المبرمج في الخلايا المحتجزة في الانقسام الخيطي والإفراط في التعبير عن مثبط كيناز المعتمد على السيكلين ، p21 ومثبط موت الخلايا المبرمج ، النجيفين. من جهة أخرى أدت إلى موت الخلايا المبرمج الهائل من خلال المسار الخارجي ، بما في ذلك تنشيط عامل نخر الورم- أ (TNF-a) ، كاسباس 8 ، كاسباس 3 ، وانقسام PARP ، تقليل تنظيم البقاء على قيد الحياة وكذلك استنفاد p53 الطافر في خلايا MDA-MB-231. علاوة على ذلك ، تسبب مستخلص المردقوش في زيادة تنظيم c-H2AX ، علامة على انكسار الحمض النووي المزدوج الشريط وفرط هيستون H3 و H4.

عمل Hossain et al سنة 2012 [20] على تحسين ظروف الاستخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية لزيادة النشاط المضاد للأكسدة [القدرة المضادة للأكسدة لتقليل أيونات الحديديك (FRAP)] ، ومحتوى الفينولات الكلية (TP) ومحتوى البوليفينول الفردي لمستخلصات المردقوش. تم تحديد الظروف المثلى فيما يتعلق بسعة الصوتنة (24.4 - 61.0 ميكرومتر) ودرجة حرارة الاستخلاص (15-35 درجة مئوية) وزمن الاستخلاص (5-15 دقيقة) باستخدام منهجية سطح الاستجابة (RSM). أظهرت النتائج أن ظروف المعالجة المركبة من 61 ميكرومتر و 35 درجة مئويةو15 دقيقة كانت مثالية لتعظيم TP و FRAP وحمض rosmarinic و luteolin-7-O-glucoside و apigenin-7-O-glucoside و caffeic acid و carnosic acid. وقيم الكرنوسول من المستخلصات. كانت القيم المتوقعة من المعادلة التربيعية المطورة في اتفاق وثيق مع القيم التجريبية الفعلية بمتوسط انحرافات متوسط منخفضة (E٪) تتراوح من 0.45٪ إلى 1.55٪. كان مردود الاستخلاص أعلى .

في دراسة أخرى لـ Hossain et al سنة 2011 [21] لتقييم قدرة مضادات الأكسدة في مستخلص المردقوش. تم تحديد الظروف المثلى فيما يتعلق بدرجة حرارة الاستخلاص (66-129 درجة مئوية) وتركيز المذيب (32-

88٪ ميثانول) باستخدام منهجية سطح الاستجابة (RSM). أظهرت النتائج أن 129 درجة مئوية كانت درجة الحرارة المثلى للحصول على مستخلص ذات نشاط مضاد للأكسدة عالي. كانت التركيزات المثلى للميثانول فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأكسدة لمستخلص المردقوش 57٪ و أظهر استجابة مختلفة لتأثير تركيز الميثانول.

لخصت دراسة من طرف El-Ashmawy et al سنة 2005 [22] أن مستخلص المردقوش هو أحد مضادات الأكسدة القوية. تمت دراسة تأثير (زيت طيار ، ومستخلصات كحولية ومائية) على تناول أسيتات الرصاص عن طريق الفم في غذاء الفئران بتركيز 0.5٪ (وزن / وزن) لمدة شهر واحد عن طريق قياس مصل ألانين أمينوترانسفيراز (ALT) ، ناقلة أمين الأسبارتات (AST) ، الفوسفاتيز القلوي (ALP) ، اليوريا والكرياتينين ، التغيرات النسيجية المرضية للكبد والكلى والسمية الجينية بما في ذلك معدل النوى الدقيقة والزيغ الصبغي في خلايا نخاع العظم. عولجت الفئران بثلاثة أشكال مختلفة من مستخلص المردقوش ، قبل شهر واحد وتم الحفاظ عليها باستخدام خلات الرصاص. تسببت الأشكال الثلاثة من مستخلص المردقوش في انخفاض كبير في أنشطة المصل من الترانس أميناس (AST & ALT) و ALP واليوريا والكرياتينين وحسنت نسيج الكبد والكلى مقارنة بالملغوعة المعالجة بخلات الرصاص. المستخلصات الكحولية من مستخلص المردقوش قللت بشكل كبير من معدل النوى الدقيقة وعدد الخلايا الشاذة وأنواع مختلفة من الزيغ الصبغية. قلل مستخلص الزيت الطيار بشكل كبير من معدل النوى الصغيرة وشظايا الكروموسومات. يقلل المستخلص المائي والزيت الطيار أيضًا من المردقوش بشكل كبير في عدد الفجوات وكروموسوم الحلقة والالتصاق. حيث استنتج أن المردقوش يلعب دورًا مهمًا في تحسين وظائف الكبد والكلى والسمية الجينية التي تسببها سمية الرصاص.

قام Dhull et al سنة 2016[23] بتقييم إمكانات إزالة الجذور الحرة ومضادات الأكسدة لمستخلصات بذور المردقوش وربطها بالمحتوى الفينولي الكلي (TPC) ومحتوى التانين المكثف (CTC). تم استخدام الإيثانول والميثانول والأسيتون والكلوروفورم لاستخراج المركبات النشطة بيولوجيًا من بذور المردقوش عند 45 درجة مئوية لمدة 45 دقيقة. بالمقارنة مع المذيبات الأخرى ، يبدو أن الميثانول مذيب استخلاص مهم ، حيث لوحظ الحد الأقصى من المركبات النشطة بيولوجيًا (1.18 ملغ GAE / g dwb) مع إمكانات مضادات الأكسدة في مستخلص الميثانول. تم تقييم المركبات الفينولية في البذور باستخدام طريقة Folin–Ciocalteu (كاشف FC). كان تقدير المركبات الفينولية في البذور في حدود 0.10 - 1.18 ملغ من مكافئ حمض الجاليك / غرام أساس الوزن الجاف (ملغ GAE / غرام وزن جاف). أكدت دراسة HPLC وجود الكاتشين وحمض سيناميك وحمض الغاليك وحمض

الأسكوربيك. أكدت إمكانات مضادات الأكسدة في مستخلصات بذور المردقوش وجود خصائص مغذية فيها والتي ستكون مفيدة أيضًا في تحضير العديد من المنتجات الغذائية الوظيفية.

درس Pimple et al سنة 2012 [24] مضادات الأكسدة ، ومضادات ارتفاع السكر في الدم ، ومضادات فرط شحميات الدم لأوراق نبات المردقوش ، حيث تم استخدام مستخلصات مختلفة من المردقوش مثل ، الزيت المتطاير المقطر بالماء (OMO) ، مستخلص الأثير البترولي (OMPE) ، المستخلص الميثانولي (OMM) والمستخلص المائي (OMW). ثلاث جرعات من كل مستخلص بمعنى. 100 و 200 و 400 مغ / كغ ص. تم استخدامها للدراسة. تم استخدام (Streptozotocin ، 65 STZ ملغ / كلغ ، IP) جنبًا إلى جنب مع نيكوتيناميد (120 ملغ / كلغ ، IP) للحث على داء السكري غير المعتمد على الأنسولين (NIDDM) في الفئران. تم تقدير العلامات البيوكيميائية المختلفة لأصل الدم والأنسجة. تم تحليل النتائج إحصائيًا بواسطة ANOVA متبوعًا باختبار Dunnett. تم استخدام Glibenclamide ، وهو عقار معروف مضاد لمرض السكر كمعيار، أظهرت تأثيرًا مضادًا لفرط شحميات الدم. من هذه الدراسة ، استنتج أن الزيت المتطاير والمستخلص الميثانولي لأوراق المردقوش يمكن أن يكون مفيدًا في إدارة NIDDM وعدم توازن الدهون المرتبط به.

في دراسة حديثة من طرف Yousefi et al سنة 2021 [25] التي تضمنت دراسة التأثيرات المحتملة لمستخلص المردقوش الغذائي على أداء النمو ، والصحة ، ومقاومة الأمراض على نوع من الأسماك(الكارب). لهذا الغرض ، تم تقسيم الأسماك إلى أربعة معالجات وتم إطعامها من خلال نظام غذائي مكمل بـ 0 (عينة شاهدة) و 100 و 200 و 400 ملغ من مستخلص المردقوش، 1كلغ على مدار ثمانية أسابيع ثم تم الطعن بـ Aeromonas hydrophila. وفقا للنتائج ، أظهر 200 ملغ كلغ من مستخلص المردقوش الغذائي المتضمن أعلى وزن نهائي ، وزيادة الوزن ، ومعدل النمو النوعي ، وأقل نسبة تحويل علف (FCR). تم زيادة عدد خلايا الدم البيضاء ، خلايا الدم الحمراء ، الهيماتوكريت ، الهيموغلوبين ، متوسط حجم الجسم العضلي ومتوسط الهيموجلوبين العضلي بشكل ملحوظ خاصة عند علاج 200 ملغ / كلغ. زاد مستخلص المردقوش بشكل كبير من نشاط ديسموتاز الفائق في البلازما وخفض مستوى مالونديالديهيد مقارنة بمعاملة التحكم. تم زيادة نشاط مكمل البلازما والليزوزيم ومستويات الغلوبولين المناعي الكلي والمكملات المخاطية وأنشطة الليزوزيم والفوسفاتيز القلوي ومستويات الغلوبولين المناعي بشكل ملحوظ مقارنة بالملغوعة الضابطة. ولوحظ أقل معدل للبقاء على قيد الحياة بعد التحدي في علاج الشاهد ، بينما كانت أعلى قيمة مرتبطة بعلاج 200 ملغ / كلغ من المردقوش ، حيث أوضحت الدراسة أن مستخلص المردقوش هو

مكمل غذائي مناسب للكارب الشائع ، حيث أنه يحفز نمو الأسماك ، ومضادات الأكسدة ، والجهاز المناعي ، مما يحد من نفوق الأسماك أثناء تسمم الدم Aeromonas. وفقًا للنتائج ، يوصى باستخدام 200 ملغ من مستخلص المردقوش لتغذية الكارب.

هدفت الدراسة من طرف Deshmane et al سنة 2007 [26] إلى تقييم الأنشطة المضادة للاختلاج والمسكنات لمستخلصات مختلفة من الأجزاء الهوائية (الأوراق والسيقان) من المردقوش. تم التحقيق في التأثير المضاد للاختلاج لـ المردقوش باستخدام اختبار(Pentylenetetrazole PTZ) والصدمة الكهربائية القصوى (MES). أظهر المردقوش تأثيرًا مضادًا للاختلاج في كل من نماذج النوبات التي يسببها PTZ و MES بجرعات 250 و 500 ملغ / كلغ ، IP أدت مستخلصات المردقوش إلى تأخير ظهور النوبات وخفضت مدة النوبات في اختبار PTZ وخفضت مدة النوبات في اختبار MES. أظهر CEOM الحد الأقصى من التخفيض (58.47 و 44.83 ٪ في اختبار PTZ و MES على التوالي) في مدة النوبات ، ومن ثم تمت معالجته لعزل جزء حمض التريتربينويك (TAF) الذي يحتوي على كمية كبيرة من حمض اليورسوليك. أظهر TAF أقصى انخفاض (64.54 و 59.31 ٪ في اختبار PTZ و MES على التوالي) في مدة النوبات مقارنة بالمستخلصات الأخرى من *O. majorana*. كما أن المستخلصات الاختبارية قللت من الكمون وزادت مدة إجمالي وقت النوم بشكل ملحوظ. تضاد النوبات المستحثة كيميائياً وكهربائياً مع أن مستخلصات المردقوش تمتلك نشاطًا مضادًا للاختلاج. قد يكون وجود مركبات الفلافونويد والستيرويدات والتريتربينويدات والزيوت الأساسية مسؤولاً عن النشاط المضاد للاختلاج لهذا النبات.

كان هدف من الدراسة التي نشرت من طرف Duletić–Laušević et al سنة 2018 [27] هو فحص التركيب الكيميائي واختبارمضاد للتكاثر ، مضاد للأكسدة ومضاد للبكتيريا للمستخلصات المائية والإيثانولية للمردقوش ، وأنشطته لمضادات الأكسدة ، وأسيتيل كولينستراز وتم قياس الأنشطة المثبطة للتيروزيناز بالطيف الضوئي. تم تحديد المركبات الفينولية في المستخلصات باستخدام تقنية HPLC-DAD. تضمن النشاط المضاد للبكتيريا تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) والحد الأدنى لتركيز مبيد للجراثيم (MBC) باستخدام طريقة microdilution.

حيث تم تسجيل أعلى محتويات الفينول واللافونويد في مستخلص إلايثانولي، حيث أظهر تحليل HPLC نسبة عالية من حمض الروزمارينيك ، نشاط مضادات الأكسدة ومضادات التنكس في الاختبارات التطبيقية من المستخلصات الإيثانولية. وأظهرت السلالات البكتيرية موجبة الجرام أعلى الحساسية للمستخلصات المختبرة. وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها ، حلوة يمكن تمييز عينات المردقوش من صربيا ومصر على أنها أكثر واعد ، بسبب

احتوائه على أعلى محتوى من الفينولات واللافونويد وأفضل مضادات الأكسدة ومضادات الجراثيم ومثبطات نشاط التيروزيناز.

قائمة مراجع الفصل الأول

[1] M. Brada, A. Saadi, J. P. Wathelet, and G. Lognay, "The essential oils of Origanum majorana L. and Origanum floribundum munby in Algeria," *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 15, pp. 497-502, 2012.

[2] S. Duletić-Laušević, A. A. Aradski, S .Kolarević, B. Vuković-Gačić, M. Oalđe, J. Živković, *et al.*, "Antineurodegenerative, antioxidant and antibacterial activities and phenolic components of Origanum majorana L.(Lamiaceae) extracts," *J. Applied Botany and Food Quality*, vol. 91, pp. 126-134, 20.18

[3] S. A. Selim, M. H. A. Aziz, M. S. Mashait, and M. F. Warrad, "Antibacterial activities, chemical constitutes and acute toxicity of Egyptian Origanum majorana L., Peganum harmala L. and Salvia officinalis L. essential oils," *African journal of pharmacy and pharmacology*, vol. 7, pp. 725-735, 2013.

[4] N. Vasudeva, "Origanum majorana L.-Phyto-pharmacological review," 2015.

[5] B. Joshi, S. Lekhak, and A. Sharma, "Antibacterial property of different medicinal plants: Ocimum sanctum, Cinnamomum zeylanicum, Xanthoxylum armatum and Origanum majorana," *Kathmandu university journal of science, engineering and technology*, vol. 5, pp. 143-150, 2009.

[6] G. Usmonova and G. Ochilova, "MEDICINAL PLANT-MOUNTAIN BASIN (ORIGANUM VULGARE)," in *International Scientific and Current Research Conferences*, 2021, pp. 06-09.

[7] B. V. Satya Kumar, M. Rupesh Kumar, T. Tamizhmani, O. Fasalu Rahiman, and K. M. Niyas, "MAJORANA HORTENSIS (M.): A REVIEW UPDATE," *Pharma Science Monitor*, vol. 2, 2011.

[8] I. Gheitasi, A. Azizi ,N. Omidifar, and A. H. Doustimotlagh, "Renoprotective effects of Origanum majorana methanolic L and carvacrol on ischemia/reperfusion-induced kidney injury in male rats," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2020, 2020.

[9] E. Skoufogianni, A. D. Solomou, and N. G. Danalatos, "Ecology, cultivation and utilization of the aromatic Greek oregano (Origanum vulgare L.): A review," *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, vol. 47, pp. 545-552, 2019.

[10] S. I. Adam and T. G. Ahmed, "Phytochemical Screening and Biological effect of Indigenous Medicinal plant Origanum majorana extracts," *Journal of Faculty of Science and Technology*, vol. 5, 2014.

[11] B. Tripathy, S. Satyanarayana, K. A. Khan, and K. Raja, "An updated review on traditional uses, taxonomy, phytochemistry, pharmacology and toxicology of Origanum majorana," *Int J Pharma Res Health Sci*, vol. 5, pp. 1717-23, 2017.

[12] R. Baranauskienė, P. R. Venskutonis, K. Dewettinck, and R. Verhé, "Properties of oregano (Origanum vulgare L.), citronella (Cymbopogon nardus G.) and marjoram (Majorana hortensis L.) flavors encapsulated into milk protein-based matrices," *Food research international*, vol. 39, pp. 413-425, 2006.

[13] H. Y. Massoud, "EFECT OF MINERAL AND BIO-PHOSPHATE FERTILIZATION ON THE GROWTH, ESSENTIAL OIL PRODUCTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF MARJORAM PLANT," *Journal of Plant Production*, vol. 32, pp. 1293-1308, 2007.

[14] J. P. Veenstra and J. J. Johnson, "Oregano (Origanum vulgare) extract for food preservation and improvement in gastrointestinal health," *International journal of nutrition*, vol. 3, p. 43, 2019.

[15] L. Leeja and J. Thoppil, "Antimicrobial activity of methanol extract of Origanum majorana L.(Sweet marjoram)," *Journal of Environmental Biology*, vol. 2 ,8p. 145, 2007.

[16] R. M. Abdel-Massih, R. Fares, S. Bazzi, N. El-Chami, and E. Baydoun, "The apoptotic and anti-proliferative activity of Origanum majorana extracts on human leukemic cell line," *Leukemia research*, vol. 34, pp. 1052-1056, 2010.

[17] M .H. H. Roby, M. A. Sarhan, K. A.-H. Selim, and K. I. Khalel, "Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (Thymus vulgaris L.), sage (Salvia officinalis L.), and marjoram (Origanum majorana L.) extracts," *Industrial Crops and Products*, vol. 43, pp. 827-831, 2013.

[18] E. Vagi, E. Rapavi, M. Hadolin, K. Vasarhelyine Peredi, A. Balazs, A. Blazovics, *et al.*, "Phenolic and triterpenoid antioxidants from Origanum majorana L. herb and extracts obtained with different solvents," *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 53, pp. 17-21, 2005.

[19] Y. Al Dhaheri, A. Eid, S. AbuQamar, S. Attoub, M. Khasawneh, G. Aiche, *et al.*, "Mitotic arrest and apoptosis in breast cancer cells induced by Origanum majorana extract: upregulation of TNF-α and downregulation of survivin and mutant p53," *Plos one*, vol. 8, p. e56649, 2013.

[20] M. B. Hossain, N. P. Brunton, A. Patras, B. Tiwari, C. O'donnell, A. B. Martin-Diana, *et al.*, "Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (Origanum majorana L.) using response surface methodology," *Ultrasonics sonochemistry*, vol. 19, pp. 582-590, 2012.

[21] M. Hossain, C. Barry-Ryan, A. B. Martin-Diana, and N. Brunton, "Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (Rosmarinus officinalis L.), marjoram (Origanum majorana L.) and oregano (Origanum vulgare L.) using response surface methodology," *Food Chemistry*, vol. 126, pp. 339-346, 2011.

[22] I. M. El-Ashmawy, A. F. El-Nahas, and O. M. Salama, "Protective effect of volatile oil, alcoholic and aqueous extracts of Origanum majorana on lead acetate toxicity in mice," *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, vol. 97, pp. 238-243, 2005.

[23] S. B. Dhull, P. Kaur, and S. S .Purewal, "Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (Origanum majorana) seed extracts," *Resource-Efficient Technologies*, vol. 2, pp. 168-174, 2016.

[24] B. Pimple, P. Kadam, and M. Patil, "Comparative antihyperglycaemic and antihyperlipidemic effect of Origanum majorana extracts in NIDDM rats," *Oriental pharmacy and experimental medicine*, vol. 12, pp. 41-50, 2012.

[25] M. Yousefi, H. Ghafarifarsani, S. H. Hoseinifar, G. Rashidian, and H. Van Doan, "Effects of dietary marjoram, Origanum majorana extract on growth performance, hematological, antioxidant, humoral and mucosal immune responses, and resistance of common carp, Cyprinus carpio against Aeromonas hydrophila," *Fish & Shellfish Immunology* ,vol. 108, pp. 127-133, 2021.

[26] D. N. Deshmane, C. H. Gadgoli, and G. V. Halade, "Anticonvulsant effect of Origanum majorana L," *Pharmacologyonline*, vol. 2007, p. 64, 2007.

[27] S. Duletić-Laušević, A. A. Aradski, S. Kolarević, B. Vuković-Gačić, M. Oalđe, J. Živković, *et al.*, "Antineurodegenerative, antioxidant and antibacterial activities and phenolic components of Origanum majorana L.(Lamiaceae) extracts," in *J. Applied Botany and Food Quality* vol. 91, ed, 2018, pp. 126-134.

الفصل الثاني

الاجهاد التأكسدي ومضادات الاكسدة

II. الاجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة:

ينتج الإجهاد التأكسدي باختلال التوازن بين طلائع المؤكسدات ومضادات الأكسدة، حيث يمثل طلائع المؤكسدات الأنواع النشطة المشتقة من الأكسجين والنتروجين، التي يتم إنتاجها بصورة دائمة من طرف الخلايا خاصة على مستوى الميتوكوندري خلال عملية التنفس الخلوي، وفي الخلايا الداخلية للأوعية بتنشيط إنزيم xanthine oxidase وفي حالة ارتفاع حموضة الدم(acidose) خلال الأكسدة الذاتية للكاتيكولامينات (catecholamines) خلال الالتهاب بواسطة إنزيم NADPH oxidase وmyeloperoxidase وخلال اضطراب استقلاب الكالسيوم[1].

II.1. الليبيدات

هي مركبات عضوية غير قطبية ذات ملمس دهني، حيث تضم عدة مركبات تختلف من حيث التركيب الكيميائي والوظيفة، وتشترك من حيث بأنها شحيحة الذوبان في الماء، ولكنها تذوب في المذيبات العضوية مثل البنزين، والإيثر، والكلوروفورم وغيرها... ، للليبيدات (الدهون) عدة وظائف نذكر منها:

- مخزنات طويلة الأمد للطاقة، وتعطي عند إحتراقها كمية من الطاقة أكبر من السكريات والأحماض الدهنية.
- وله وظيفة تركيبيه في الخلية، حيث يدخل في تركيب الغشاء الخلوي، حيث تكون الطبقة المزدوجة التي تحافظ على سلامة الخلية والعضيات...
- لايحتاج تخزين المادة الدهنية إلى الماء نظرا لطبيعتها الكارهة للماء، عكس مايحدث في السكريات البروتينات.
- بعض المواد الدهنية عبارة فيتامينات، ومساعدات إنزيم.
- الكثير من الليبيدات لها دور هرموني.
- الليبيدات أو الدهون تضم في غالبيتها أسترات لأحماض دهنية بالإضافة إلى الستيرولات، إن أهم مكونات الليبيدات هي الأحماض الدهنية، والتي تحدد الكثير من خصائص المادة الدهنية.

II.2. الأحماض الدهنية

هي عبارة عن أحماض عضوية تحتوي من 4 الى 36 ذرة كربون، لكن المنتشرة منها تحتوي من 12 إلى 24 ذرة كربون، وخاصة تلك المحتوية على 16 و 18 ذرة كربون المستخدمة لصنع المركبات ثلاثية الجلسيرول . وهي تحتوي على مجموعة كربونيل واحدة في سلسة غير متفرعة وهي نوعان:

أ)- المشبعة: وهي التي لا تحوي روابط مزدوجة، صيغتها العامة.$C_nH_{2n}O_2$

ب)- غيرالمشبعة: وهي التي تحوي رابطة مزدوجة أو أكثر صيغتها العامةC_nH_{2n}-xO_2 ، حيث x يمثل عدد الروابط المزدوجة في الحمض الدهني.

في الوسط المتعادل تكون الأحماض الدهنية الحرة متاينة(متشردة) بنسبة عالية، وذلك لأن ثابت التأين لمجموعة الكروكسيل منخفض pka= 4.8 ، وفي الحالة الطبيعية تكون الأحماض الدهنية مرتبطة بصورة أسترات كحولية أو أميدية ، مما يفقدها صفة التأين.

تختلف الأحماض الدهنية في خواصها الفيزيائية(قابلية الذوبان، نقطة الإنصهار)، حيث يقل الذوبان وترتفع نقطة الإنصهار بزيادة طول السلسلة الهيدروكربونية، بينما يقلل وجود الروابط المزدوجة من نقطة الإنصهار. وتكون الأحماض الدهنية المشبعة في الحالة الصلبة عند درجة حرارة الغرفة (25م0)،بينما تكون الأحماض غير المشبعة في صورة سائلة عند نفس الدرجة.

CH3-(CH2)14-CH=CH-(CH2)7-COOH

حمض الاوليبك(غير مشبع)OLIEC ACID

CH3-CH2-CH=CH-CH=CH-CH=CH-(CH2)7-COOH.

حمض اللينوليك(غبر مشبع)LINOLIEC ACID

CH3-(CH2)14-COOH

حمض البالمتيك(غير مشبع) PALMETIC ACID

II.3. تقسيم الليبيدات

تقسم الدهون إلى عدة أقسام حسب تركيبها الكيميائي، أو حسب درجة القطبية (الكراهة للماء)، و من الناحية الوظيفية تقسم الدهون عادة إلى دهون خزنيه وتركيبية (مكونة للأغشية).

II.4. الهيدروبيروكسيدات

تتشكل الهيدروبيروكسيدات في الأنظمة التي تحوي الأحماض الدهنية غير المشبعة، حسب ثلاثة طرق مختلفة وذلك حسب طبيعة الوسط والعوامل المحفزة لتفاعل الأكسدة[2] .

II.4.1. الأكسدة الآلية:

هي التفاعل اللحظي والآني للجذور الحرة مع المركبات العضوية غير المشبعة المحفزة من طرف درجة الحرارة والشوارد المعدنية والجذور الحرة[3].

II.4.2. الأكسدة الضوئية:

هو تفاعل أكسدة الليبيدات المحتوية على الأحماض الدهنية نتيجة تعرضها للضوء (خصوصا الأشعة الفوق البنفسجيةUV)، وفي وجود مستقبلات الضوء مثل (الكلوروفيل، مركبات الهيم) [4].

II.3.4. الأكسدة الإنزيمية: تحدث في وجود إنزيم lipoxyenase [5]

أثناء عملية الأكسدة الآلية تكون التفاعلات متعلقة فيما بينها، ونوع الفعل المحفز أثناء تعاقب التفاعلات التي تنقسم إلى ثلاثة(03) أطوار هم:

الطور الابتدائيInitiation

طور الإنتشارPropagation

طور الإنتهاءTermination

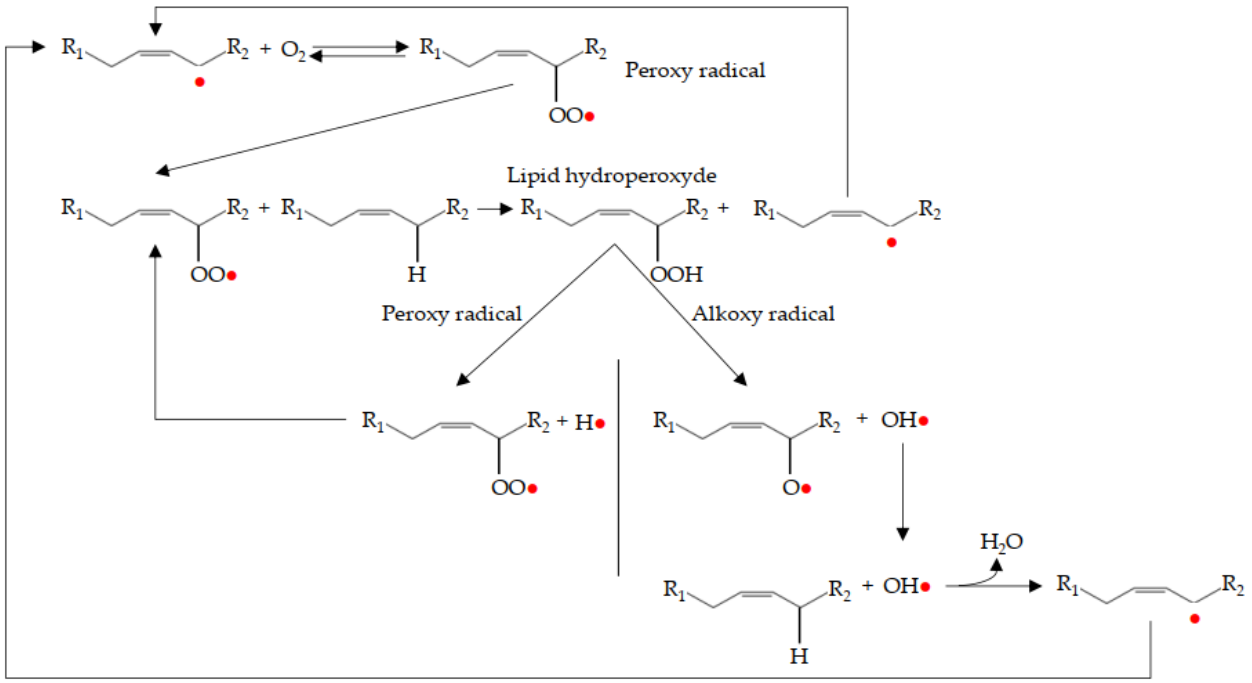
حيث نميز:

إختفاء متفاعلات الأكسدة (الأوكسجين، الحمض الدهني).

ظهور مركبات أو نواتج أولية للأكسدة (البيروكسيدات).

ظهور مركبات أو نواتج ثانوية ناتجة عن الاتحادات انطلاقا من البيروكسيدات.

الشكل (2) يوضح تسلسل هذه المراحل .



الشكل II.1. تفاعل أكسدة الليبيدات

II.5. المركبات المضادة للتأكسد

تعتبر تفاعلات الأكسدة الإرجاعية عملية مهمة جدا في الحياة اليومية ولجسمنا خصوصا أثناء عملية التنفس، حيث أن جزيء الأوكسجين له القابلية لإكتساب إلكترون وينتج كذلك طاقة على شكل ATP، للأسف هذه العملية لاتتم أو لا تعمل دائما بنفس الشكل والسبب في ذلك يعود إلى تشكل مركبات سامة ذات إلكترونات عزباء تعرف باسم الجذور الحر.

II.6. تعريف الجذور الحرة

الجذر (غالبا ما يطلق عليه إسم الجذر الحر) عبارة عن ذرة أو مجموعة ذرات تحوي إلكترون أعزب أو أكثر. الجذور الحرة يمكن أن تكون ذرات أوجزيئات ذات شحنة موجبة أو سالبة أو عديمة الشحنة، وتعتبر كوسيط مهم في بعض التفاعلات البوكيميائية، فهي تتمتع بنشاط كبير.

هنالك عدة أنواع من الجذور الحرة، ولكن أهم الجذور الحرة الموجودة في الأنظمة البيولوجية (بصفة عامة الكائن الحي)مصدرها الأوكسجين أو مشتقة من الأوكسجين، ومعروفة باسم المركبات الأوكسجينية النشطة ROS والتي نرمز اختصارا بالرمز : Substances Reactive Oxygen ، وذلك بسبب وجود زوج إلكتروني في المدار الخارجي لجزيء الأوكسجين، مما يجعل له قابلية تشكيل الجذور الحرة، أي يحدث أنه يحدث تفاعل إرجاع للجزيئات.

II .7. المركبات الأوكسجينية النشطة (ROS)[6]

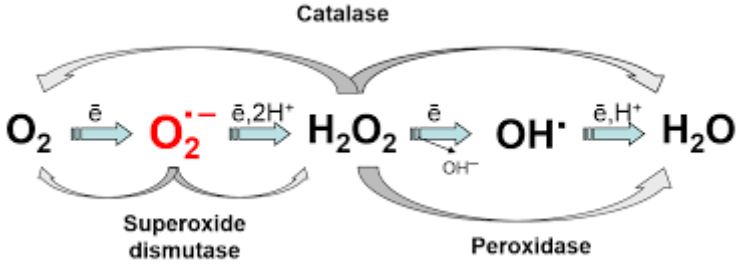
جذر سيبرالبيروكسيد O_2-.

يعتبر جذر نشط وله عدوانية كبيرة، ويمكن أن يتفاعل في وسط حمضي لينتج وفي وجود محفز إنزيمي وهو SODوفق المعادلة التالية:

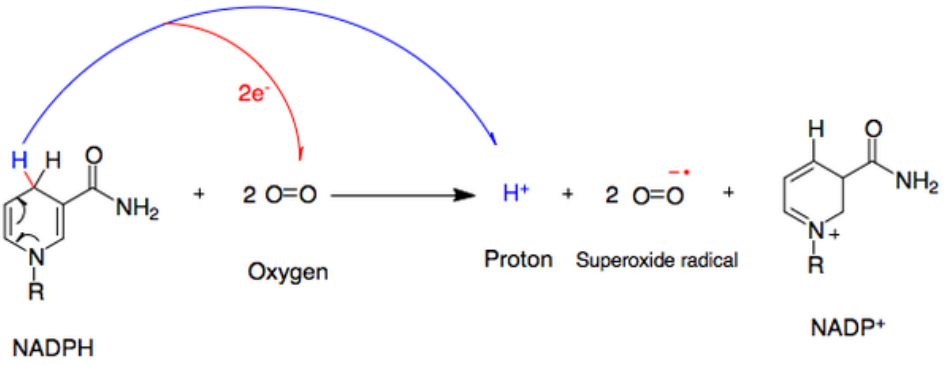
$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \xrightarrow{(SOD)} H_2O_2 + O_2$$

يمكن أن يتشكل الجذر السابق في وجود:

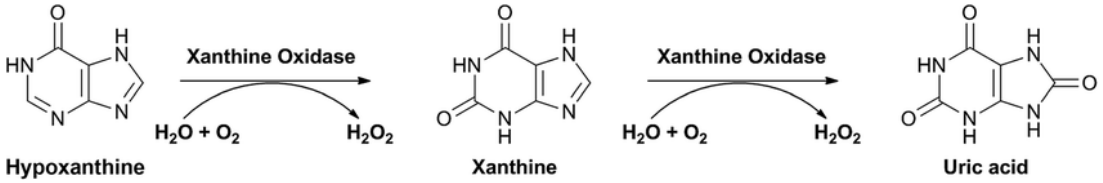
-الإنزيم سيتوكروم اوكسيداز الميتوكندري:



- اوكسيداز:



-النظام الانزيمي: Xanthine / Xanthine oxydase



II.8.الماء الأوكسجيني: H_2O_2

يتشكل وفق المعادلة (1) هذا المركب الأوكسجيني النشط، محب للماء يمكن أن يتفاعل في وسط مائي ويعتبر سام جدا.

II.8.1. جذر الهيدروكسيل: .OH–

من أهم الجذور غير المستقرة والأكثر فعالية ونشاط بالمقارنة مع باقي المركبات الأوكسجينية النشطة.ROS يمكن أن يتشكل وفق الآليتين التاليتين:

-تفاعل: Fenton

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^\circ$$

-تفاعلHaber-Wiessh

وهو تفاعل بطيء.

$$Fe^{3+} + \cdot O_2^- \longrightarrow Fe^{2+} + O_2$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + OH^- + \cdot OH$$

Total Reaction net:

$$\cdot O_2^- + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + OH^- + \cdot OH$$

II.2.8. جذور البيروكسيل $ROO^{\cdot}$

ممكن أن تكون جذور حرة، يمكن كذلك أن تتوزع داخل الأغشية البيولوجية، يتم الحصول عليها بتفاعل الجذور الحرة الكربونية $R^{\cdot}$ مع جزيء الأوكسجين .

II.3.8. الهيدروبيروكسيدات العضوية ROOH

عبارة عن متفاعلات تتفكك ثانية إلى جذور البيروكسيل أو إلى جذور الألكوسيل .

II.4.8. جذور الألكوسيل $RO^{\cdot}$

نشط جدا يتم الحصول عليه من تفكك البيروكسيدات العضوية

عدة دراسات أثبتت أن ROS تؤكسد الليبيدات، البروتينات، الإنزيمات و الـ ADN تسبب عدة أمراض كالسرطان وأمراض القلب والشرايين...[7, 8] .

تعتبر الأغذية المحتوية على الليبيدات حساسة جدا لتفاعلات الأكسدة الآلية. هذا التفاعل اللحظي (الآني) لليبيدات أو الأحماض الدهنية مع الأوكسجين يؤدي تلاف المادة الغذائية من حيث اللون والرائحة والطعم، بسبب الأكسدة ويمكن للجذور الحرة أن تفقد المادة الغذائية من قيمتها الغذائية بالتفاعل مع الفيتامينات بالخصوص مع الفيتامينvit E[9]

II.9. مكافحة الجذور الحرة

لمكافحة هذه الجذور المؤذية فان جسمنا يستعين ببعض المركبات الجزيئية المضادة للتأكسد لها القدرة للتفاعل مع الجذور الحرة، وبذلك تضع حدا لتفاعل الجذور بدون أن تتلف المادة الحية. حيث أن كل جزيء من مضادات التأكسد يمكن أن تتفاعل مع جذر واحد فقط، ولهذا يجب توفير كبر عدد من مصادر مضادات التأكسد[10].

يملك جسم الإنسان نظامين من مضادات التأكسد تسمح بتعديل إنتاج هذه الجذور والحد من أضراره.

II.1.9. نظام الدفاع داخل العضوية :

والذي يتشكل من الإنزيمات التي تتفاعل فيما بينها لتشكل نظام ضد التأكسد مثل غليتاتيون أوكسيداز Gluthathion oxidase، الكاتالاز Catalase و سيبراوكسيد ديسميتاز Superoxyde dismutase

II.2.9. نظام دفاع خارج العضوية:

يمكن الحصول عليه من الجزيئات الناتجة عن الأغذية الغنية بمضادات التأكسد مثل الفيتامينات C، E و كذلك الفيتامين A و BHT، BHA والبوليفينولات[11].

II.10. مضادات التأكسد

مضادات التأكسد هي جزيئات لها القدرة على تثبيط على أكسدة الجزيئات وتعمل على تأخير مدة أكسدة الليبيدات، وتستعمل حاليا في بعض الأغذية منزوعة الماء أو التي يتواجد بها بكمية متوسطة من الماء [12].

II.10.1. استعمالات مضادات التأكسد

هناك عدة مركبات عضوية جزيئية حساسة جدا لتفاعلات الأكسدة، لهذا من الضروري إضافة بعض المركبات التي بها خاصية التثبيت السريع للأوكسجين الهوائي والتي تساهم هي الأخرى في حماية فعالة .

مضادات التأكسد هذه أو مضادات الأوكسحين إن صح التعبير، مستعملة بشكل كبير في الصناعة الغذائية نذكر على سبيل المثال لا الحصر التوكوفورلات، التي تتواجد في الطبيعة من خلال الزيوت والأجسام أو المواد الدهنية ذات الأصل الحيواني [13].

إذا فمضادات التأكسد تستعمل من أجل استباق عملية الأكسدة التي يحدثها بصفة عامة وجود الأوكسجين.

يمكن القول أن الفعل المضاد للأوكسجين احتمال أن يحدث بطريقتين :

أ)-بإزالة العوامل التي تساعد في عملية التأكسد من درجة حرارة و الأوكسجين وتركيز المحفزات (المعادن والإنزيمات) ووجود الضوء.

ب)-إضافة محفز عكسي الذي يوقف التفاعل في مرحلة الانتشار، معناه إضافة مضاد للأوكسجين، يمكن أن يكون مركب طبيعي (الفا توكوفرول، حمض الأسكروبيك) أو مركب اصطناعي أشتق من الفينولات[14].

درست المركبات المضادة للتأكسد والتي يكون مصدرها اصطناعية من حيث سميتها عند الحيوان، من بين النتائج المتحصل عليها أن هذه المركبات لها تأثير على الرئة والمعدة والغدة الدرقية وتحدث مرض السرطان ولها كذلك نتيجة سلبية على صحة الإنسان [15]

ومن بين هذه المركبات الإصطناعية التي تستعمل كمضادات للتأكسد وكذلك كمضادات للبكتيريا بسبب فعاليتها الكبيرة نذكر منها BHT، TBH،BHA [16].

II.10.2.النباتات ومضادات التأكسد :

تتميز المركبات الفينولية بخصائص مضادة للتأكسد (مثل الفلافونويدات ومشتقات حمض السياميك..) التي يمكن أن تستخلص من النباتات والتي كانت محل عدة دراسات [17].

وجد كذلك أن النباتات بمختلف أنواعها يمكن أن تحوي كمية كبيرة من مضادات التأكسد مثل vit E و vit C والكارنتويدات ..، رغم أغلب المقالات العلمية ترجح أن السبب في الفعل المضاد للتأكسد سببه وجود المركبات الفينولية مثل الفلافونويدات[17]، والأحماض الفينولية والفينولات ثنائية التربن [18]، فإن بعض الدراسات أثبتت أن النباتات التي لا تحوي المركبات الفينولية يمكن أن يكون لها أثر أو فعل مضاد للتأكسد .

فتوجد عدة دراسات أنجزت في السنوات الماضية لنشاط بعض النباتات الطبية المثبط للأكسدة التي تحدث في وجود الجذور الحرة مثل جذر الهيدروكسيل و وشرسبة سيبر اوكسيد والبيروكسيدات [18, 19].

النشاط المضاد للتأكسد لعدة فواكه والشاي درست بشكل كبير في عدة مقالات علمية [1, 20] وأشاروا فيها أن الفعل المضاد للتأكسد لهذه النباتات مصدره وجود فيتامينات مثل الفيتامين C، بيتا كاروتان أو الفلافونويدات، وحسب Abaga et al [21] فان مزيج من عدة مضادات التأكسد التي هي من أصل طبيعي الموجودة في الفواكه والخضر يمكن أن يكون له فعالية أحسن من أن يستعمل مضاد واحد فقط للتأكسد، أو مزيج بسيط من حمض الاسكروبيك والفا ووفيرو وبيتا كاروتان.

بعض الفواكه والخضر تحوي مجموعة من مضادات التأكسد ليس لها نشاط عالي فقط بل فهي تتميز بنوعية عالية جدا على سبيل المثال دراسة أنجزت من قبل Abaga et al سنة 1998 أثبت فيها أن مستخلص عصير العنب يمكن أن يملك حماية عالية لتأكسد الليبوبروتينات liporotiene [22]، من جهة أخرى متعددات الفينولات الموجودة في مستخلصات نداء البحر romarin هي السبب في نشاطها المضاد للتأكسد في زيت الزيتون وزيت tournesol، كذلك معروف أن زيت الرنتج لعباد الشمس يملك نشاط مضاد للتأكسد مرتفع بالمقارنة مع زيت الرانتج لندى البحر ولكن اقل نشاط من BHT و BHA [23].

كما نشر Yin Chen سنة 1998 أن إستعمال النباتات التي تنتمي إلى عائلة alliaceae يمكن أن تعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في المواد الغذائية ممكن جدا[24] .

وأخيرا أثبتت النتائج المتحصل عليها من طرف Varder et al سنة 2003 أن الزيت الطيار للزعتر Thymus pectinatus يمكن أن يعتبر مصدر طبيعي لمضادات التأكسد والبكتيريا في الأغذية[24] .

II.3.10. مضادات التأكسد الطبيعية:

توجد عدة مضادات التأكسد ذات المصدر الطبيعي، نذكرمنها :

أ)–حمض الأسكروبيك أو الفيتامين vit C :

يملك عدة خصائص إلى جانب قدرته الكبيرة المضادة للتأكسد فهو مضاد للزكام، وله القدرة كذلك على تعديل الجذور الحرة وتكوين النيتروز أمين [25].

ب)–التوكوفيرول او الفيتامين vit E:

يستعمل بكثرة في مواد التجميل لما له من خصائص مضادة للتأكسد على مستوى الأغشية (الجلد)، فهو مفخخ للجذور الحرة[26].

جـ)– بيتا كاروتان β–carotene :

الذي يملك تسعة روابط مضاعفة مترافقة فله إمكانية تحفيز الوظيفة المناعية للجسم، وذلك بتجميد عمل الجذور الحرة حيث يقوم بتعطيل عملية الأكسدة الضوئية [27].

II.11. طرق تقويم النشاط المضاد للتأكسد :

أكسدة الليبيدات والنشاط المضاد للتأكسد يتعلق أو مرتبط بالوسط وتركيبه ومكوناته ودرجة الحرارة والمحفزات (الإنزيمات والمعادن مثل الحديد ..).

عدة طرق استعملت لتحديد حالة أكسدة غذاء [28] نذكر منها :

II.11.1. تحليل المركبات المتأكسدة

والتي تتم بـ :

- معايرة الأحماض الدهنية التي لم تتأكسد والمتبقية خصوصا بالكروماتوغراقيا الغازية.

II.11.2. تحليل البيروكسيدات

وذلك بـ:

حساب نسبة البروكسيد بواسطة معامل البيروكسيد(IP) .

- تحديد الدينات المترافقة بواسطة المطيافية فوق االبنفسجية UV.
- تحليل المركبات الثانوية المركبات الثانوية الناتجة عن عملية الاكسدة بالطرق التالية :

أ)–بمعايرة المركبات الالديهيدية بواسطة اختيار حمض ثيو باربوتيريك TBA

ب)–معايرة الأحماض المؤكسدة بقياس وفصل باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC

جـ)–قياس المركبات الطيارة بإستعمال الكروماتوغرافيا الغازية.

من خلال ما سبق نستنتج أنه لا توجد طريقة معينة ومحددة لتقويم فعالية مضادات التأكسد، فلكل هدف طريقة خاصة به تميزه عن الأخرى، فتقويم حالة أكسدة المادة الغذائية، ينجز بعدة تقنيات تعتمد أساسا على الكروماتوغرافيا الغازية و المطيافية فوق البنفسجية [29]، والرنين النووي المغناطيسي والكروماتوغرافيا السائلة عالية الجودة HPLC.

وطريقة النشاط المضاد للتأكسد الكلية، أو القدرة على إلغاء أو حذف كل منابع الجذور الحرة، هذه الأخيرة يمكن أن تقاس بعدة طرق من بينها:

قياس القدرة الإمتصاصية للجذور الحرة الأوكسجينية ORAC [30]

II.3.11. الاختبارات المستعملة في تقويم النشاط المضاد للتأكسد

كما ذكر سابقا فان المصادر الطبيعية لمضادات التأكسد جلبت اهتمام الباحثين، فتعددت الدراسات ومن ثمة تعدد الطرق المستعملة في الكشف عن النشاط المضاد للتأكسد، من هذه بين الطرق أو الإختبارات Test والخاصة ببعض المستخلصات النباتية والمركبات الطبيعية والإصطناعية نذكر:

-إختبار TBA TBA assay [30]

-إختبار [31] TBARS assay

-إختبار TBARS المعدلة [31, 32] TBARS assay Modified .

-نظام حمض اللينوليك[33] acid linoliec system

-نظام بتا كاروتان / حمض اللينوليك [34] β-carotene/linoliec acid system

-إختبار DPPH DPPH assay [35]

-طريقة التيوسيانات[36]thiocyanat method

-طريقة الدينات المترافقة[31] conjugated dienne method

-إختبار تغير لون بيتا كاروتان [37] β-carotene bleaching test

-تفخيخ الجذر الحر DPPH scavenging effect on DPPH [35]

-إختبار DPPH بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة [38]DPPH assay by TLC

II.12. إجهاد التأكسد :Oxidative stress

كما سبق ذكره الجذور الحرة لها أثر سلبي على الصحة، والتي مصدرها الأوكسجين، بسبب مصادرها الداخلية والخارجية التي تسبب سهولة ظهورها، من الأسباب الخارجية نذكر التلوث الدخان الناتج عن السجائر الأوزون الأشعة فوق البنفسجية UV، من جهة أخرى المصادر الداخلية تأتي من الأغذية التي تحوي مركبات مؤذية كالبيستسيدات pesticides، والمواد المطهرة detergent، والمياه الملوثة....الخ.

تصبح هذه الوضعية أكثر تعقيدا عندما تصبح الأنظمة داخل endogene وخارج العضوية exogene لا تكفي لحماية الجسم أخطار نهدده بسبب المركبات الأوكسجينية النشطة ROS التي سبق التعرف عليها والأخطار التي يمكن أن تسببها، هذا الاختلال في التوازن يسبب إجهاد التأكسد [39].

يعرف إجهاد التأكسد كناتج عدم التوازن بين نظام الدفاع ضد التأكسد antioxidant وأنظمة الإنتاج للمركبات المؤكسدة pro-oxidants ، لصالح هذه الأخيرة كنتيجة لعدم التوازن هذا يمكن أن تسبب أضرار للخلية ويمكن كذلك أن تسبب أضرار للـ ADN، وتسبسب طفرة لها علاقة بأمراض القلب، السكر [40].

قائمة مراجع الفصل الثاني

[1] M. S. Sinaga, R. Tambun, D. Rahmadani, and F. D. Mardhiyani, "The effect of amount of hydrogen peroxide on utilization of unsaturated fatty acids from avocado seeds waste into sourcing of raw materials in the making of epoxy compounds," in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 2021, p. 012112.

[2] N. A. Porter, S. E. Caldwell, and K. A. Mills, "Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids," *Lipids*, vol. 30, pp. 277-290, 1995.

[3] P. D. Josephy, T. Eling, and R. P. Mason, "The horseradish peroxidase-catalyzed oxidation of 3, 5, 3', 5'-tetramethylbenzidine. Free radical and charge-transfer complex intermediates," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 257, pp. 3669-3675, 1982.

[4] Y. Leshem, J. Wurzburger, S. Grossman, and A. Frimer, "Cytokinin interaction with free radical metabolism and senescence: Effects on endogenous lipoxygenase and purine oxidation," *Physiologia plantarum*, vol. 53, pp. 9-12, 1981.

[5] H.-N. Liu, M.-S. Pei, T.-L. Wei, Y.-H. Yu, and D.-L. Guo, "Molecular cloning and expression analysis of hydrogen peroxide sensors under H2O2 and ROS inhibitor treatment in 'Kyoho'grape berry," *Postharvest Biology and Technology*, vol. 180, p. 111617, 2021.

[6] S. I. Liochev, "Reactive oxygen species and the free radical theory of aging," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 60, pp. 1-4, 2013.

[7] D. Wu and A. I. Cederbaum, "Alcohol, oxidative stress, and free radical damage," *Alcohol research & health*, vol. 27, p. 277, 2003.

[8] C. Savard, "Le stress oxydatif est-il responsable de la toxicité des mycotoxines sur le système reproducteur mâle".?

[9] A. Goddio, "Oxygen derived free radicals in plastic surgery—therapeutic interest of fighting free radicals: the superoxide dismutases," *European Journal of Plastic Surgery*, vol. 12, pp. 111-116, 1989.

[10] S. Farouk and S. M. Al-Amri, "Exogenous melatonin-mediated modulation of arsenic tolerance with improved accretion of secondary metabolite production, activating antioxidant capacity and improved chloroplast ultrastructure in rosemary herb," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 180, pp. 333-347, 2019.

[11] N. Razzaghi-Asl, J. Garrido, H. Khazraei, F. Borges, and O. Firuzi, "Antioxidant properties of hydroxycinnamic acids: a review of structure-activity relationships," *Current medicinal chemistry*, vol. 20, pp. 4436-4450, 2013.

[12] K. Suzuki, "Anti-oxidants for therapeutic use: why are only a few drugs in clinical use?," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 61, pp. 287-289, 2009.

[13] Z. Bin, L. Feng, and Y. Yan" ,Biomimetic metalloporphyrin oxidase modified carbon nanotubes for highly sensitive and stable quantification of anti-oxidants tert-butylhydroquinone in plant oil," *Food Chemistry*, p. 132898, 2022.

[14] T.-J. Lee, S. Kim, H.-J. Cho, and J.-H. Lee, "The incidence of thyroid cancer is affected by the characteristics of a healthcare system," *Journal of Korean medical science*, vol. 27, pp. 1491-1498, 2012.

[15] N. Ito, S. Fukushima, and H. Tsuda, "Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants," *CRC Critical reviews in Toxicology*, vol. 15, pp. 109-150, 1985.

[16] H.-B. Li, C.-C. Wong, K.-W. Cheng, and F. Chen, "Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts from medicinal plants," *LWT-Food Science and Technology*, vol. 41, pp. 385-390, 2008.

[17] S. Ch and R. Dave, "In vitro models for antioxidant activity evaluation and some medicinal plants possessing antioxidant properties: An overview," *African Journal of Microbiology Research,* vol. 3, pp. 981-996, 2009.
[18] O. P. Tiwari and Y. B. Tripathi, "Antioxidant properties of different fractions of Vitex negundo Linn," *Food Chemistry,* vol. 100, pp. 1170-1176, 2007.
[19] A. Pękal, P. Dróżdż, M. Biesaga, and K. Pyrzynska, "Evaluation of the antioxidant properties of fruit and flavoured black teas," *European journal of nutrition,* vol. 50, pp. 681-688, 2011.
[20] A. Gramza, J. Korczak, and R. Amarowicz, "Tea polyphenols-their antioxidant properties and biological activity-a review ",*Polish Journal of food and nutrition sciences,* vol. 14, p. 219, 2005.
[21] A.-G. E. Abaga, "Valorisation non alimentaire des huiles de friture usagées en tant que biolubrifiants," Université de Lorraine, 2013.
[22] J. O. Abaga, "The Steroid Hormone Corticosterone Decreases Paraquat Toxicity in Swiss-Webster Mice," Mankato State University, 1998.
[23] R. Kahl and H. Kappus, "Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E," *Zeitschrift fur Lebensmittel-untersuchung und-forschung,* vol. 196, pp. 329-338, 1993.
[24] Y. Chen, F. Le Cahérec, and S. L. Chuck, "Calnexin and other factors that alter translocation affect the rapid binding of ubiquitin to apoB in the Sec61 complex," *Journal of Biological Chemistry,* vol. 273, pp. 11887-11894, 1998.
[25] E. A. Ahmed, H. M. Omar, S. M. Ragb, and A. Y. Nasser, "The antioxidant activity of vitamin C, DPPD and L-cysteine against cisplatin-induced testicular oxidative damage in rats," *Food and Chemical Toxicology,* vol. 49, pp. 1115-1121, 2011.
[26] A. Mosca, A. Crudele, A. Smeriglio, M. R. Braghini, N. Panera, D. Comparcola, *et al.*, "Antioxidant activity of Hydroxytyrosol and Vitamin E reduces systemic inflammation in children with paediatric NAFLD," *Digestive and Liver Disease,* vol. 53, pp. 1154-1158, 2021.
[27] J. Terao, "Antioxidant activity of β-carotene-related carotenoids in solution," *Lipids,* vol. 24, pp. 659-661, 1989.
[28] V. Kristinova, R. Mozuraityte, I. Storrø, and T. Rustad, "Antioxidant activity of phenolic acids in lipid oxidation catalyzed by different prooxidants," *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* vol. 57, pp. 10377-10385, 2009.
[29] G. K. Jayaprakasha, R. Singh, and K. Sakariah, "Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro," *Food chemistry,* vol. 73, pp. 285-290, 2001.
[30] A. Dávalos, C. Gómez-Cordovés, and B. Bartolomé, "Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC− fluorescein) assay," *Journal of agricultural and food chemistry,* vol. 52, pp. 48-54, 2004.
[31] M. Antolovich, P. D. Prenzler, E. Patsalides, S. McDonald, and K. Robards, "Methods for testing antioxidant activity," *Analyst,* vol. 127, pp. 183-198, 2002.
[32] M. A. Ghani, C. Barril, D. R. Bedgood Jr, and P. D. Prenzler, "Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay," *Food chemistry,* vol. 230, pp. 195-207, 2017.
[33] S. Sakanaka, Y. Tachibana, N. Ishihara, and L. R. Juneja, "Antioxidant activity of egg-yolk protein hydrolysates in a linoleic acid oxidation system," *Food chemistry,* vol. 86, pp. 99-103, 2004.
[34] H. Osman, A. A. Rahim, N. M. Isa, and N. M. Bakhir, "Antioxidant activity and phenolic content of Paederia foetida and Syzygium aqueum," *Molecules* ,vol. 14, pp. 970-978, 2009.

[35] Z. Chen, R. Bertin, and G. Froldi, "EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs," *Food chemistry*, vol. 138, pp. 414-420, 2013.

[36] R. Chapman and K. Mackay, "The estimation of peroxides in fats and oils by the ferric thiocyanate method," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 26, pp. 360-363, 1949.

[37] A. L. Dawidowicz and M. Olszowy, "Influence of some experimental variables and matrix components in the determination of antioxidant properties by β-carotene bleaching assay: experiments with BHT used as standard antioxidant," *European Food Research and Technology*, vol. 231, pp. 835-840, 2010.

[38] Ł. Cieśla, J. Kryszeń, A. Stochmal, W. Oleszek, and M. Waksmundzka-Hajnos, "Approach to develop a standardized TLC-DPPH test for assessing free radical scavenging properties of selected phenolic compounds," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 70, pp. 126-135, 2012.

[39] H. Sies, C. Berndt, and D. P. Jones, "Oxidative stress," *Annual review of biochemistry*, vol. 86, pp. 715-748, 2017.

[40] K. J. Davies, "Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems," *IUBMB life*, vol. 50, pp. 279-289, 2000.

الجزء التطبيقي

الفصل الثالث

الجزء العملي

III. الجزء العملي

III .1. تحضير العينة:

تمت هذه التجارب على مستوى مخابر كلية العلوم الدقيقة بجامعة الشهيد حمه لخضر الوادي,وذلك بالعينة:جهزة والأدوات اللازمة والمحاليل الكيميائية.

تم الحصول على نبات المردقوش من منطقة حاسي خليفة التابعة لولاية الوادي وبعدها تمت عملية التجفيف تحت درجة حرارة الغرفة والضغط الجوي العادي وبعد التجفيف الجيد والتام لنبتة نقوم بعملية الطحن بواسطة الة كهربائية نظيفة ومعقمة .

III .2 . الأجهزة والأدوات و المواد المستعملة :

الأجهزة:

- ميزان الكتروني حساس.
- جهاز التبخير الدوراني.(Rotavapeur)
- حاضنة.
- جهاز الترشيح تحت الفراغ.
- مضخة.

المواد:

- نبات المردقوش.
- الهكسان (hexane).
- ايثانول 70% (EtOH).
- DPPHذو النقاوة (99%)
- ميثانول (MeOH).
- ماء مقطر 30% (eau).
-

الأدوات:

- ببشر.
- ورق ألمنيوم.

- سحاحة.
- ملعقة معدنية.

III .3.تعريف الاستخلاص :

يعد من الطرق العملية الهامة المستعملة في فصل المركبات العضوية وتنقيتها , ويستخدم على نطاق واسع في استخلاص المركبات العضوية الموجودة في النبات وبذورها و في الأجسام الحية, وإذا كانت المادة المراد فصلها سائلة فنطلق عليها استخلاص سائل – سائل و أما إذا كانت المادة صلبة فنطبق استخلاص صلب – سائل ولهذا الأخير عدة أشكال ترتبط بعدة عوامل مختلفة منها درجة الحرارة الضغط و كيفية استعمال المذيب.

III.3.1 الاستخلاص صلب–سائل :

أ.الاستخلاص على البارد (النقع):

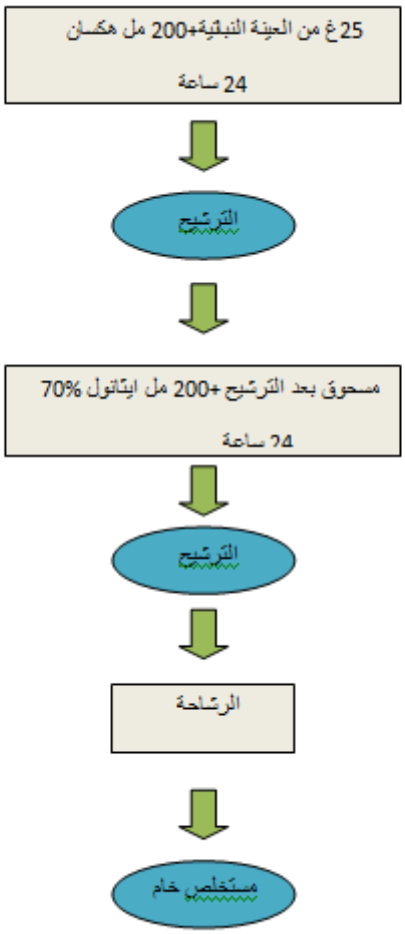
تعتمد هذه الطريقة على وضع المادة داخل إناء يحتوي على كمية محددة من المذيب, بحيث يكون حجم المذيب المستعمل يغطي المادة الجافة بنسبة تقريبية قدرها (المذيب1/المذيب3) في الظروف العادية (ضغط ودرجة حرارة الغرفة)مع التحريك من حين إلى أخر, تترك مدة زمنية معينة خلالها يتم انتقال المركبات المراد فصلها من المادة الجافة إلى المذيب تتبعها عملية الترشيح ونستعمل طريقة النقع المواد التي تتأثر وتتفكك بالحرارة.

ب.طريقة الاستخلاص لنبتة البردقوش:

نأخذ وزنا قدره25 غ من مسحوق نبات البردقوش ونقوم بنقعه في حجم قدره 200مل من الهكسان لمدة 24سا في درجة حرارة الغرفة وبعدها نرشح المزيج ونقوم بنقع الراشح في 200مل من الايثانول 70 % وتترك24سا ونقوم بعملية الترشيح.

وبعدها نأخذ الرشاحة ونقوم بتبخير المذيب بواسطة جهاز التبخير الدوراني وفي الأخير تتحصل على مستخلص الخام على شكل عجين.

الشكل III–1. يوضح طريقة الاستخلاص



الشكل.III –2.مخطط توضيح مراحل الاستخلاص

III.4. تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الكيميائية:

وهي قياس لقدرة المستخلص أو المركب لتثبيط الجذر الحر أو توقيف عملية الأكسدة تقدر الفاعلية **المضادة** للأكسدة بعدة طرق نذكر منها اختبار , (DPPH)أو اختبار , (FRAP)أو اختبار (ABTS)أو اختبار (LMWA) أو اختبار (TRAP)وهذه أو اختبار القدرة الارجاعية , (PR) الطرق تعتمد على التلوين و نزعه في طول موجي معين.

و في هذه الدراسة تم اختبار DPPH.

III .1.4.اختبار تثبيط الجذر الحر: DPPH

و هو اختبار مضاد للجذور الحرة و قد عرفها **العالم** بولواز سنة 1958 و لقد اعتمد في ذلك على توضيح بعض الحسابات بمضادات الأكسدة DPPH ثنائي فينيل هايدرازيل و هي مادة صلبة لونها بنفسجي يشتق هذا الجذر الحر من جزيئه ثنائي فينيل بكريل هايدرازين وهي مادة صلبة غير جذرية لونها اصفر.

تفاعل الجذر الحر

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر حيث يترك 30 دقيقة مباشرة مع مستخلصات المضادة للجذور مع العلم إن الجذر DPPH مستقر نسبيا يتفاعل مع جزيئه مضادة للجذور ليتحول إلى DPPH-H مع نقصان الامتصاصية عند طول موجي λ_{max}=517nm

و تحسب نسبة التثبيط المئوية وفق العلاقة التالية:

$$I\% = \left[{(A0 - Ai)}/{A0}\right] \times 100$$

حيث:

$A0$ = الامتصاصية الضوئية للجذر الخالية من العينة

Ai = الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + العينة)

و بعد رسم المنحنى نحسب IC_{50} تركيز المحلول لتثبيط 50% من جذور(DPPH).

تحضير الكاشف:

يتم تحضير محلول DPPH بإذابة 2 ملغ من ثنائي فينيل هايدرازيل في 50 مل من الميثانول فتتحصل عن محلول بنفسجي داكن.

III.2.4.طريقة العمل:

عند درجة حرارة عادية:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm

عند درجة حرارة 45 لمدة 10 دقائق:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 45لمدة 10 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}=517 nm

عند درجة حرارة 50 لمدة 10 دقائق:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 50 لمدة 10 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm

عند درجة حرارة 60 لمدة 10 دقائق:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة60 لمدة10 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm.

عند درجة حرارة 45 لمدة 30 دقيقة:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 45لمدة 30 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm

عند درجة حرارة 50 لمدة 30 دقيقة:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 50لمدة 30 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm.

عند درجة حرارة 60 لمدة 30 دقيقة:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة60 لمدة30 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm.

عند درجة حرارة 45 لمدة 60 دقيقة:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 45لمدة 60 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجيλ_{max}= 517 nm.

عند درجة حرارة 50 لمدة 60 دقيقة:

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 50لمدة 60 دقائق ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm.

عند درجة حرارة 60 لمدة 60 دقيقة :

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة60 لمدة60 ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}= 517 nm.

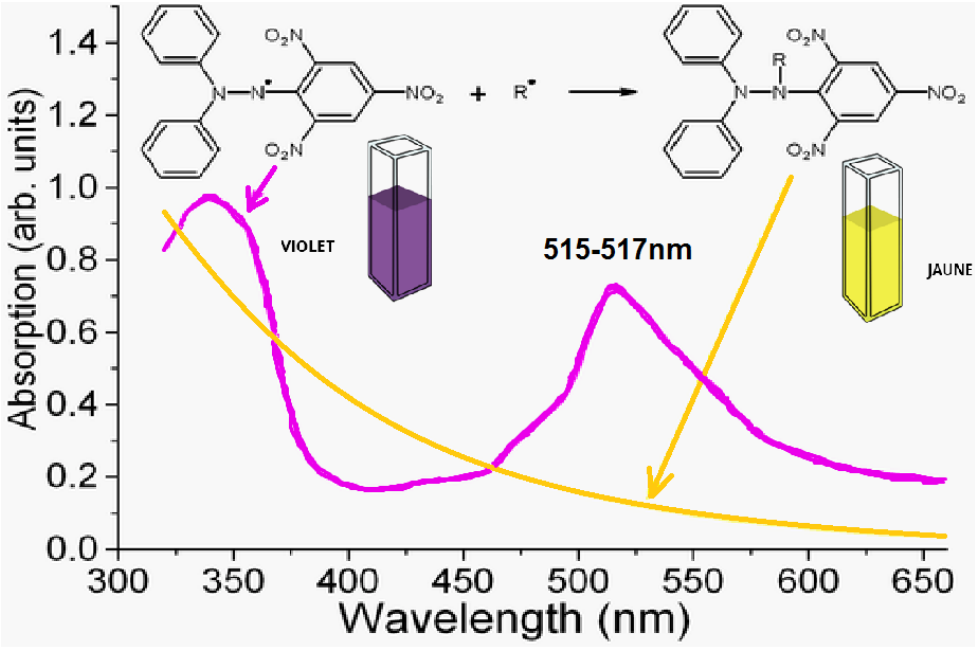
الفصل الرابع

الجزء العملي

IV . القدرة المضادة للتأكسد لمستخلص المردقوش

1.IV. الطريقة المتبعة في الدراسة

لقياس القدرة المضادة للأكسدة لمستخلص المردقوش استعملنا الجذر الحر المعروف بـ DPPH$^{\bullet}$ ، وتعتمد هذه الطريقة على تغير لون المحلول الميثانولي للجذر DPPH$^{\bullet}$ الحر من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر، بعد أن يحدث له إرجاع وذلك باكتسابه إلكترون من مركب آخر كما هو موضح في الشكل التالي:



الشكلIV .1: منحنى بياني يوضح امتصاصية المحلول الميثانولي للجذرDPPH•الحر من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر بدلالة طول الموجة.

2.IV. مردود الاستخلاص

بعد الاستخلاص الانتقائي لمختلف المواد الخام للأجزاء الهوائية لنبتة المردقوش و باستعمال الايثانول كمذيب (70%) في الماء المقطر(30%) فتحصلنا على المستخلص الخام لنبات المردقوش، فقد بينت النتائج المتحصل عليها في هذا المستخلص ، أن استعمال وزن 25 غرام من النبات الجاف للمذيب أعطى ناتج خام للمستخلص الايثانولي يساوي 3.025 غرام، و كان مردود الاستخلاص الخام و هذا بعد التبخير و التجفيف كليا بواسطة جهاز التبخير بالدوران، النتائج المحصل عليها مدونة في الجدول (.IV .1).

الجدول IV .1. المردود (%) لمستخلص الأجزاء الهوائية لنبتة المردقوش

كتلة المادة النباتية الجافة	المذيبات	حجم الإيثانول (مل)	حجم الماء المقطر (مل)	كتلة الناتج الخام (غ)	المردود (%)
25غ	ألإيثانول + ماء	140	60	3.025	12.1

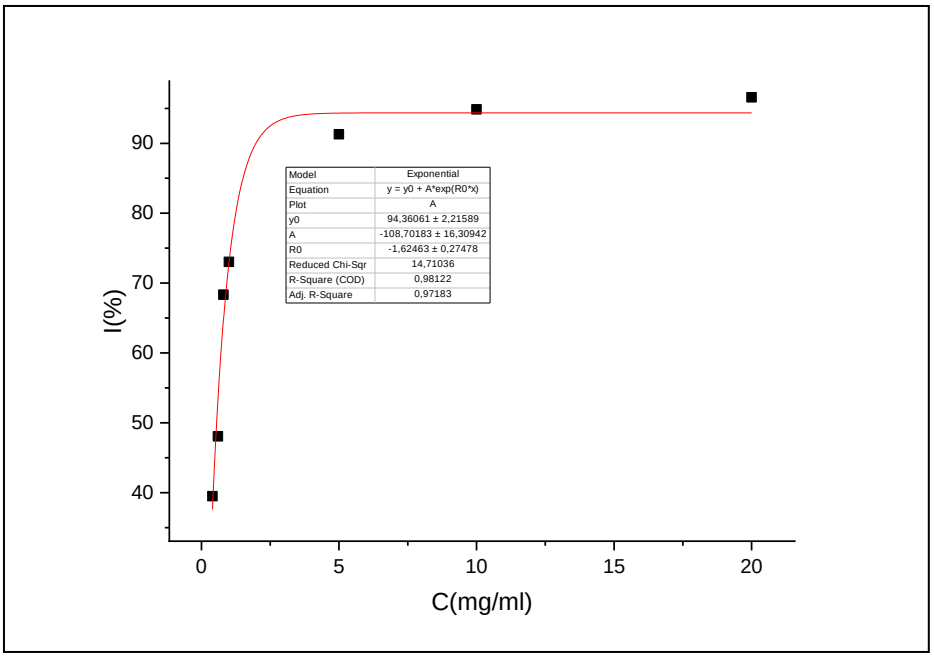
IV.3. تأثير درجة الحرارة على القدرة المضادة للأكسدة

IV.3 .1 . القدرة المضادة للأكسدة عند درجة الحرارة الغرفة (22°م)

قمنا بتحضيرعدة تراكيز مختلفة من المستخلص الخام المركز في الايثانول ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز-UV Visibleعند طول موجي λ_{max}=517nm . ، الجدول IV .2. يوضح النتائج المحصل عليها لنسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف التراكيز المحصل عليها مع رسم المنحنى الموافق لقيم نسبة التثبيط بدلالة التراكيز المحضرة من المستخلص(الشكلIV .. 1) .

الجدول IV. 2. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 22°م

C(mg/ml)	0.4	0.6	0.8	1	5	10	20
A	0.424	0.364	0.222	0.189	0.061	0.036	0.024
I%	39.51	48.07	68.33	73.03	91.03	94,86	96.58



الشكلIV . .2. تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيزعند درجة حرارة الغرفة (22°م)

تم تقدير قيمة IC_{50} للمستخلص وهي 0.251 mg/ml والتي تمثل التركيز الموافق لتثبيط 50 % من DPPH ، كلما صغرت قيمة هذه الاخيرة تعني أن المادة اكثر فعالة.

قمنا بإجراء مسح كامل للأبحاث المنشورة إلى غاية مارس 2022 ثم مقارنة النتائج المتحصل عليها مع نتائج هذه الأبحاث.

نلاحظ من خلال IC50 لمستخلص نبتة المردقوش قيمة كبيرة جدا مقارنة مع نفس القيم لبقية المنشورات العلمية من بلدان مختلفة تركيا[1] ، تونس [2, 3] ، مصر[4-6] ، المغرب[7, 8]، مما يدل للوهلة الأولى على ضعف القدرة المضادة للأكسدة للمستخلص الخاص بنا إلا أنه في الحقيقة يصعب اجراء مقارنة بين قيم IC50 فقط دون الأخذ بعين الاعتبار ظروف كل تجربة وكذا التراكيز والحجوم المستخدمة عند اجراء التجارب المختلفة.

مع مقارنة القيمة المحصل عليها مع القيمة التي تحصل عليها Braho Z. Ličina et al [9] التي تم فيها تقييم نشاط مضادات الأكسدة لمستخلص المردقوش الذي ينمو بصربيا عن طريق قياس قدرة التثبيط على DPPH. حيث عبّر المستخلص المختبر عن نشاط قوي للتثبيط بقيم IC_{50} بين 34.5 و 86 ميكروغرام / مل. كان مستخلص الإيثانول هو الأكثر نشاطًا.

IV.2. 2 . القدرة المضادة للأكسدة عند درجة الحرارة (45°م)

تأثيرالزمن على القدرة المضادة للأكسدة

أ.عند درجة الحرارة 45°م لمدة 10 دقائق

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول ونضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 45°م لمدة 10دقائق .نأخذ من كل تركيز 0.5 مل ونضيف له 1مل من (DPPH) ونجانس المحلول ونتركه 30دقيقة في الظلام وبعدها تتم القراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visibleعند طول موجي λ_{max}=517nm .

الجدول IV. 3. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 45°م لمدة10 دقائق

C(mg/ml)	0.4	0.6	0.8	3.6	6.1	10.7
A	0.475	0.278	0.145	0.086	0.055	0.037
I%	32.23	60.34	79.31	87.73	92.15	94.72

ب.عند درجة الحرارة 45°م لمدة 30 دقيقة

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول ونضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 45 لمدة 30 دقيقة .نأخذ من كل تركيز 0.5 مل ونضيف له 1مل من (DPPH) ونجانس المحلول ونتركه 30 دقيقة في الظلام وبعدها تتم القراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visibleعند طول موجي λ_{max}=517 nm .

الجدول IV . .4. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 45°م لمدة 30دقائق

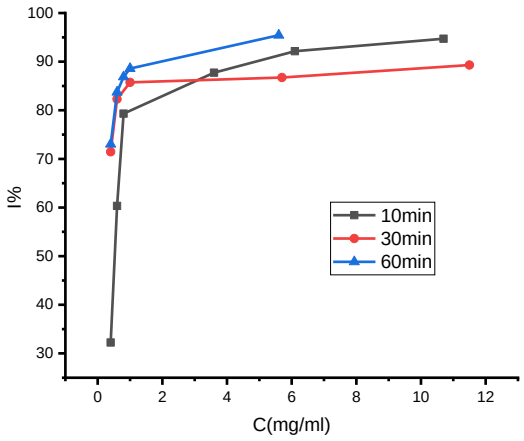
C(mg/ml)	0.4	0.6	1	5.7	11.5
A	0.2	0.124	0.1	0.093	0.075
I %	71.46	82.31	85.73	86.73	89.3

ج.عند درجة الحرارة 45°م لمدة 60 دقيقة

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 45لمدة 60 دقيقة ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}=517nm.

الجدول IV . .5. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 45°م لمدة 60دقائق

C(mg/ml)	**0.4**	**0.6**	**0.8**	**1**	**5.6**
A	0.189	0.114	0.092	0.08	0.032
I%	73.03	83.73	86.87	88.58	95.43



الشكل IV. 3. تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز عند درجة حرارة (45°م)

IV.2. 3 . القدرة المضادة للأكسدة عند درجة الحرارة (50°م)

تغيرات الزمن على القدرة المضادة للأكسدة

أ.عند درجة الحرارة 50°م لمدة 10 دقائق

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 50لمدة 10 دقائق في ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي. λ_{max}=517 nm .

الجدول IV . .6. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 50°م لمدة 10دقائق

C(mg/ml)	0.4	0.6	0.8	3.9	5.9
A	0.162	0.103	0.068	0.036	0.044
I%	76.89	85.3	90.29	93.72	94.29

ب.عند درجة الحرارة 50°م لمدة 30 دقيقة

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 50لمدة 30 دقائق في ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}=517nm .

الجدول IV .7. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة50°م لمدة 30دقائق

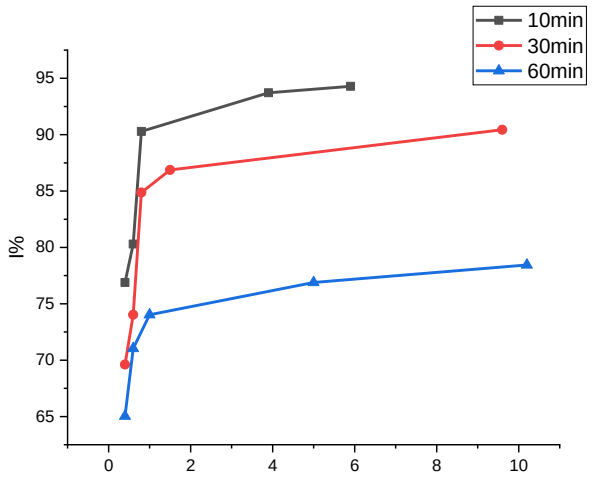
C(Mg/ml)	0.4	0.6	0.8	1.5	9.6
A	0.213	0.182	0.106	0.092	0.067
I%	69.61	74.03	84.87	86.87	90.44

ج.عند درجة الحرارة 50°م لمدة 60 دقيقة

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 50لمدة 60 دقيقة في ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}=517nm .

الجدول IV .8. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 50°م لمدة 60دقائق

C(mg/ml)	0.4	0.6	1	5	10.2
A	0.245	0.203	0.182	0.162	0.151
I%	65.04	71.04	74.03	76.89	78.45



الشكل 4.III. تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز عند درجة حرارة (50°م)

4. 2.IV . القدرة المضادة للأكسدة عند درجة الحرارة (60°م)

تغيرات الزمن على القدرة المضادة للأكسدة

أ.عند درجة الحرارة 60°م لمدة 10 دقائق

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 60لمدة 10 دقائق في ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}=517nm ..

الجدول IV . .9. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 60°م لمدة 10دقائق

C(Mg/ml)	0.4	0.6	0.8	3.9	5.9
A	0.162	0.103	0.068	0.044	0.04
I%	76.89	85.30	90.29	93.72	94.29

ب.عند درجة الحرارة 60°م لمدة 30 دقيقة

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 60لمدة 30دقائق في ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي. λ_{max}=517 nm .

الجدول IV .10. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 60°م لمدة 30دقائق

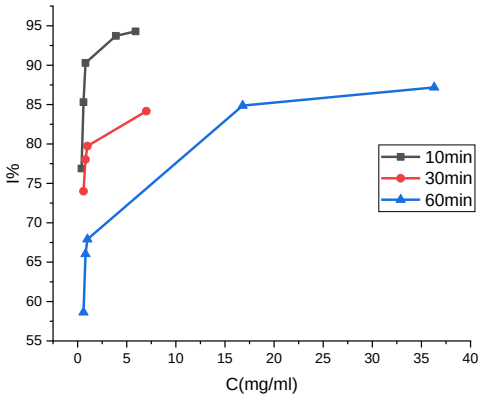
C(mg/ml)	0.6	0.8	1	7
A	0.182	0.154	0.142	0.111
I%	74.03	78.03	79.74	84.16

ج.عند درجة الحرارة 60°م لمدة 60 دقيقة

نحضر عدة تراكيز مختلفة من المستخلصات المركزة في الايثانول و نضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 60لمدة 60 دقيقة ونأخذ من كل تركيز 0,5 مل و نضيف له 1 مل من (DPPH) و نجانس المحلول و نتركه 30 دقيقة في الظلام و بعدها تتم قراءة الامتصاصية في جهاز UV-Visible عند طول موجي λ_{max}=517nm .و الجدول.IV .11 يوضح نسبة التثبيط الموافق لهذه الشروط.

الجدول IV . .11. نسبة التثبيط والامتصاصية لمختلف تراكيز المستخلص الخام لنبات المردقوش عند درجة حرارة 60°م لمدة ساعة

(mg/ml)C	0.6	0.8	1	16.8	36.3
A	0.290	0.238	0.225	0.106	0.090
I%	58.63	66.04	67.90	84.87	87.16



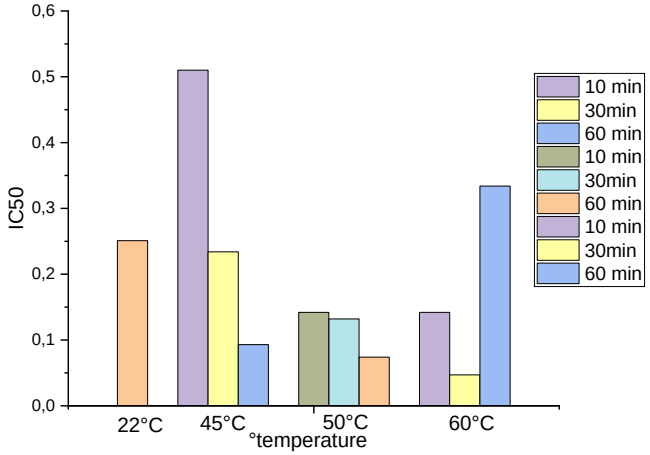
الشكلIII.5. تغيرات نسبة التثبيط بدلالة التراكيز عند درجة حرارة (60°م)

IV.3. تحديد الشروط المثلى

تهدف هذه الدراسة الى تحديد الزمن ودرجة الحرارة المثلى للمستخلص نبات المردقوش كي يكون اكثر فعالا ، أي تكون له قدرة عالية في تثبيط اكبر نسبة من الجذر الحر DPPH أي له قيمة صغرى لـ IC50، الجدول التالي يوضح ملخص النتائج التي تحصلنا عليها بعد رسم المنحنيات.

الجدول IV .12. قيم IC50 عند درجات حرارة وازمنة مختلفة.

درجة الحرارة	22°م	درجة الحرارة 45°م			درجة الحرارة50°م			درجة الحرارة 60°م		
الزمن		10min	30min	60min	10min	30min	60min	10min	30min	60min
IC_{50}	0.251	0.51	0.234	0.093	0.142	0.132	0.074	0.142	0.047	0.334
R^2	0.971	0.981	0.947	0.954	0.996	0.870	0.951	0.922	0.989	0.98



الشكل. قيم IC50 عند درجات حرارة وازمنة مختلفة

IV.4. مناقشة النتائج

تمت دراسة حركية التغيرات في عينات المستخلص المسخنة عند درجات حرارة مختلفة (45 ، 50 ، 60 درجة مئوية) على مدى ساعة واحدة وذلك بحساب IC50 لكل عينة ، أظهرت النتائج أن كل المستخلصات تزيح بشكل معتبر جذرDPPH وأيضا زيادة درجة حرارة العلاج وزمنه إلى زيادة جميع العوامل بما في ذلك ، نشاط مضادات الأكسدة وتفاوت الارتفاع في نشاط مضادات الأكسدة اعتمادًا على درجات حرارة التسخين والزمن ، ، حيث وجد أن تسخين مستخلص المردقوش إلى 60 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة أكثر فعالية من التسخين إلى 45 أو 50 درجة مئوية، ويليها درجة الحرارة 50 الموافق لزمن 10، 30 و 60 دقيقة.

قائمة مراجع الفصل الرابع

[1] F. Şahin, M. Güllüce, D. Daferera, A. Sökmen, M. Sökmen, M. Polissiou, *et al.*, "Biological activities of the essential oils and methanol extract of Origanum vulgare ssp. vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey," *Food control,* vol. 15, pp. 549 ,557-.2004

[2] H. Hajlaoui, H. Mighri, M. Aouni, N. Gharsallah, and A. Kadri, "Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian Origanum majorana L. essential oil," *Microbial Pathogenesis,* vol. 95, pp. 86-94, 2016.

[3] B. Olfa, A. Mariem, A. Mohamed Salah, and B. N. Ayachi Mouhiba, "Chemical content, antibacterial and antioxidant properties of essential oil extract from Tunisian Origanum majorana L. cultivated under saline condition," *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences,* vol. 29, 2016.

[4] A. Mossa and G. Nawwar, "Free radical scavenging and antiacetylcholinesterase activities of Origanum majorana L. essential oil," *Human & experimental toxicology,* vol. 3 ,0pp. 1501-1513, 2011.

[5] S. Duletić-Laušević, A. A. Aradski, S. Kolarević, B. Vuković-Gačić, M. Oalđe, J. Živković, *et al.*, "Antineurodegenerative, antioxidant and antibacterial activities and phenolic components of Origanum majorana L.(Lamiaceae) extracts," *J. Applied Botany and Food Quality,* vol. 91, pp. 126-134, 2018.

[6] H. O. Elansary and E. A. Mahmoud, "Egyptian herbal tea infusions' antioxidants and their antiproliferative and cytotoxic activities against cancer cells," *Natural product research* ,vol. 29, pp. 474-479, 2015.

[7] H. Makrane, M. El Messaoudi, A. Melhaoui, M. El Mzibri, L. Benbacer, and M. Aziz, "Cytotoxicity of the aqueous extract and organic fractions from Origanum majorana on human breast cell line MDA-MB-231 and human colon cell line HT-29," *Advances in Pharmacological Sciences,* vol. 2018, 2018.

[8] H. Ennaji, D. Chahid, S. Aitssi, A. Badou, N. Khlil, and S. Ibenmoussa, "Phytochemicals screening, cytotoxicity and antioxidant activity of the Origanum majorana growing in Casablanca ,Morocco," *Open Journal of Biological Sciences,* vol. 5, pp. 053-059, 2020.

[9] B. Z. Ličina, O. D. Stefanović, S. M. Vasić, I. D. Radojević, M. S. Dekić, and L. R. Čomić, "Biological activities of the extracts from wild growing Origanum vulgare L," *Food control,* vol. 33, pp. 498-504, 2013.

خاتمة عامـــــة

لخصت نتائج بحثنا في هذه الدراسة ، التي تم فيها تقييم المستخلص الايثانولي لنبات المردقوش الذي ينمو في منطقتنا (حاسي خليفة) الذي يستعمل في الطب الشعبي الجزائري خاصة في منطقتنا من حيث الفعالية المضادة للأكسدة الكلية بواسطة اختبار DPPH.

تمت دراسة حركية التغيرات في عينات المستخلص المسخنة عند درجات حرارة مختلفة (45 ، 50 ، 60 درجة مئوية) على مدى ساعة واحدة. أدت زيادة درجة حرارة العلاج وزمنه إلى زيادة جميع العوامل بما في ذلك ، نشاط مضادات الأكسدة وتفاوت الارتفاع في نشاط مضادات الأكسدة اعتمادًا على درجات حرارة التسخين والزمن .

أظهرت النتائج أن كل المستخلصات تزيح بشكل معتبر جذر DPPH ، حيث وجد أن تسخين مستخلص المردقوش إلى 60 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة أكثر فعالية من التسخين إلى 45 أو 50 درجة مئوية.

نتائجنا قد تفتح أفاق البحث لهذا النبات، ومن بين توصياتنا بعد هذا العمل، تطبيقات مستخلص هذا النبات السريرية المباشرة على الكائنات الحية ، ونتمنى ان تتواصل دراسات اخرى حول هذا النبات .

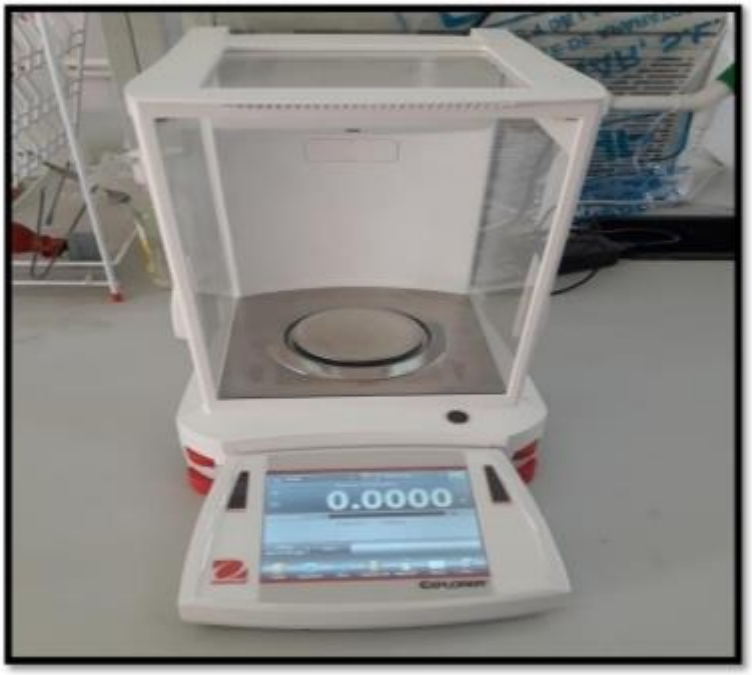
الاجهزة المستعملة في الدراسة

❖ جهاز الحاضنة (Etuve)

جهاز UV-visible

❖ جهاز التبخير والدوران (Rotavapeur)

❖ جهاز الميزان الحساس



ملخص:

في هذه الدراسة ، تم تقييم المستخلص الايثانولي لنبات المردقوش الدي يستعمل في الطب الشعبي الجزائري من حيث الفعالية المضادة للأكسدة الكلية بواسطة اختبار DPPH. تمت دراسة حركية التغيرات في عينات المستخلص المسخنة عند درجات حرارة مختلفة (45 ، 50 ، 60 درجة مئوية) على مدى ساعة واحدة. أدت زيادة درجة حرارة العلاج وزمنه إلى زيادة جميع العوامل بما في ذلك ، نشاط مضادات الأكسدة وتفاوت الارتفاع في نشاط مضادات الأكسدة اعتمادًا على درجات حرارة التسخين والزمن ، أظهرت النتائج أن كل المستخلصات تزيح بشكل معتبر جذر DPPH ، حيث وجد أن تسخين مستخلص المردقوش إلى 60 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة أكثر فعالية من التسخين إلى 45 أو 50 درجة مئوية.

الكلمات المفتاحية: ***الإجهاد ألتأكسدي، النباتات الطبية، مضادات الأكسدة، نبات المردقوش***

Summary:

In this study, the ethanolic extract of the *Origanum majorana* plant, used in Algerian folk medicine, was evaluated in terms of total antioxidant activity by the DPPH test. The kinetics of changes in *Origanum majorana* samples heated at different temperatures (45, 50, and 60 °C) over one hour were studied. The results showed that increasing the treatment temperature and time increased all factors, including, the antioxidant activity and the variation of the rise in the antioxidant activity depending on the heating temperatures and time. The results showed that all extracts significantly displace the DPPH root, as it was found that heating the marjoram extract to 60 degrees Celsius for 30 minutes is more effective than heating to 45 or 50 degrees Celsius.

Key words: oxidative stress, medicinal plants, antioxidants, marjoram