

Received	2025/03/18	تم استلام الورقة العلمية في
Accepted	2025/04/18	تم قبول الورقة العلمية في
Published	2025/04/20	تم نشر الورقة العلمية في

دراسة النشاط المضاد للأكسدة والفصل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة لمستخلصات بعض الأعشاب البحرية من الساحل الشرقي الليبي

سالمة محمود علي¹، الناجي عبد الرازق ادريس²، منصوره سالم علي³،
فوزية سالم الفرجاني³

¹ قسم علوم وتقنية الأغذية - كلية الزراعة - جامعة عمر المختار، البيضاء، ليبيا

² المعهد العالي للعلوم والتقنية - سوسة، ليبيا

³ قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة درنة، القبة، ليبيا.

salma.belgasim@omu.edu.ly

الملخص

تم تصنيف ستة أنواع من الأعشاب البحرية التي تم جمعها من شواطئ مدينتي سوسة والحمامة. وقد كانت الأنواع كالتالي : *Laurencia* , *Polysiphonia bradiæi* , *C. obtusa* , *Rytiphloeay tinctoria* , *Cystoseira compressa* , *C. spinosa* , *C. corniculata* وتم دراسة المركبات الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة لهذه الأعشاب، من خلال النتائج وجد أن النوع *C. compressa* احتوى على تركيز مرتفع من المركبات الفينولية يصل الى 514.8 ملجم/100جم مقارنة بالأنواع الأخرى، بينما احتوى النوع *R. tinctoria* على تركيز منخفض وصل الى 38 ملجم/100جم مقدرة كحامض جاليك. استخدمت كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) لفصل وتوصيف المركبات الفينولية والمضادة للأكسدة في مستخلصات الطحالب البحرية موضع الدراسة. كان لمستخلص النوع *P. brodiaei* تأثير قوى في إزالة لون جوهر DPPH مقارنة للنوع *C. compressa* على الرغم من احتواء الأخير على تركيز أعلى من المواد الفينولية مما يشير الى وجود مركبات غير فينولية ذات نشاط عالي كمضادات أكسدة. جميع المركبات الفينولية المفصولة التي أعطت لون أزرق مع كلوريد الحديد كان لها نشاط مضاد للأكسدة عند الرش باستخدام جوهر DPPH وبالتالي فإن لها القدرة على إعطاء البروتونات الى الشقوق الحرة. وارتفع عدد المكونات المفصولة ذات النشاط

المضاد للأكسدة في *P. brodiaei* و *C. compressa* و *R. tinctoria* مقارنة بالأنواع الأخرى. كما يوجد عدد من المكونات ذات النشاط المضاد للأكسدة مشترك بين أنواع الأعشاب المختلفة. يعتبر مستخلص النوع *P. brodiaei* هو الأعلى نشاطا في كسح الشقوق الحرة لمركب (DPPH. %90.42) يليه النوع *C. compressa* (%74.07). أما النوع *L. obtusa* كان له نشاط منخفض كمضاد أكسدة كاسح للشقوق الحرة (%3.58) عند تركيز 200 ppm على الرغم من احتوائه على مركبات فينولية بتركيز أعلى من بعض أنواع الطحالب الأخرى مما يدل على أن هناك بعض المركبات الفينولية ليس لها نشاط مضاد للأكسدة .

الكلمات المفتاحية: الطحالب البنية، الطحالب الحمراء، المواد الفينولية، مضادات الأكسدة، DPPH ، TLC

Study of Antioxidant Activity and Thin Layer Chromatography of Extracts of Some Seaweeds from the Eastern Coast of Libya

Salma. M. Ali¹, Al-Nagi. A. Idris ², Mansourah. S. Ali³

Fawzia Salem Mohammed ³

¹ Department of food science and Technology, Faculty of Agriculture, Omar Al-Mukhtar University, Albeida – Libya.

² Higher Institute of Science and Technology, Sousse, Libya.

³ Department of Chemistry, college, Sciences, Derna University
El- gubba – Libya.
salma.belgasim@omu.edu.ly

Abstract

In this study, six seaweeds species collected from Sosa and Hamama shores (Libya) were identified and analyzed for their antioxidant activities. Seaweeds species were identified as *polysiphonia brodiaei* (Dillwyn), *Laurencia obtusa* (Huds), *Rytiphloea tinctoria* (Clemente), *Cystoseira compressa* (Esper) , *C. corniculata* (Wulfen), and *C. spinosa* (Sauvageau). *C. compressa* algae recorded the highest methanolic extraction yield of 18.01 % while *R. tinctoria* was with the lowest one (3%).

The results indicated that *C. compressa* species had the highest total phenolic content (TPC), reaching 514.8 mg/100g while the

lowest value of 38 mg/100 was reported for *R. tinctoria* species. Antioxidant activities based on diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity were assessed with 3 doses of methanolic extraction (50,100 and 200 ppm). The results showed that the methanolic extracts of sea weeds exhibited antioxidant activities with a strong dose-response. The greatest antioxidant activity value ($\% 90.42 \pm 0.53$) was reported for *P. brodiaei* species at concentration of 200ppm followed by the same species at 100 ppm ($\% 79.51 \pm 0.75$) whereas the lowest ($\% 1.63 \pm 0.53$) was obtained from methanolic extract of *L. obtusa* at 50 ppm. Thin layer chromatography (TLC) was used to separate and characterize the phenolic and antioxidant compounds in each extract obtained from the studied seaweeds. ferric-reducing anti-oxidant power assay was detected with methanolic extracts and all the isolated phenolic compounds that gave a blue color with ferric chloride had antioxidant activity when sprayed with DPPH• core, and thus have the ability to donate protons to free radicals. *P. brodiaei* and *C. compressa* had nearly similar effect in removing the color of the DPPH• core although the latter contained a higher concentration of phenolic substances, indicating the presence of non-phenolic compounds with high antioxidant activity. The number of isolated components with antioxidant activity increased in the species *P. brodiaei*, *C. compressa*, and *R. tinctoria* compared to the other species. Thus, seaweed extracts reveal promising antioxidant activities and may be candidates for food additives.

Keywords: Brown algae, Red algae, Phenolic substances, Antioxidants, DPPH, TLC

المقدمة

تُعد الأعشاب البحرية موارد متجددة محتملة في البيئة البحرية، حيث تم تحديد حوالي 6000 نوع منها وتصنيفها في ثلاث فئات رئيسية، وهي: الطحالب الحمراء (*Rhodophyceae*)، والطحالب البنية (*Phaeophyceae*)، والطحالب الخضراء (*Chlorophyceae*)، حيث تُستخدم 66% من إجمالي أنواع الأعشاب البحرية كغذاء Bamanial وآخرون (2022).

الأعشاب البحرية هي نوع من الطحالب الكبيرة حيث توجد على شكل كائنات متعددة الخلايا ذات حجم كبير، وفي الواقع فإن بعض الطحالب هي كائنات حية تعيش في بيئات

معقدة تتعرض لظروف قاسية مثل تغيرات الملوحة ودرجة الحرارة والمغذيات والإشعاع فوق البنفسجي، Salehi وآخرون (2019).

من الناحية الغذائية، تتميز الأعشاب البحرية الصالحة للأكل بانخفاض سرعاتها الحرارية وغنى تنوعها من الفيتامينات والمعادن والبروتينات قليلة الدهون، وقد أجريت أبحاث على الأعشاب البحرية أو مستخلصاتها لعقود عديدة كمصادر فريدة أثبتت قدرتها على إنتاج مجموعة واسعة من المركبات، بعضها يُنتج نشاطاً بيولوجياً ذا فائدة علاجية محتملة، Lomartire & Goncalves (2022).

الإتجاه الحالي في صناعة الأغذية هو القضاء على أو تقليل المواد الكيميائية المضافة (مضادات الأكسدة الصناعية والمواد الحافظة الصناعية) للأغذية حيث أظهرت الأبحاث شكوكاً حول السمية المحتملة ومخاطر بعض مضادات الميكروبات مثل النترات وحمض البنزويك على صحة الإنسان، Naimiki (1990)، Oiyee & Muroki (2002). وبالتالي، يتم الآن تقييم نهج جديد يعتمد على استخدام المواد الحافظة الطبيعية في الأغذية مثل المستخلصات العضوية النباتية كبديل لحماية الغذاء من الأكسدة أو تكاثر الميكروبات Oiyee & Muroki (2002).

ولذلك تزايد في الآونة الأخيرة الاهتمام بمضادات الأكسدة الطبيعية نظراً لمشاكل السلامة والسمية المرتبطة بمضادات الأكسدة الاصطناعية، مثل بيوتيل هيدروكسي أنيسول (BHT: butylated hydroxyanisole) وبيوتيل هيدروكسي تولوين (BHT: butylated hydroxytoluene)، واللذين يُستخدمان عادةً في الأغذية الغنية بالدهون Lourenco وآخرون (2019).

في السنوات الأخيرة تمت دراسة المحتوى الكيميائي النباتي لمستخلصات الأعشاب البحرية على نطاق واسع كمصدر لمضادات الأكسدة الطبيعية حيث تتميز بمجموعة مميزة من مركبات الفلوروتانينات والتي تحمل نشاطاً عالياً كمضادات أكسدة لقدرتها على كسح الشقوق الحرة المعروفة باسم السوبروكسيد (superoxide) والبيروكسيد وشقوق النيتريك (الفائقة والأكسيد) والأيونات المخلبية للحديد " خلب أيونات الحديد " Generalic Mekinik وآخرون (2019). من المركبات الأكثر نشاطاً كمضادات أكسدة في الطحالب البنية هي Fucoxanthin و Phlorotannins، كما تم الحصول على مواد كيميائية مختلفة مثل (saponins, flavonoids, phenolic compounds) من الأعشاب البنية Sargassum Wightii كما ذكره Antonisamy وآخرون (2012).

والبوليفينولات المعروفة باسم الفلوروتانين هي تانينات شائعة توجد في الأعشاب البحرية البنية وتصنف الى (6) فئات وهي (الفوكولات ، الفلوريتول ، إيكولات ، فوكوفلوتولات ، كارمالول ، فوهالول) Lomartire وآخرون (2021) ، Santos وآخرون (2019) و Imbs & Zvyagintseva (2018).

ولدراسة تأثير مستخلصات مضادات الأكسدة من الأعشاب البحرية في منتجات الألبان قام Hermund وآخرون (2015) باستخراج مضادات الأكسدة من الطحلب F. Vesiculosus باستخدام الماء أو الإيثانول كمذيب استخلاص ، ثم تجزئة مستخلص الإيثانول فقط باستخدام خلاات الإيثيل ، ثم تم اجراء التحاليل اللازمة لمعرفة الخصائص المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات (إزالة الجذور الحرة بواسطة DPPH ، خلب المعادن ، قوة الإختزال)، التركيب TPC ، البروتين ، المعادن النادرة والأصباغ { كان لدى مستخلص (EAF) ايثانول متبعا بخلاات الإيثايل قدرة ضعيفة جدا على خلب المعادن ومع ذلك كان لديه أفضل خصائص إزالة الجذور الحرة والتي وجد أنها أهم خصائص مضادات الأكسدة لتنشيط أكسدة الدهون في الحليب المخصب بزيت السمك. وتم الحصول على أعلى فعالية ل EAF عند اضافته بتركيز 2 جم /كجم، حيث أدى ذلك لتقليل تكوين منتجات الأكسدة المتطايرة بشكل كبير أثناء التخزين مقارنة بالكونترول، كما منع تماما فقدان التوكوفيرول أثناء التخزين.

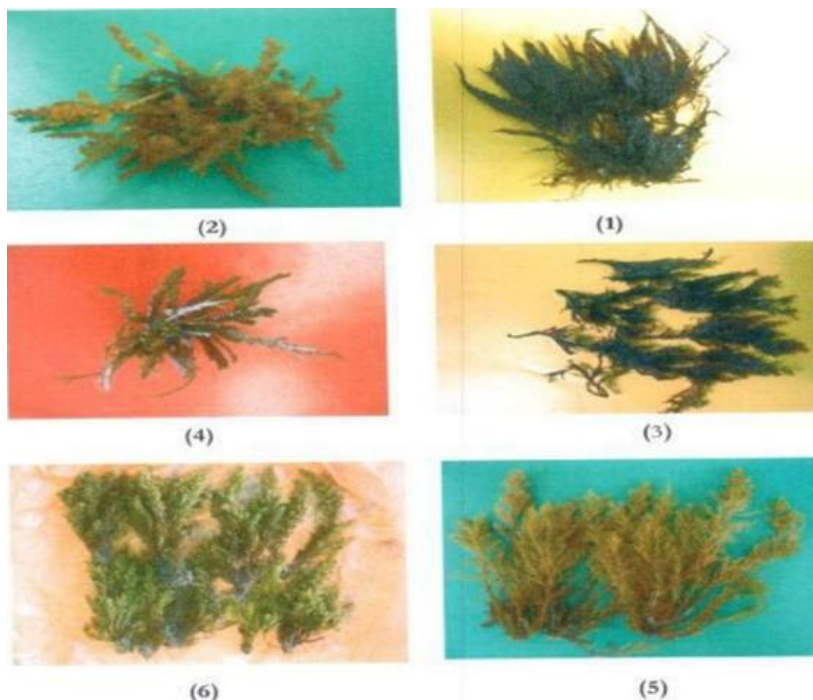
تم التعرف على عدة أنواع من الاعشاب البحرية في الساحل الليبي بلغت 178 نوع تنتمي الى أربع شعب، و هي شعبة الطحالب الخضراء وتحوي 29 نوعا، تنتمي الى 15 جنس، وشعبة الطحالب البنية تحوي 34 نوعا وتنتمي الى 19 جنس، وشعبة الطحالب الحمراء وتحوي 112 نوعا وتنتمي الى 76 جنس وشعبة الطحالب الخضراء المزرقه وتحوي ثلاثة أنواع تنتمي الى جنسان فقط، Nizamuddin وآخرون (1979). ونظرا لتوافر الطحالب البحرية بكثرة على الشواطئ الليبية التي تمتد على طول 1900 كم، ونتيجة لأن الأعشاب البحرية اصبحت مصدرا حيويا للمركبات النشطة بيولوجيا وخصائصها المضادة للأكسدة تجعلها مرشح مثير للاهتمام بالتطبيقات الغذائية والدوائية ، بالإضافة لخصائصها المضادة لمرض السكري والسرطان وحماية القلب والأعصاب، مما زاد التركيز على قابليتها للتطبيق كإضافات قيمة لسوق الأغذية الوظيفية ، لذلك كان هدف هذه الورقة هو تصنيف الطحالب البحرية المتحصل عليها من شواطئ سوسة والحمامة الواقعة بمنطقة الجبل الأخضر بالسواحل الشرقية من ليبيا ودراسة نشاطها كمضادات أكسدة طبيعية لإمكانية الاستفادة من هذه الطحالب في مجال التصنيع الغذائي.

1.المواد والطرق Methods and Materials

1.1.المواد الخام:

1.1.1 عينات الأعشاب البحرية

تم تجميع حوالي 15 نوع من الأعشاب البحرية المتواجدة في شواطئ سوسة والحمامة بالمنطقة الشرقية بدولة ليبيا خلال شهر ابريل 2023 م وتم التعرف على ستة أنواع منها بكلية العلوم قسم علوم البحار بجامعة الإسكندرية وأيضاً بقسم النبات بكلية العلوم جامعة عمر المختار كما في الشكل (1). وبعد تجميع العينات تم غسلها بماء البحر أولاً للتخلص من الرمال وبعض الشوائب العالقة بها، تم الغسيل بمخلوط الماء العذب مع ماء البحر تدريجياً (2: 1) (1: 1)، (2: 1) وفي النهاية غسلت بالماء المقطر وذلك خلال 24 ساعة من التجميع. جففت العينات على درجة حرارة 40°م وطحننت وحفظت بالتجميد في أكياس بلاستيكية على درجة حرارة -18°م لحين إجراء التحاليل.



شكل رقم (1) المظهر الخارجي للأعشاب البحرية موضع الدراسة.

1. *Polysiphonia brodiaei*, 2. *Laurencia obtuse*, 3. *Rytiphloeia tinctoria*
4. *Cystoseria compressa*, 5. *Cystoseria corniculata*,
6. *Cystoseira spinosa*

2. الطرق Methods

استخدمت في هذه الطرق مذيبات عضوية ومواد كيميائية على درجة عالية من النقاوة انتاج شركات Sigma, Merck, Fluka.

2.1 المحتوى الرطوبي Moisture content

أخذت وزناً معلومة من عينات الأعشاب البحرية المطحونة والمتجانسة ووضعت في أطباق الرطوبة في فرن التجفيف على درجة حرارة 105°م لمدة 3 ساعات، ثم وزنت العينات واستكمل التجفيف حتى ثبات الوزن ثم حسبت النسبة المئوية للرطوبة AOAC (1997) Method 32.1.03. كما ورد في طريقة

2.1.2 استخلاص الفينولات الكلية

استخدمت الأعشاب البحرية موضع الدراسة لاستخلاص الفينولات الكلية تبعاً لطريقة Chkhikvishvili و Ramazanov (2000) حيث أخذ 10 جم من كل عينة وأضيف إليها 100 مل من الميثانول ووضعت في الثلاجة لمدة 24 ساعة وتم التسخين تحت مكثف عاكس في حمام مائي لمدة 5 دقائق من بداية الغليان لزيادة كفاءة الاستخلاص. بعد التبريد على درجة حرارة الغرفة والرج الجيد لمحتويات الدوارق تم الترشيح وغسل الراسب، وتم تكرار الاستخلاص بالميثانول واستكمل الحجم في دورق معياري سعة 250 مل بالميثانول أيضاً. أخذ جزء (50 مل) من المستخلص المتحصل عليه لتقدير الفينولات الكلية والنشاط المضاد للأكسدة بطريقة DPPH.diphenyl-1-picryl hydrazyl radical - 2,2 واسترجع المذيب من باقي المستخلص (200 مل) بواسطة المبخر الدوار (Rotary evaporator). واستكمل تجفيف المتبقي في فرن تجفيف تحت تفريغ للتخلص من بقايا الرطوبة ومن ثم وزنة وحساب نسبة العائد والاحتفاظ به في الثلاجة لحين الاستخدام في الفصل الكروماتوجرافي (شكل 2).

3.1.2 تقدير الفينولات الكلية

قدرت المواد الفينولية الكلية في مستخلصات الأعشاب البحرية الستة المتحصل عليها باستخدام جوهر (2N) -ciocaltea -folin تبعاً لطريقة (Rossi & Singleton (1965) حيث أخذت أحجام مناسبة (0.2 - 0.5 مل) من المستخلصات السابقة تبعاً لتركيز الفينولات بها واستكمل الحجم إلى 1 مل بالماء المقطر، ثم أضيف 0.25 مل من جوهر فولين و 1 مل من محلول كربونات الصوديوم (7.5%) واستكمل الحجم إلى 10

مل بالماء المقطر. وبعد الخلط الجيد والتحضير على درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة ونصف قيس الامتصاصية للون الأزرق الناتج عند طول موجي 725 نانومتر باستخدام جهاز (Spectrophotometer Jenway 6300) عن طريق منحني قياسي من حمض الجاليك (Gallic acid) في مدى يتراوح من 10-100 ميكروجرام/ مل حسب تراكيز الفينولات الكلية مقدرة كحامض جاليك في المستخلصات المختلفة.

4.1.2 النشاط المضاد للأكسدة باختبار الشقوق الحرة لمركب DPPH•

أجرى هذا الاختبار تبعاً لطريقة Kurechi وآخرون (1980) لجميع المستخلصات العشوية للأعشاب، وقد استخدمت تراكيز مختلفة لإجراء التجربة (50-100-200 جزء بالمليون) مقارنة مع مركب قياسي من مضادات الأكسدة الصناعية Butylated hydroxy toluene (BHT) عند نفس التراكيز وقد حسبت الفعالية المضادة للأكسدة على أساس النسبة المئوية لاختفاء لون DPPH• وفقاً للمعاملات التالية :-

DPPH- الخالي = الامتصاصية عند طول موجي 517 نانومتر لـ 4 مل. الإيثانول + 1 مل من 0.1 ملي مول من DPPH• المذاب في الميثانول.

DPPH- العينة = الامتصاصية عند 517 نانومتر لـ 4 مل من مستخلص العينة مذاب في الإيثانول + 1 ملي من 0.1 ملليمول من DPPH• المذاب في الميثانول.

حضرت التراكيز المختلفة بعد الخلط الجيد للمكونات حضنت المعاملات في حمام مائي على درجة حرارة 25 م° و لمدة 30 دقيقة. قيس الامتصاصية عند طول موجي 517 نانومتر مع مراعاة ضبط الجهاز عند التشغيل باستخدام محلول يتكون من 4 مل إيثانول و 1 مل ميثانول وحسبت نسبة اختفاء اللون لشقوق الـ DPPH• من المعادلة التالية:

$$\% \text{ لاختفاء اللون} = \frac{\text{امتصاصية بلاك لـ DPPH} - \text{امتصاصية العينة مع DPPH} + \text{امتصاصية قياسي العينة}}{100} \times 100$$

(الخالي) DPPH• امتصاصية بلاك لـ

5.1.2 الفصل الكروماتوغرافي بالطبقة الرقيقة. Thin layer chromatography (TLC).

فصلت مكونات المستخلصات العضوية للأعشاب البحرية على الواح من السيلكا جل (20×20سم) . مغطاة بطبقة السيلكا جل Slica gel بسمك 0.25 ملم من النوع (Germany, Darmstadt E. Marck) سبق تنشيطها في فرن تجفيف عند درجة 100°م لمدة ساعة وباستخدام خليط من المذيبات كطور متحرك يتكون من كلوروفورم ، خلات الإيثايل، حمض الفورميك (50 : 40 : 10 V/V علي التوالي)

Chikhikvishvili & Ramazanov (2000) .

وبعد تمام عملية الفصل تركت الألواح لتجف من بقايا المذيبات على درجة حرارة الغرفة فحصت المكونات المفصولة في الضوء العادي للتعرف على المكونات الملونة وباستخدام الأشعة فوق البنفسجية التي لها امتصاصية في مجال الـ UV وحسبت قيم معامل الإعاقة (Retardation factor, Rf) لكل حزمة مفصولة .

6.1.2 اختبار الرش بكلوريد الحديدك (Fe Cl₃)

اختبار الرش بكلوريد الحديدك هو أحد اختبارات المسح الكيميائي الأولي (Phytochemical screening) للتعرف على المكونات المفصولة ذات الطبيعة الفينولية. حضر محلول مائي من الـ FeCl₃ بتركيز 5% ورشت به الألواح المفصولة سابقاً. وضعت الألواح في فرن تجفيف على درجة حرارة 195°م لمدة 5 دقائق، الحزم التي تلونت باللون الأزرق هي التي تحتوي على مركبات ذات طبيعة فينولية، وتتناسب شدة اللون مع تركيز هذه المركبات وحسبت قيمة الـ Rf للمكونات المفصولة، Evans (1996).

7.1.2 اختبار الرش بمركب DPPH

وهو أحد الاختبارات لمعرفة النشاط المضاد للأكسدة للحزم المفصولة من المستخلصات على ألواح الطبقة الرقيقة السابقة، ثم تخصيص محلول الـ DPPH بتركيز 0.4 mM في الايثانول، المحلول الناتج استخدم في رش الألواح وتركنت لتجف على درجة حرارة الغرفة. اختفاء اللون البنفسجي دليل على النشاط المضاد للأكسدة في الأماكن التي اختفى اللون بها وهذا يشير إلى احتوائها على مكونات لها نشاط مضاد للأكسدة Espin وآخرون (2000).

2-2 التحليل الإحصائي:

حسبت النتائج كمتوسط لثلاث مكررات ± قيمة الانحراف المعياري عن المتوسط (Standard Deviation, SD) وأجرى تحليل التباين باستخدام طريقة التصميم

العشوائي الكامل (Completely Randomized Design. CRD) واختبرت المعنوية بين المتوسطات باختبار LSD واختبار T عند مستوى معنوية 5% (1967) Snedecor & Cochram .

النتائج والمناقشة

• الفينولات الكلية

استخلصت الفينولات الكلية من الأعشاب البحرية المستخدمة في هذه الدراسة بواسطة الميثانول لتقدير تركيزها وحساب عائد الاستخلاص والنتائج موضحة بالجدول رقم (1). عند حساب عائد الاستخلاص بعد استرجاع المذيب بواسطة المبخار الدوار لوحظ أن نسبة العائد تتراوح ما بين 31 - 18:01 % حيث يوجد اختلاف كبير في العائد المتحصل عليه يرجع إلى نوع العينة وتركيز المواد الفينولية والمركبات القابلة للاستخلاص بها. وقد أعطى النوع *C.compressa* أعلى عائد (18:01 %) يليه *P.brodiaei* (10.12 %) ومن ناحية أخرى كان أقل عائد للنوعين *R. tinctoria* و *C.spinosa* 3.0، 3.1 % على التوالي.

يوضح الجدول (1) تركيز المركبات الفينولية الكلية المقدرة لونياً باستخدام جوهر فولين (Folin ciocalteau) كمكافئات لحامض الجاليك (Gallic acid) . وتجدر الإشارة إلى أن العينات التي أعطت عائد استخلاص مرتفع أحتوت على أعلى تركيز من المركبات الفينولية وكان هناك فرق معنوي بين أنواع الأعشاب المختلفة وتركيز الفينولات الكلية، أحتوى النوع *C.compressa* على تركيز مرتفع من المركبات الفينولية يصل إلى 514.8 ملجم / 100 جم مقارنة بالأنواع الأخرى بينما أحتوى النوع *C.tinctoria* على 38 ملجم / 100 جم وكان تركيز الفينولات الكلية في النوعين *L.obtusa* و *C.corniculata* 52.5 و 42.8 ملجم / 100 جم علي التوالي وهذه القيم أقل نسبياً من القيمة الخاصة بالنوع *C. spinosa* (55.2 ملجم / 100 حم) الذي أعطى عائد استخلاص منخفض مقارنة بالنوعين السابقين.

جدول (1) عائد الاستخلاص وتركيز المواد الفينولية الكلية لبعض الأعشاب البحرية (على أساس وزن جاف)

نوع العشب البحري	عائد الإستخلاص (%)	الفينولات الكلية (ملجم / 100 جرام)
<i>P.brodiaei</i>	10.12	1.28 ± 178.7^b

1.43 ± 52.5^d	7.43	<i>L.obtusa</i>
1.00 ± 38^f	3.0	<i>R.tinctoria</i>
1.58 ± 514.8^a	18.01	<i>C.compressa</i>
1.16 ± 42.8^e	6.73	<i>C.corniculata</i>
1.40 ± 55.2^c	3.1	<i>C.spinosa</i>

- القيم متوسط لثلاث مكررات $\pm$ الانحراف المعياري (DS)

- المتوسطات في العمود التي تشترك في نفس الحرف لا يوجد بينها فروق معنوية ($p < 0.05$).

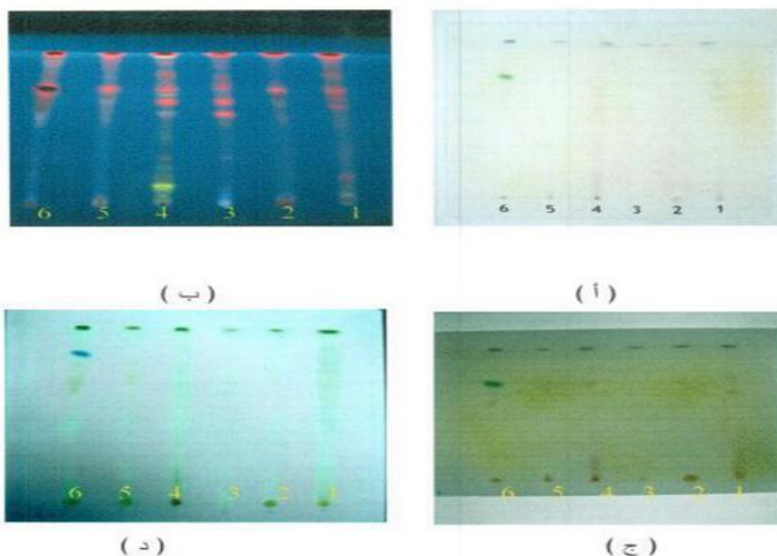
خلص Khairy وآخرون (2015) إلى أن أعلى كمية من البولي فينول لوحظت بين مايو ويوليو في جميع الطحالب التي تم اختبارها، بينما تم العثور على أقل كمية في أكتوبر *Laminaria spp* ومارس *Sacharina latissima* و *Alaria esculenta* كما أكد ذلك، kamal وآخرون (2023). واثبت Mancuso وآخرون (2019) زيادة في إجمالي محتوى الفينول في الطحالب البنية *C.compressa* مع ارتفاع درجة حرارة الماء وقد يعزى ذلك إلى زيادة إشعاع الضوء خلال فصل الربيع، حيث يعزز تعرض الطحالب للأشعة فوق البنفسجية تكوين المركبات الفينولية لتوفير الحماية من الإجهاد التأكسدي وهذا ما اتفق مع هذه الدراسة.

اثبت Karimzade وآخرون (2021) أن عائد الاستخلاص باستخدام الميثانول أعلى من الكلوروفورم وخلات الأيثايل بنسبة 6.12 ، 5.78 ، 5.52 % على التوالي، وتركيز المواد الفينولية من المستخلص الميثانولي وصلت 3.6 mg GAE / g على أساس وزن جاف والذي كان أعلى من مستخلص الكلوروفورم وخلات الأيثايل والتي كانت 3.2 ، 3.3 g/GAE mg على التوالي ، وهذا كان لصالح الطحلب الأحمر من جنس *L.Synderiae* وهذه النتائج تتفق جزئياً مع نتائج هذه الدراسة من حيث عائد الاستخلاص والمحتوى الفينولي .

وتجدر الإشارة إلى أن قيم الفينولات المتحصل عليها في هذه الدراسة تعتبر منخفضة مقارنة بما جاء في بعض الدراسات السابقة، وقد يكون تفسير ذلك هو اختلاف تأثير فصول السنة على المحتوى الفينولي، حيث تم جمع العينات في فصل الربيع -الذي تكون به نسبة المحتوى الفينولي أقل من فصل الصيف كما أكدته Khairy وآخرون (2015) و Kamal وآخرون (2023).

• الفصل الكروماتوغرافي بالطبقة الرقيقة

استخدمت كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) لفصل وتوصيف المركبات الفينولية والمضادة للأكسدة في المستخلصات المتحصل عليها من الأعشاب البحرية موضع الدراسة. يوضح الشكل رقم (2) والجدول رقم (2) نتائج الفصل الكروماتوغرافي و المكونات الملونة الواضحة في الضوء المنظور (شكل 3-أ) وبلاحظ وجود عدد من المكونات (الحزم) يتراوح عددها من 1-7 وتوجد بعض المكونات لها نفس قيم R_f في الأعشاب المختلفة خاصة المكونات التي لها R_f 0.68 ، 0.75 ، 0.84 عند الفحص تحت الأشعة فوق البنفسجية (UV) تظهر المكونات التي لها امتصاصية في مجال الـ UV (شكل 3-ب) وبلاحظ وجود عدد كبير من المكونات المفصولة يتراوح بين 6 - 10 حزمه وتشارك أيضاً أنواع الأعشاب المختلفة في وجود بعض الحزم منها والتي لها R_f 0.68 و 0.75 و 0.84 و 0.96



شكل (2) الفصل الكروماتوغرافي بالطبقة الرقيقة لمستخلصات الأعشاب البحرية
(أ) الفحص في الضوء المنظور ، (ب) الفحص تحت الأشعة فوق البنفسجية (ج) الرش
بكلوريد الحديدك ، (د) الرش بالـ DPPH

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| (1) <i>Polysiphonia brodiaei</i> | (4) <i>Cystoseria compressa</i> |
| (2) <i>Laurencia obtusa</i> | (5) <i>Cystoseria corniculata</i> |
| (3) <i>Rytiphloea tinctoria</i> | (6) <i>Cystoscira spinosa</i> |

تم رش ألواح السليكا حل بعد الفصل باستخدام محلول كلوريد الحديدك لتحديد أماكن المركبات الفينولية حيث تعطي لون أزرق (شكل 3 - ج) ويلاحظ وجود عدد محدود من الحزم ذات الطبيعة الفينولية التي اعطت لون أزرق مع كلوريد الحديدك يتراوح عددها بين 2 - 4 حزم بعض النظر عن التركيز.

كما استخدم جوهر DPPH في الرش أيضاً لمعرفة المركبات ذات النشاط المضاد للأكسدة والتي لها القدرة على تحويل اللون البنفسجي للجوهر DPPH إلى اللون الأصفر (شكل 3- د) ويلاحظ من الشكل أن مستخلص النوع *P. brodiaei* كان له تأثير قوي في إزالة لون جوهر DPPH. مقارنة للنوع *C. compressa* على الرغم من احتواء الأخير على تركيز أعلى من المواد الفينولية مما يشير إلى وجود مركبات غير فينولية ذات نشاط عالي كمضادات أكسدة موجودة في النوع *P. brodiaei* وباقي الأنواع كما هو واضح من عدد المكونات المفصولة عند الرش بكلوريد الحديدك وجوهر DPPH حيث يزداد العدد كثيراً مع جوهر الأظهار الأخير وهذا يتوافق مع ما ذكره Chikhikvishvili و Ramazanov (2000) في عدم وجود علاقة بين تركيز المواد الفينولية والنشاط المضاد للأكسدة في مستخلصات الأعشاب البحرية .

وتجدر الإشارة إلى جميع المركبات الفينولية المفصولة التي أعطت لون أزرق مع كلوريد الحديدك كان لها نشاط مضاد للأكسدة عند الرش باستخدام جوهر DPPH و بالتالي فإن لها القدرة على إعطاء البروتونات والألكترونات إلى الشقوق الحرة (Free radicals). وارتفع عدد المكونات المفصولة ذات النشاط المضاد للأكسدة في الأنواع *C. R. tinctoria, compressa, P. brodiaei* مقارنة بالأنواع الأخرى و يوجد عدد من المكونات ذات النشاط المضاد للأكسدة مشترك بين أنواع الأعشاب المختلفة.

جدول (2) قيم الـ Rf المتحصل عليها من الفصل الكروماتوغرافي بالطبقة الرقيقة لمستخلص بعض الأعشاب البحرية

قيمة الـ Rf				نوع العشب وعدد الحزم المفصولة
الرش بواسطة DPPH	الرش بواسطة كلوريد الحديدك	الاشعة فوق البنفسجية (U.V)	الضوء المنظور	
P.brodiaei				
0.06	---	0.06	0.06	1
0.17	---	0.17	---	2

<http://www.doi.org/10.62341/samf0249>

	---	0.42	---	3
	---	0.63	---	4
0.68	0.68	0.68	0.68	5
0.75	---	0.75	0.75	6
0.84	---	0.84	0.84	7
0.96	0.96	0.96	---	8
<i>L. obtusa</i>				
0	0	0	0.71	1
0.06	---	0.06	---	2
---	---	0.52	---	3
---	---	0.68	---	4
---	---	0.75	---	5
---	---	0.84	---	6
---	0.96	0.96	---	7
<i>R. tinctoria</i>				
0.06	0	0.05	0	1
0.96	0.96	0.55	---	2
---	0.97	0.68	---	3
---	---	0.75	0.75	4

قيمة Rf				نوع العشب
الرش بواسطة DPPH	الرش بواسطة كلوريد الحديدك	الاشعة فوق البنفسجية (U.V)	الضوء المنظور	وعدد الحزم المفصولة
<i>C. compressa</i>				
0.03	0	0	0	1
0.06	0.06	0.06	0.06	2
---	---	0.1	---	3
---	---	0.29	---	4
0.35	---	0.45	---	5
---	---	0.58	---	6
0.68	---	0.68	---	7
0.75	---	0.75	0.75	8

0.84	---	0.84	0.84	9
0.96	0.96	0.96		10
<i>C. corniculata</i>				
0	0	0	0	1
0.09	---	0.61	0.68	2
---	---	0.68	0.71	3
---	---	0.75	0.75	4
---	---	0.90	---	5
---	0.96	0.96	---	6
<i>C. spinosa</i>				
0.06	0	0.03	0	1
0.45	0.45	0.45	0.61	2
---	---	0.68	0.68	3
0.75	0.75	0.75	0.75	4
---	---	0.92	0.84	5
---	0.96	0.96	---	6

و الدراسة التي قام بها kannan وآخرون (2014) على فصل مركبات الأيض الثانوية على نوعين من الطحالب *Spirulina platensis* ، *Gracilaria corticata* باستخدام تكنيك الفصل بكمروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) على حسب قيمة ال Rf حيث أظهرت النتائج أن القلويدات تم فصلها عند نقطة Rf 0.50 و 0.35 والفلافونويدات عند نقطة Rf 0.53 و 0.80 والجليكوسيدات عند 0.90 و 0.81 والفينولات عند 0.70 و 0.55 والسابونين عند 0.90 و 0.65 . على التوالي، حيث اتفقت مع نتائج هذه الدراسة والتي تم فصل القلويدات والفلافونويدات والجليكوسيدات والسابونين من الطحالب *P. brodiaei* و *C. compressa* بينما *C. corniculata* و *R. tinctoria* كانت الفينولات ابرز المكونات المفصولة بها، والسابونين توجد بوضوح في *L. obtusa* والقلويدات أكثر تواجد في *C. spinosa*.

• النشاط المضاد للأكسدة

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص الأعشاب البحرية موضع الدراسة المحتوي على المركبات الفينولية باستخدام طريقة الـ DPPH[•] لتقدير سعة كسح الشقوق الحرة (Radical scavenger capacity) من خلال إعطاء المركبات المضادة للأكسدة الهيدروجين للشقوق الحرة (DPPH[•]) وبالتالي يحدث انخفاض للامتصاصية نتيجة تغير لون الجوهر من البنفسجي الي الأصفر.

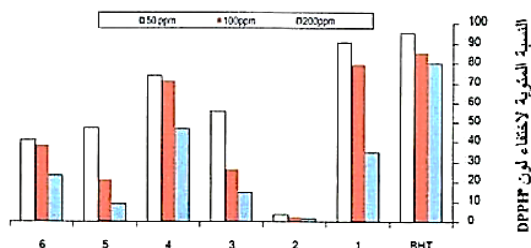
الجدول رقم (3) والشكل رقم (4) يوضحان نتائج النشاط المضاد للأكسدة كنسبة مئوية لإنخفاض لون DPPH[•] مقارنة مع مركب قياسي (BHT) مضاد للأكسدة. ويلاحظ ان مضاد الأكسدة الصناعي (BHT) المستخدم كمركب قياس أعطي أعلى نشاط في إزالة لون DPPH[•] عند جميع التراكيز المستخدمة حيث وصلت إزالة اللون الى 95.45 % عند تركيز 200 ppm ، وقد اختلفت القدرة على إزالة اللون بالنسبة لمستخلص الفينولات المحضر من الأنواع المختلفة من الأعشاب البحرية موضع الدراسة ولوحظ وجود فروق معنوية بينها. وبصفة عامة تزداد القدرة على إزالة اللون بزيادة التركيز المستخدم حيث أعطي التركيز 200 ppm أعلى درجة إزالة يليه 100 ثم 50 ppm. تراوحت نسبة إزالة اللون ما بين 3.55-90.42 % عند تركيز 200 ppm لمستخلص الأعشاب البحرية المختلفة ويعتبر مستخلص النوع *P. brodiaei* هو الأعلى نشاطاً في كسح الشقوق الحرة لمركب DPPH[•] (90.42%) يليه في ذلك النوع *C. compressa* (74.07 %) على الرغم أن النوع الأخير يحتوي على أعلى تركيز للمركبات الفينولية الكلية. كما أنه أعطي أعلى نسبة عائد في المستخلص مقارنة بالأنواع الأخرى، إلا أن النوع *P. brodiaei* تفوق في النشاط المضاد للأكسدة وقد يرجع ذلك إلى وجود مركبات لها القدرة على اعطاء الالكترونات والبروتونات لشقوق DPPH[•] ولكنها ليست من المركبات الفينولية. وتجدر الإشارة إلى أن النوع *L. obtusa* كان له نشاط من منخفض جداً كمضاد اكسدة كاسح للشقوق الحرة لم يتعد 3.55 % عند تركيز 200 ppm على الرغم من احتوائه على مركبات فينولية بتركيز أعلي من بعض الأنواع الأخرى مما يدل على أن هناك بعض المركبات الفينولية ليس لها نشاط مضاد للأكسدة. توافقت النتائج في هذه الدراسة نسبياً مع ما ذكره Chkhikvishvili و Ramazanov (2000) من حيث النشاط المضاد للأكسدة الراجع إلى المركبات الفينولية.

جدول (3) النشاط المضاد للأوكسدة بطريقة DPPH لمستخلصات الاعشاب البحرية .

النسبة المئوية للإنخفاض في لون ال-DPPH			نوع العشب البحري
ppm200	ppm100	PPm50	
1.03 ± 95.45^a	0.09 ± 85.67^a	$\pm 80.29^a$ 1.06	BHT
0.53 ± 90.42^b	0.75 ± 79.51^b	$\pm 34.49^c$ 1.49	<i>P.brodiaei</i>
0.34 ± 3.55^g	0.33 ± 2.37^g	0.53 ± 1.63^g	<i>L.obtusa</i>
0.62 ± 55.9^d	0.90 ± 26.41^e	$\pm 14.68^e$ 0.56	<i>R.tinctoria</i>
0.78 ± 74.07^c	0.61 ± 71.51^c	$\pm 46.83^b$ 0.72	<i>C.compressa</i>
0.50 ± 47.21^e	0.20 ± 21.10^f	0.74 ± 9.02^f	<i>C.corniculata</i>
0.79 ± 40.81^f	0.64 ± 38.15^d	1.37 ± 22.74^d	<i>C.spinosa</i>

- القيم متوسطة لثلاث مكررات $\pm$ الانحراف المعياري (SD)

- المتوسطات في العمود التي تشترك في نفس الحرف لا يوجد بينها فروق معنوية ($p < 0.05$)



شكل (4) النشاط المضاد للأوكسدة بطريقة DPPH في مستخلص الأعشاب البحرية

1-*Polysiphonia brodiaei*

2-*Laurencia obtusa*

3-*Rytiphloea tinctoria*

4-*Cystoeria compressa*

5-*Cystoseria corniculata*

6-*Cystoseira spinosa*

أثبت Kannan وآخرون (2014) أن النشاط المضاد للأكسدة بواسطة DPPH لنوعين من الطحالب *G. corticata* و *S. platensis* كان مرتفع مقارنة بالكنترول عند تراكيز 150، 160، 170، 180، 190 μL حيث أن % للأخفاض (70.4 – 64.7) ، (62.6 – 66.3) ، (53.8 – 62.1) ، (53.8 – 55.4) ، (51.8 – 53.8) على التوالي ، وهذه النتائج مقاربة مع هذه الدراسة.

كما ذكر Alkhalaf (2021) أن نسبة التثبيط باستخدام DPPH للعشب *C. crispus* كانت (25، 37.8 ، 47.3 ، 84.2 %) عند تراكيز (50 ، 100 ، 150 ، 200) ppm على التوالي بالمقارنة بالقياسي BHT (91.5 %) عند 200 ppm وهذا ما اتفق جزئيا مع هذه الدراسة.

الخلاصة

تم تصنيف ستة أنواع من الاعشاب البحرية جمعت من شواطئ مدينتي سوسة والحمامة وقد صنفت الأنواع التالية من الطحالب الحمراء *Polysiphonia bradiiae* *Laurencia obtusa*, *Rytiphloeay tinctoria* بينما الأنواع التالية تتبع الطحالب البنية *Cystoseira compressa*, *C. corniculata* , *C. spinosa* .

و من خلال النتائج المتحصل عليها وجد أن النوع *C. compressa* احتوى على تركيز مرتفع من المركبات الفينولية يصل الى 514.8 ملجم/100م مقارنة بالأنواع الأخرى، بينما احتوى النوع *R. tinctoria* على تركيز منخفض وصل الى 38 ملجم/100م مقدره كحامض جاليك. كما استخدمت كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) لفصل وتوصيف المركبات الفينولية والمضادة للأكسدة في المستخلصات المتحصل عليها من الطحالب البحرية موضع الدراسة. وكان مستخلص النوع *P. bradiiae* هو الأعلى نشاطا في كسح الشقوق الحرة لمركب DPPH (90.42 %) يليه النوع *C. compressa* (74.07 %)، أما النوع *L. obtusa* أعطى نشاط منخفض كمضاد أكسدة كاسح للشقوق الحرة (3.58 %) عند تركيز 200 ppm على الرغم من احتوائه على مركبات فينولية بتركيز أعلى من بعض أنواع الطحالب الأخرى مما يدل على أن هناك بعض المركبات الفينولية ليس لها نشاط مضاد للأكسدة .

خلصت النتائج الى أن جميع المركبات الفينولية المفصولة التي أعطت لون أزرق مع كلوريد الحديد كان لها نشاط مضاد للأكسدة عند الرش باستخدام جوهر DPPH و بالتالي فإن لها القدرة على إعطاء البروتونات الى الشقوق الحرة. وارتفع عدد المكونات

المفصولة ذات النشاط المضاد للأكسدة في *P. brodiaei* و *c. compressa* و *tinctoria* مقارنة بالأنواع الأخرى.

التوصيات

1. يمكن استخدام بعض الأعشاب البحرية كمصادر جيدة لمضادات الأكسدة الطبيعية لما لها من خصائص متعددة الوظائف والتي يمكن استخدامها في التطبيقات الغذائية.
2. اجراء المزيد من الدراسات على الأعشاب المتواجدة بالشواطئ الليبية للاستفادة الكاملة منها في مجالات التطبيقات الغذائية والطبية والصناعية.

المراجع

- Alkhalaf, M.I.(2021). "Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic effects of *Chondrus crispus* species of red algae collected from the Red Sea along the shores of Jeddah city", J. King Saud Univ.-Sci.(33): 101210
- Antonisamy, J.M., Essakimuthu, P., Narayanan, J. , Anantham, B., Tharmaraj, R.J. J., Arumugam, S.(2012). "Phytochemical Characterization of Brown Seaweed *Sargassum wightii*", Asian Pacific Journal of Tropical Disease,109-113.
- AOAC. (1997). "Official Methods of Analysis, 16th ed . Association of Official Analytical Chemists", Washington, DC.
- Bamaniyal, P.K., Joshil, N.H., Tiwaril, A. & Shajil, S. (2022). "Seaweed - Classification, Source and Uses", Agri-India Today, 2(5): 54-57.
- Chkhikvishvili, L.D. and Ramazanov, Z.M.(2000). "Phenolic substance of brown algae and their antioxidant activity" , Applied Biochemistry and Microbiology, 36(3): 289- 291.
- Espin,J.C., Soler-Rivas, C. and Wichers,H.J. (2000). "Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oils fractions using 2,2 diphenyl -1-picrylhydrazyl radical", J. Agric Food Chem, 48:648 – 656.
- Evans, W.C. (1996). "Trease and Evans, Pharmacognosy", WB Savnders Company London.
- Generalić Mekinić, I.; Skroza, D.; Šimat, V.; Hamed, I.; Čagalj, M.and Popović, Z.J.(2019). " Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: Extraction, identification, and quantification" , Biomolecules, 9(6):244.

- Hermund, D.B., Yessiltas, B., Honold, P., Jónsdóttir, R., Kristinsson, H.G., Jacobsen, C. (2015). "Characterisation and antioxidant evaluation of Icelandic *F. vesiculosus* extracts in vitro and in fish oil-enriched milk and mayonnaise", J. Funct. Food, (19) :828- 41.
- Imbs,T.I., and Zvyagintseva,T.N.(2018). "Phlorotannins are polyphenolic metabolites of brown algae", Russian Journal of Marine Biology, 44(4):263-73.
- Kamal,M., Abdel- Raouf, N. , Alwutayd, K., Abdel- Gawad,H., Abdel-Hameed,M.S., Hammouda,O. and Elsayed, K.N.M.(2023). "Seasonal changes in the biochemical composition of Dominant Macroalgal species along the Egyptian Red Sea Shore", Biology, 12 (3):411.
- Kannan, M., Pushparaj, A., Dheeba, B., Nageshwari, K. and Kannan, K.(2014). "Phytochemical screening and antioxidant activity of marine algae *Gracilaria corticata* and *Spirulina platensis*", Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 6(11) :321- 318.
- Karimzadeh,K., Zahmatkesh, A.(2021). "Phytochemical screening, antioxidant potential, and cytotoxic effects of different extracts of red algae (*Laurencia Snyderiae*) on HT29 cells", Research in Pharmaceutical Sciences, 16 (4): 400- 413.
- Khairy, H.M.; El-Sheikh, M.A.(2015). "Antioxidant activity and mineral composition of three Mediterranean common seaweeds from Abu-Qir Bay, Egypt", Saudi J. Biol. Sci.,(22): 623–630.
- Kurechi, T., Kikugawa, K. and Koto,T. (1980). "Studies on the antioxidants XIII hydrogen capability of antioxidants to 2,2-diphenyl -1- picrylhydrazyl", Chem. Pharm. Bull, 28(7) : 2089-2093.
- Lomartire, S., Cotas, J., Pacheco, D., Marques, J. C., Pereira, L. and Gonçalves, A.M.M.(2021). "Environmental impact on seaweed phenolic production and activity: An important step for compound exploitation ", Marine Drugs, 19(5):245.
- Lomartire, S.& Goncalves, A.M.M. (2022). "An Overview of Potential Seaweed-Derived Bioactive Compounds for Pharmaceutical Applications", Mar. Drugs, 20(2): p.141.
- Lourenco, S.C., Moldão-Martins, M. & Alves, V.D. (2019). "Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications". Molecules, 24(22): p.4132.

- Mancuso, F.; Messina, C.; Santulli, A.; Laudicella, V.; Giommi, C.; Sarà, G.; Airolidi, L.J. (2019). "Influence of ambient temperature on the photosynthetic activity and phenolic content of the intertidal *Cystoseira compressa* along the Italian coastline", J. Appl. Phycol, (31): 3069.
- Naimiki, M. (1990). "Antioxidants, antiimutagens in food", Critical Review in food science and Nutrition, 29: 273-300.
- Nizamudden, M., Menez, E. G. , West, J. A. (1979). "A list of marine algae from Libya", Botanic Mareine, Vol. XXII : 465 – 476.
- Oiye, S. O., & Muroki, N. M. (2002). "Use of spices in foods", Journal of Food Technology in Africa, 7(2). jfta.v7i2.19242
- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Seca, A. M. L., Pimto, D.C.G.A., Michalak, I., Trincone, A., Mishra, A.P., Nigam, M., Zam, W. & Martins, N. (2019). "Current Trends on Seaweeds: Looking at Chemical Composition, Phytopharmacology, and Cosmetic Applications", Molecules, 22(24): p.4182.
- Santos, S.A.O., Félix, R., Pais, A.C.S., Rocha, S.M. and Silvestre, A. J. D. (2019). "The quest for phenolic compounds from macroalgae: A review of extraction and identification methodologies. Biomolecules", 9(12): 847.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A.(1965). "Colorimetry of total phenolics with phophomolybdc-phosphotungstic acid reagents". Am.J.Enol. Vitie,16:144-158.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G.(1967). "Statistical methods" , 6th Edition, The Iowa State University Press, Ames.