مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية
مجلد 39- عدد 3 (2023): 55-65

Damascus University Journal for the Basic Sciences
Vol 39 No.3 (2023): 55 -65

تعيين المحتوى الكمي لبعض المركبات الكيميائية الفعالة حيوياً في طحلب Spirogyra fluviatilis

فردوس مصطفى كورجك [1] ، د.سيراؤوس محمد [2]

[1] طالبة دكتوراه، قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.

[2] أستاذ مساعد، قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق، سورية.

الملخص

عُزل طحلب Spirogyra fluviatilis من بحيرة 16 تشرين في اللاذقية وصنف مورفولوجيا تبعاً لعدد الصانعات وشكل البيضة الملقحة ومن ثم تنميته في أحواض مفتوحة مع إضافة المغذيات المناسبة. تم قياس الرماد ومردود الاستخلاص وكمية الصباغ والقيمة الغذائية وكمية الفينولات والفعالية المضادة للأكسدة. حيث بلغ محتوى الرماد 119±1.4 ملغ/غ والمردود 55±0.2 ملغ/غ خلاصة ميتانولية. سجلت كمية اليخضور أ وب والكاروتين 4.19 ± 0.4، 1.77 ± 0.2، 1.22 ± 0.04 ملغ/غ على التوالي من الوزن الجاف للطحلب. تم اختبار القيمة الغذائية للطحلب وسجلت قيم البروتين، السكريات والدهون عند 307.57 ± 0.87، 204.4 ± 1.29، 45.5 ± 0.31 ملغ/غ على التوالي. تم عرض قيم المحتوى الكلي من الفينولات والفلافونوئيدات في الخلاصة الميثانولية عند 420.6 ± 0.017، 204.3 ± 2.92 على التوالي. أظهرت الخلاصة الميتانولية نشاط أعلى لمضادات الأكسدة من الخلاصة الكلوروفورمية، حيث تم كنس 50% من الجذور الحرة في محلول Dpph عند تركيز 82.39 ملغ/ل من الخلاصة الميتانولية. إن نتائج هذه الدراسة تدعم استعمال طحلب Spirogyra كمكمل غذائي ومصدر مهم للملونات الطبيعية ومضادات الأكسدة الطبيعية.

الكلمات المفتاحية: Spirogyra fluviatilis – التنمية– الفينولات – مضادات أكسدة.

تاريخ الإيداع: 2022/06/02
تاريخ الموافقة: 2022/08/04

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص
CC BY-NC-SA 04

Determination of the quantitative content of some bioactive chemical compounds in Spirogyra fluviatilis

Frdous Korjak[1] ،Dr. Serarous Mohammad[2]

1. Plant Biology Department, Faculty of Science, University of Damascus, Syria
2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Damascus University, Syria

Abstract

Spirogyra fluviatilis was isolated from Lake Tishreen 16 in Lattakia and morphologically classified according to the number of plasts and the shape of the fertilized egg and then grown in open ponds with the addition of appropriate nutrients. Ash, extraction yield, pigment quantity, nutritional value, phenol quantity and antioxidant activity were measured. The ash content was 119 ± 1.4 mg/g and 55 ± 0.2 mg/g of methanol extract. The amount of chlorophyll a and b and carotene were 4.19 ± 0.4, 1.77 ± 0.2, 1.22 ± 0.04 mg/g, respectively, of the dry weight of the moss. The nutritional value of the algae was tested and the values of protein, sugars and fats were recorded at 307.57 ± 0.87, 204.4 ± 1.29, 45.5 ± 0.31 mg/g, respectively. The values of the total content of phenols and flavonoids in methanol extract were shown at 420.6 ± 0.017, 204.3 ± 2.92, respectively. Methanol extract showed higher antioxidant activity than chloroform extract, scavenging 50% of free radicals in Dpph solution at a concentration of 82.39 mg/L of methanol extract. The results of this study support the use of Spirogyra as a dietary supplement and an important source of natural colorants and antioxidants.

Key words: Spirogyra fluviatilis- Culture- Phenols- Antioxidants

Received :2022/06/02
Accepted:2022/08/04

Copyright:Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

1. المقدمة والدراسة المرجعية:

تعد الطحالب مصدراً واعداً للمركبات النشطة حيوياً مثل الأحماض الدهنية والكاروتينات والسكريات المتعددة والليكتين والفيتامينات والبروتينات النباتية والأملاح المعدنية ومضادات الأكسدة المتنوعة والأحماض الأمينية؛ فهي تحتوي على جميع الأحماض الأمينية الأساسية (Dawczynski et al., 2007, 892)، تستعمل منتجات الطحالب في الصناعات الغذائية والكيميائية والدوائية ومستحضرات التجميل (Priyadarshani, 2012, 90)، إضافة إلى أهميتها كمضافات غذائية وعلف للحيوانات (Wells et al.,2017, 959). وتراكم الطحالب مركبات عالية الطاقة لذلك تُعد مادة أولية لإنتاج الوقود الحيوي ولديها إمكانات كبيرة كمادة أولية متجددة (Hughes et al., 2012, 3)، كما تعد الطحالب الكبيرة مصدراً مهماً للغذاء البشري، خاصة في الدول الآسيوية حيث تعد من الأطعمة منخفضة السعرات الحرارية التي تحتوي على نسبة عالية من المعادن والفيتامينات والبروتينات والكربوهيدرات (Dawczynski et al.2007, 891; Kumari et al.2010, 749)

ينتمي طحلب السبيروجيرا Spirogyra. sp إلى فصيلة Zygnemataceae ورتبة Zygnematales، صف Zygnematophyceae شعبة الطحالب الكارية Chariophyta، (Kim 2015. 612) يعيش في المياه العذبة، يتميز بوجود صانعات خضراء حلزونية الشكل تحتوي على اليخضور أ واليخضور ب المسؤولان عن لونه الأخضر (Krupek et al., 2014, 455)، له أنواع عديدة تصل إلى 613 نوع (Kadlubowska, 1984, 532). ينمو في تيارات جارية من المياه العذبة الباردة والبرك وفي الجداول والأنهار والمسطحات المائية الصغيرة الراكدة وبين النباتات على حواف البحيرات الكبيرة، ويشكل حصائر كثيفة تطفو على سطح الماء أو تحته مباشرة كما يفرز طبقة من المخاط ذات طبيعة سكرية تجعله زلق الملمس (Ramaraj et al., 2015, 39). يتكاثر جنس Spirogyra تكاثراً لا جنسياً بالانقسام الخيطي Mitosis ويتكاثر تكاثراً جنسياً عن طريق عملية الاقتران Conjugation حيث يتم فيها نقل محتوى خلايا أحد الخيوط إلى خلايا الخيط الآخر عبر قناة الاقتران Conjugation Tube (Transeau, 1951, 90)، ويمكن التعرف على الشكل الإعاشي لـ Spirogyra من خلال الخصائص الآتية: (1) سماكة الجدار الخلوي، (2) أبعاد الخلية، (3) عدد الصانعات الخضراء وشكل البيضة الملقحة (Stancheva et al., 2013, 602).

2. الأهمية والأهداف:

نتيجة للزيادة السكانية الكبيرة عالمياً والحاجة الملحة للغذاء وتدني القيمة الغذائية لمعظم المواد الشائعة الاستعمال كان لا بد من البحث عن مصادر غير تقليدية للمواد الغذائية غنية بالمواد الفعالة حيوياً كمصدر جديد للمادة الغذائية والمضافات، ويأتي هذا البحث كمساهمة جديدة على المستوى المحلي بالإضاءة على طحلب السبيروجيرا المنتشر في التجمعات المائية في سورية، وتحديد إمكانية استعماله كمادة غذائية أو مضافات غنية بمضادات الأكسدة، وبذلك فإن البحث يهدف إلى:

(1) عزل وتنمية طحلب Spirogyra fluviatilis وتحديد محتوى الرطوبة والرماد ومردود الاستخلاص.

(2) تعيين المحتوى الكلي للسكريات والبروتينات والدهون والأصبغة.

(3) تحديد المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات.

(4) تحديد الفعالية المضادة للتأكسد.

3. مواد البحث وطرائقه:

1.3 تنمية طحلب Spirogyra fluviatilis

جُمعت العينات في شهر أب 2021 من بحيرة سد 16 تشرين في اللاذقية باستعمال عبوات زجاجية، سعتها 250 مل، مغسولة ونظيفة ومعقمة، من نموات خيطية على أطراف البحيرة، سُجلت على العبوات معلومات عن درجة حرارة الجو والمياه وتاريخ أخذ العينة ووضعت في حافظة حقلية، ونُقلت إلى المختبر (Christian and Bellinger 2013, 1265). غسلت الأنواع بالماء المقطر لإزالة الملوثات الكبيرة والمجهرية ودُرست عينات الطحالب تحت المجهر الضوئي وتم تحديد الجنس Spirogyra مورفولوجياً في مختبرات قسم علم الحياة النباتية كلية العلوم في جامعة دمشق. تم وضع 15 غ من طحلب S. fluviatilis في حوض اسمنتي

مفتوح بقياس (170*140*45) سم بسعة 1000 ليتر ماء وإضافة نترات الصوديوم $NaNO_3$ كمصدر للآزوت بتركيز 3.76 غ/ل وفوسفات ثنائي البوتاسيوم K_2HPO_4 بتركيز 0.43 غ/ل كمصدر للفوسفور (Kernan and Juliano 2001, 21)، وتم سحب 200 ليتر من الماء كل 3 أيام وإضافة 200 ليتر تحوي نفس التراكيز من المغذيات، ثم جمعت الكتلة الحيوية بعد 18 يوم من التنمية.

2.3 قياس محتوى الرطوبة والرماد والمردود

جُمع 100 غ من الكتلة الحيوية الرطبة وغسلت بماء مقطر وجُففت في الظل وبدرجة حرارة الغرفة، ومن ثم طُحنت بواسطة مطحنة. وحُسب محتوى الرطوبة ونسبة المواد اللاعضوية باستعمال مرمدة wise therm عند الدرجة 650 مْ حيث أُخذ 2 غ من الوزن الجاف ووضعت في المرمدة لمدة 5 ساعات (Lawton et al., 2013,641).

3.3 تحضير الخلاصة

المذيبات المستعملة: الميثانول نقاوة 100% والكلوروفورم نقاوة 100%.

طُحنت العينة الجافة وأُخذ 40 غ من العينة ونُقعت في المذيب لمدة 12 ساعة ومن ثم تم تعريض المحلول مع العينة للأمواج فوق الصوتية لمدة 40 دقيقة، وبعد ذلك بُخر المذيب باستعمال المبخر الدوار عند الحرارة 50 مْ. وضعت الخلاصة في بيشر في حاضنة هزاره عند الدرجة 40 مْ للتخلص من بقايا المذيب ومن ثم وزنت بعد التبخير وثبات الوزن.

4.3 قياس محتوى الصباغ (اليخضور أ، اليخضور ب والكاروتينات)

أُخذ 0.025 غ من مسحوق الطحلب ونُقع في الأسيتون 80% لمدة 6 ساعات، وبعد ذلك نُقل الخليط بسرعة(5000 دورة/دقيقة)لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة 5 مْ، حُفظ الطافي وأُخذ الراسب واستخلص منه من جديد مع استعمال المذيب نفسه إلى أن أصبح الراسب عديم اللون، جُمع الطافي، ثم تممَ الحجم إلى 25 مل بالأسيتون80% ، قُرأت الامتصاصية على جهاز المطياف الضوئي، وحُسبت التراكيز وفق المعادلات الآتية:

$C_a = 12.21A_{663} - 2.81A_{646}$
$C_b = 20.13A_{646} - 5.03A_{663}$
Total Chl-(a+b) = chlorophyll-a + chlorophyll-b
Total carotene = $(1000A470 - 3.27C_a - 104C_b)/198$

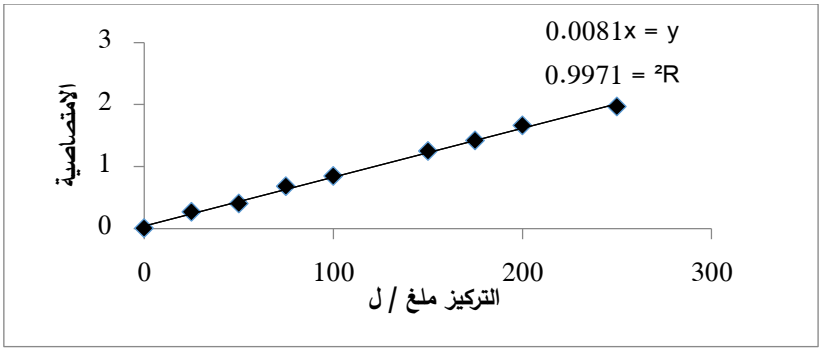
حيث Aتمثل الامتصاصية عند طول الموجة المحدد، C_a اليخضور أ، C_b اليخضور ب.

(Arnon 1949, 591)

5.3 قياس المحتوى الكلي للسكريات والبروتينات والدهون.

قياس السكريات

أخذ 0.08غ من الطحلب الجاف وضع في 10 مل ميتانول أخذ 1مل من العينة وأضيف لها 4 مل كاشف الأنثرون، وضعت في حمام مائي لمدة 10 دقائق وقيست الامتصاصية عند طول الموجة 620 نانو متر (DuBois et al., 1956, 350). تم تحديد تركيز السكريات الكلية في العينة بإسقاط قيمة الامتصاصية السابقة على المنحنى العياري الخطي لسكر الغلوكوز في الماء المقطر بعدة تراكيز 250-0ملغ/ل (الشكل 1)، وقدرت التراكيز ملغ /غ مكافئ من سكر الغلوكوز من الطحلب الجاف.



الشكل 1. مخطط بياني يمثل السلسلة العيارية لسكر الغلوكوز.

قياس محتوى البروتين:

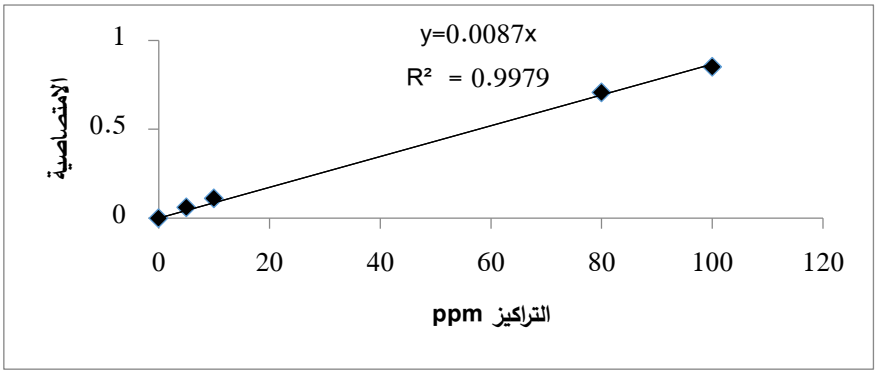
حُضرت محاليل موقية من NaOH و HClحيث N:0.4لكلا المحلولين. تم دمج 25 مل من NaOH مع 25 مل من HCl وتم معايرة الpH ليصبح معتدل (pH =7).

أُخذ 1 غ من الوزن الرطب للطحلب وأضيف فوقها 15 مل من المحلول الموقي وتم سحقها في هاون ووضع على هزازة في حمام ثلجي لمدة ساعة. تم التثفيل لمدة 10 دقائق / 5000 دورة/دقيقة، أُخذ الطافي وأُضيف محلول موقي للرسابة ومن ثم إعادة عملية التثفيل لمدة 3 مرات. جُمع الطافي وتُمم الحجم إلى 50 مل. أخذ 100 ميكرو ليتر من المحلول وأُضيف إليها 400 ميكرو ليتر ماء مقطر و1مل كاشف أزرق الكوماسي. قيست الامتصاصية على جهاز المطياف الضوئي عند طول الموجة 595 نانو متر (Kadam et al., 2017, 6). حُدد تركيز البروتينات الكلية في العينة بإسقاط قيمة الامتصاصية السابقة على المنحنى العياري الخطي للكازئين في محلول ملحي من كلوريد الصوديوم 0.1 Mبعدة تراكيز0 -120 ملغ/ل (الشكل 2)، وقدرت التراكيز ملغ/غ مكافئ من الكازئين.

تم حساب تركيز البروتين وفق المعادلة:

Y=0.0089 X

Y: الامتصاصية ، X: التركيز وضُرب بعامل التمديد (5)



الشكل 2. مخطط بياني يمثل السلسلة العيارية لبروتين الكازئين.

قياس محتوى الدهون

وضع10غ من الكتلة الحيوية المجففة المطحونة في جهاز سوكسيلييه واستخلصت الحموض الدسمة بمقدار 150مل من مذيب نظامي الهكسان في درجة حرارة 60 درجة مئوية، مدة 6 ساعات (Agarry et al., 2013, 1633). رُشّح المستخلص للتخلص من ذرات الغبار الدقيقة الموجودة فيه بوساطة قمع بوخنر، ومرشحة0.2 ميكرو متر. وضع المستخلص الزيتي في المبخر الدوار في الدرجة 60 – 63 مْ وتحت الضغط ليتم تبخير المذيب. نُقل الزيت إلى وعاء زجاجي (50 مل)، وضع في الحاضنة الهزازة في الدرجة 60 مْ مع التحريك، مدة 4 ساعات تقريباً أو حتى ثبات الوزن نسبياً. حُفظ الزيت في البراد بدرجة حرارة 6°C، وأضيف القليل من المذيب إلى الوعاء الزجاجي ليمنع أكسدة الزيت نسبياً. ثم وضع ضمن أوعية زجاجية ذات غطاء محكمة الإغلاق لحين الاستعمال (Christie 1982). وحُسب مردود الاستخلاص من العلاقة:

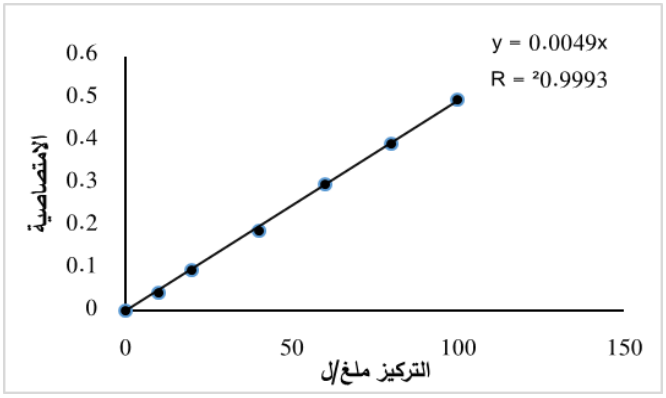
وزن الزيت الناتج من الاستخلاص × 100 / وزن العينة المستخلص منها.

6.3 قياس محتوى الفينول الكلي

تستعمل طريقة فولين سيكالتيو Folin cicaltio لتعيين الفينولات الكلية، حيث تُرجع الفينولات بحمض فوسفو موليبدات التنغستين (الكاشف) في وسط قلوي فينتج عنه محلول أزرق اللون يقاس امتصاصه عند طول موجة 760 نانومتر، حيث تحدث سلسلة من

تفاعلات الإرجاع وذلك بانتقال إلكترون أو اثنين من الفينولات تؤدي إلى تشكيل معقدات زرقاء اللون تضم الشرسبة $(PMoW_{11}O_{40})^{4-}$ (Singleton et al.,1999, 156).

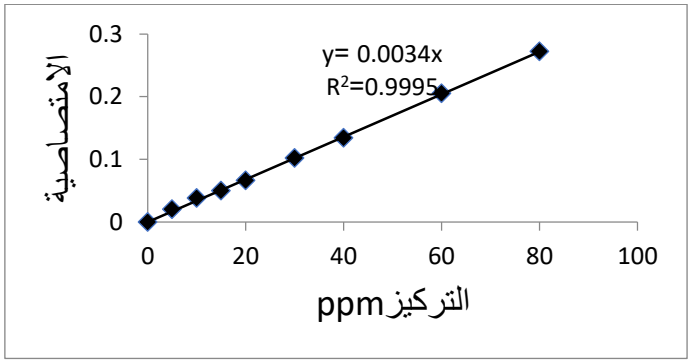
أخذ 0.01 غ خلاصة تم حلها في 10 مل ميتانول، أُخذ منها 1 مل وأُضيف إليها 4.8 مل ماء مقطر و0.2 مل كاشف الفولين و4 مل كربونات الصوديوم 7.5% (Shaghaghi et al., 2008, 697; AlHafez et al., 2014, 457)، تم تحديد تركيز الفينولات الكلية في العينة بإسقاط قيمة امتصاصية العينة على المنحنى العياري الخطي لحمض الغاليك Gallic acid في إيتانول 70 % بعدة تراكيز 0 -100 ملغ/ل (الشكل 3)، وقدرت التراكيز ملغ/غ مكافئ من حمض الغاليك من الخلاصة الميتانولية الجافة.



الشكل 3. السلسلة العيارية لحمض الغاليك.

7.3 قياس محتوى الفلافونوئيدات

تم حل 0.01غ من الخلاصة الميتانولية الجافة في 10 مل ميتانول وأخذ 1 مل ومدد الحجم إلى 10 مل. نأخذ 2 مل من المحلول الممدد ونضيف 0.1 مل كلوريد الألمنيوم و0.1 مل خلات البوتاسيوم و2.8 مل ماء مقطر. وضع المحلول في الظلام لمدة 30 دقيقة. قيست الامتصاصية عند طول الموجة 415 نانو متر. تم تحديد تركيز الفلافونوئيدات الكلية في العينة بإسقاط قيمة الامتصاصية السابقة على المنحنى العياري الخطي للكيرستين بعدة تراكيز 0-120 ملغ/ل (الشكل 4)، وقدرت التراكيز ملغ/غ مكافئ من الكرستين من الخلاصة الميتانولية الجافة (Chang et al.,2002, 179).



الشكل 4. السلسلة العيارية لمركب الكيرستين

8.3 دراسة النشاط المضاد للتأكسد

أُخذ 0.01 غ من الخلاصة الميتانولية والكلوروفورمية الجافة وحُلت في 10 مل من نفس المذيب وحُضرت منها عدة تراكيز بدءاً من 50 حتى 250 ملغ/ل، أُخذ 200 ميكرو ليتر من كل تركيز ووضعت في أنابيب وأضيف إليها 2 مل من كاشف DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) في الإيثانول (4.5 ملغ/ل)، وُضعت الأنابيب بعد التحريك في مكان مظلم في درجة حرارة الغرفة مدة 30 دقيقة، ثم قيست الامتصاصية باستعمال جهاز المطيافية الضوئية Spectrophotometer عند طول الموجة 515

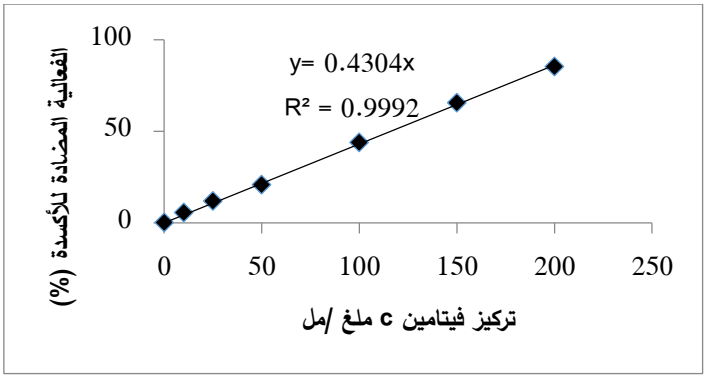
نانو متر. عرضت النتائج مقارنة بالسلسلة العيارية لفيتامين C (الشكل 5) بتراكيز بين 0 و200 ملغ/ل كمركب مرجعي لاختبار كنس الجذور الحرة بسبب قدرته الإرجاعية الكبيرة، لحساب قدرة الخلاصة على تثبيط الجذور الحرة (Sarikurkcu et al., 2009, 2480) استُعملت المعادلة الآتية:

$$DPPH\% = [(Ab-Aa)/Ab] \times 100$$

حيث: Aa امتصاصية العينة، Ab امتصاصية الكاشف.

IC_{50}= 116.171µg/ml

حيث IC_{50} التركيز المثبط النصفي للجذور الحرة من فيتامين C.

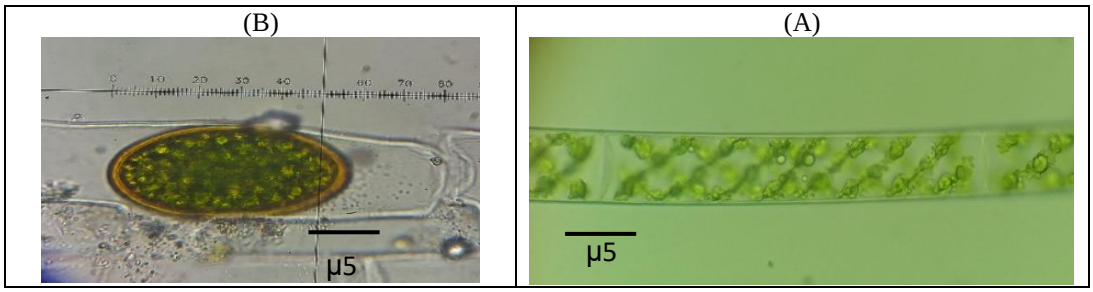


الشكل 5. السلسلة العيارية لـ فيتامينC.

4. النتائج والمناقشة:

1.4عزل جنس Spirogyra fluviatilis:

تم دراسة عينة الطحالب مورفولوجياً وتم تحدد العينة أنها S. fluviatilis وفقاً لـ (Rickert and Hoshaw 1968, 64). كان الوصف التصنيفي خيوط من خلايا طولها 180–225 ميكرو متر، وعرضها 37.5–50 ميكرو متر ذات نهاية مستوية. الصانعات حلزونية الشكل عددها 3 واضحة البيرينوئيدات. عدد اللفات في الخلية 3 (الشكل 6. A). البيضة الملقحة Zygospora شكلها بيضوي إلى إهليلجي طولها 137.5–142.5 ميكرو متر وعرضها 62.5–70 ميكرو متر، الجدار أسمر مضاعف الجدار المتوسط بلون بني مسنن (الشكل 6. B). يغزر في المياه الضحلة والبرك بشكل طافي أو متثبت، يظهر خلال شهر نيسان إلى نهاية شهر أيلول.



الشكل 6. خيط ال Spirogyra fluviatilis. البيضة الملقحة

لوُحظ خلال العزل والتنمية أن النوع السابق ينمو بهيئة خيوط مفردة بنسبة 100%، وقد يصل عدد الخلايا في الخيط الواحد إلى 112 خلية، وازداد معدل النمو بإضافة المغذيات الحاوية على عنصري الفوسفور والنتروجين، وهذا يتفق مع نتائج Kernan وJuliano (Kernan and Juliano 2001, 19).

2.4 محتوى الرطوبة والرماد ومردود الاستخلاص

بينت نتائج الدراسة أن 1 غ من الوزن الرطب أعطت 115.2 ملغ جاف أي بنسبة بلغت 11.52% وبالتالي نسبة الرطوبة هي 88.48%. بلغت قيمة الرماد من الوزن الجاف 119ملغ/غ. في حين كان مردود الاستخلاص في الميثانول 55 ملغ/غ من العينة الجافة (الجدول 1).

الجدول 1. مردود التجفيف، الاستخلاص والرماد

مردود التجفيف (ملغ/غ)	محتوى الرطوبة %	الرماد (ملغ/غ)	مردود الاستخلاص(ملغ/غ)
2.25±.115	88.48	1.4±119	0.2±55

تتفق نتائج محتوى الرماد مع نتائج Sitthiwong (2019, 19) حيث بلغت قيمة الرماد للأنواع Spirogyra .sp بين 5% و17%

3.4 المحتوى الكلي لليخضور أ واليخضور ب والكاروتينات

أظهرت النتائج وجود كميات من اليخضور أ أعلى من اليخضور ب حيث بلغت 4.19 ملغ/غ و1.77ملغ/غ على التوالي، وكان محتوى الكاروتينات 1.22 ملغ/غ (الجدول 2).

الجدول 2. المحتوى الكلي للكلوروفيل أ والكلوروفيل ب والكاروتينات.

	المحتوى ملغ /غ	النسبة %
اليخضور أ	0.4 ± 4.19	0.41
اليخضور ب	0.02 ± 1.77	0.17
الكاروتينات	0.04 ± 1.22	0.12

اتفقت نتائج البحث مع نتائج Sitthiwong (2019, 19) حيث بلغت القيم 4.067، 1.716 و1.209 ملغ / غ لليخضور أ واليخضور ب والكاروتينات على التوالي في جنس Spirogyra. يوجد اليخضور أ في جميع الطحالب ذاتية التغذية وهو يعمل بشكل أساسي في عملية التركيب الضوئي بينما يقوم اليخضور ب بنقل الطاقة الضوئية الممتصة إلى اليخضور أ (Sitthiwong, 2019, 17)

4.4 المحتوى الكمي من (البروتينات، السكريات، الدهون) لطحلب S. fluviatilis

يشير الجدول (3) إلى محتوى الكتلة الحيوية الجافة من البروتينات والسكريات والدهون للنوع Spirogyra fluviatilisحيث كانت النسبة الأعلى للبروتينات ومن ثم السكريات وأقلها للدسم.

الجدول 3. محتوى الكتلة الحيوية من البروتينات والسكريات والدسم

	المحتوى ملغ /غ	النسبة %
البروتينات	0.87 ± 306.57	30.67
السكريات	1.29 ± 204.4	20.4
الدهون	0.31 ± 45.5	4.55

بينت النتائج أن محتوى الكتلة الحيوية الجافة للنوع S. fluviatilis من السكريات 20.4 %، وهذا يقل عن القيم المحددة من قبل Tipnee وآخرون (2015, 5) للنوع Spirogyra varians، فقد وقعت ضمن المجال 42% – 60%، بينما أظهرت النتائج أن محتوى الكتلة الحيوية من البروتينات كان الأعلى بين المركبات الكيميائية حيث بلغت 30.67% من الوزن الجاف وهذا يتجاوز القيم المحددة من قبل Tipnee وآخرون (2015, 5) للنوع Spirogyra varians فقد وقعت ضمن المجال9.47٪ و14.68٪،وكذلك أعلى من القيم المحددة من قبل Sitthiwong (2019, 19) للجنس Spirogyra sp. فقد كانت القيمة 22.7%. كان تركيز الدهون الأقل من بين المركبات الكيميائية حيث بلغ 4.55 % وهي ضمن القيم المحددة من قبل Ge وآخرون (2017, 1) حيث كانت ضمن المجال 2.8% و10% وقريبة من نتائج Sitthiwong (2019, 10) حيث بلغت 5.51%. يعود نسبة اختلاف نسبة السكريات والبروتينات والدهون لاختلاف الظروف النمو الفيزيائية من عمق الماء وعدد ساعات الإضاءة واختلاف نسبة المواد المغذية والتعرض لظروف الإجهاد (Becker,2007, 208).

5.4 المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات

أظهرت النتائج أن إجمالي محتوى الفينول للخلاصة الميتانولية بلغ 420.6 ملغ/غ وبلغ محتوى الفلافونوئيدات 204.3 ملغ/غ (الجدول 4) وهذه النتائج قريبة من نتائج Junthip وآخرون (2013, 663) حيث بلغت القيمة 589.77 ملغ/غ في النوع Spirogyra sp.، وأعلى من القيم التي ظهرت مع Mridha وآخرون (2017, 1291) على الجنس Spirogyra triplicata حيث بلغت القيم 134.23ملغ/غ للفينولات و104.3 ملغ/غ للفلافونوئيدات.

الجدول 4. المحتوى الكلي للفينولات والفلافونوئيدات.

	ملغ /غ خلاصة	ملغ /غ كتلة حيوية جافة
الفينولات	0.017 ± 420.6	50.01
الفلافونوئيدات	2.92 ± 204.3	31.35

تشير القيم المرتفعة للفينولات والفلافونوئيدات في الخلاصة الميتانولية إلى القدرة الكبيرة لهذا الطحلب كمضاد أكسدة ومضاد للجراثيم مما يسمح باستعماله للأغراض الطبية.

إن هذه التراكيز من الفينولات عند طحلب S. fluviatilis تعد قريبة نسبياً من التراكيز في النباتات المستعملة في التغذية مثل الجرجير والكرفس (Zeb 2015, 2. , Maggi et al., 2019,1) مما يسمح باستعمال هذا النوع كمصدر غذائي وطبي واعد مستقبلاً.

6.4 النشاط المضاد للأكسدة

عند دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لخلاصة الميثانول والكلوروفورم لطحلب S. fluviatilis بالمقارنة مع السلسلة العيارية لفيتامين c كمركب مرجعي لكنس الجذور الحرة تبين أن خلاصة الميتانول أكثر فعالية من خلاصة الكلوروفورم وكذلك من فيتامين c، حيث تم كنس 50% من الجذور الحرة في محلولDPPH عند تركيز 82.39 ملغ/ل بينما لزم لكنس نفس النسبة من الجذور الحرة 3450 ملغ/غ من خلاصة الكلوروفورم و116 ملغ /ل من فيتامين c وتوافقت نتائجنا مع Kumar وآخرون (2015, 9). يعود سبب الفعالية المضادة للأكسدة إلى المحتوى الغني بالمركبات الفينولية والفلافونوئيدات واستيرات الأحماض الدهنية (Jerez et al., 2017, 3) والتي قد تتراكم نتيجة التعرض للإجهاد في الظروف المناخية القاسية التي ينمو فيها الطحلب من نقص في المواد المغذية والشدة الضوئية العالية والأشعة فوق البنفسجية.

من خلال النتائج التي تم الحصول عليها تبين غنى طحلب S. fluviatilis بالبروتين ويمكن استعماله كمادة غذائية ومضافات لأعلاف الحيوانات. كما أن ارتفاع قيم الفلافونوئيدات والفينولات يعطيه أهمية كمضادات أكسدة ومضادات حيوية.

الاستنتاجات Conclusion

1. تم التعرف على طحلب المياه العذبة في هذه الدراسة على أنه Spirogyra fluviatilis.
2. كشف التركيب الكيميائي الحيوي لـ S. fluviatilis أنه يحوي 4.19 ± 0.4، 1.77 ± 0.2، 1.22 ± 0.04 ملغ/غ من اليخضور أ وب والكاروتينات على التوالي من الوزن الجاف وبالتالي يمكن استعماله كملونات غذائية طبيعية.
3. بلغت قيم البروتين، السكريات والدهون عند 307.57 ± 0.87، 204.4 ± 1.29، 45.5 ± 0.31 ملغ/غ على التوالي وهذا يجعل منه مصدراً هاماً للبروتين لاستعماله كغذاء للإنسان والحيوان.
4. أظهرت هذه الدراسة قدرات عالية من مضادات الأكسدة حيث تم كنس 50% من الجذور الحرة في محلول DPPH عند تركيز 82.39 ملغ/ل من الخلاصة الميتانولية مما يجعله مصدراً للصادات الحيوية.

التوصيات Recommendation.

1. دراسة تأثير إضافة الطحلب إلى أعلاف الحيوانات والدواجن وكملون غذائي طبيعي.
2. تحديد المركبات الفعالة وتركيزها في الطحلب باستعمال الكروموتوغرافيا الغازية GC/MS.

المراجع References

1. Agarry, S. E., Aremu, M. O., Ajani, A. O., & Aworanti, O. A. (2013). Alkali-catalysed production of biodiesel fuel from Nigerian Citrus seeds oil. International Journal of Engineering Science and Technology, 5(9), 1682.
2. AlHafez, M., Kheder, F., & AlJoubbeh, M. (2014). Polyphenols, flavonoids and (-)-epigallocatechin gallate in tea leaves and in their infusions under various conditions. Nutrition & Food Science.44, 455-463
3. Arnon, Daniel I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant physiology, 24(1), 1.
4. Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. Biotechnology advances, 25(2), 207-210.
5. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3).
6. Christian TK-H. EG Bellinger, DC Sigee.(2013) Freshwater Algae: Identification and Use as Bioindicators. Journal of Applied Phycology. 25(4), 1265-1266.
7. Christie, William W. (1982). Lipid analysis. Oxford: Pergamon press.207, 1982.
8. Dawczynski, C., Schubert, R., & Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fibre in edible seaweed products. Food chemistry, 103(3), 891-899.
9. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical chemistry, 28(3), 350-356.
10. Ge, S., Madill, M., & Champagne, P. (2018). Use of freshwater macroalgae Spirogyra sp. for the treatment of municipal wastewaters and biomass production for biofuel applications. Biomass and bioenergy, 111, 213-223.
11. Hughes.A. D, Kelly. K. D. Black and M. S. Stanley. (2012). Biogas from macroalgae: is it time to revisit the idea. Biotechnol Biofuels. 5, 1-7.
12. Jerez-Martel, I., García-Poza, S., Rodríguez-Martel, G., Rico, M., Afonso-Olivares, C., & Gómez-Pinchetti, J. L. (2017). Phenolic profile and antioxidant activity of crude extracts from microalgae and cyanobacteria strains. Journal of Food Quality, 1-8.
13. Junthip, R., Amornlerdpison, D., & Chimsook, T. (2013). Phytochemical screening, antioxidant activity and total phenolic content of Spirogyra spp. In Advanced Materials Research .699, pp. 693-697. Trans Tech Publications Ltd.
14. Kadam, S. U., Álvarez, C., Tiwari, B. K., & O'Donnell, C. P. (2017). Extraction and characterization of protein from Irish brown seaweed Ascophyllum nodosum. Food Research International, 99, 1021-1027.
15. Kadlubowska, J. Z. (1984). Süsswasserflora von Mitteleuropa. Band 16, Chlorophyta VIII. Conjugatophyceae I: Zygnemales. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. 1, 532.
16. Kernan and Juliano. (2001). Effects of Nutrient Enrichment on the Growth of the Green Alga Spirogyra in Conesus Lake. N.Y. SUNY Geneseo Journal of Science and Mathematics. 2(1), 19-25.
17. Kim, J. H. (2015). New records of the genus Spirogyra (Zygnemataceae, Conjugatophyceae) in Korea. Journal of Ecology and Environment, 38(4), 611-618.
18. Krupek, R. A., Empinotti, A., Santos, R. K., & Araujo, E. A. T. (2014). Influence of physical characteristics of environment (light and current velocity) on the substrate occupation by Spirogyra sp. in stream ecosystems. Brazilian Journal of Botany. 37(4), 453-459.
19. Kumar J, Dhar P, Tayade AB, Gupta D, Chaurasia OP, Upreti DK. (2015). Chemical Composition and Biological Activities of Trans- Himalayan Alga Spirogyra porticalis (Muell) Cleve. PLoS ONE. 10 (2), 118255.
20. Kumari, M. Kumar, V. Gupta, C. R. K. Reddy and B. Jha. (2010). Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. Food Chem. 120, 749-757.
21. Lawton, Rebecca J.; De Nys, Rocky; Paul, Nicholas A. (2013) Selecting reliable and robust freshwater macroalgae for biomass applications. PloS one,vol. 8(5), e64168.
22. Maggi, F., Giuliani, C., Fico, G., Ricciutelli, M., Bramucci, M., Quassinti, L., ... & Dall'Acqua, S. (2019). Secondary metabolites, secretory structures and biological activity of water celery (Apium nodiflorum (L.) Lag.) growing in central Italy. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 153(2), 325-335.

23. McKernan, P., & Juliano, S. (2001). Effects of Nutrient Enrichment on the Growth of the Green Alga Spirogyra in Conesus Lake, NY. Journal of Science and Mathematics 2(1), 19-25.
24. Mridha, A., Nandi, C., Pal, R., & Paul, S. (2017). Studies on few fresh water green algal species reveals Spirogyra triplicata as the repository of high phenolic and flavonoid content exhibiting enhanced anti-oxidant property. J Pharmacogn Phytochem. 6 (4), 1291-1297.
25. Priyadarshani, I., & Rath, B. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae–A review. Journal of Algal Biomass Utilization, 3(4), 89-100.
26. Ramaraj, R., Unpaprom, Y., Whangchai, N., & Dussadee, N. (2015). Culture of macroalgae Spirogyra ellipsospora for long-term experiments, stock maintenance and biogas production. Emergent Life Sci Res, 1(1), 38-45.
27. Rickert, F. B., & Hoshaw, R. W. (1968). The application of algal culture methods to studies on the distribution of Spirogyra in southern and eastern Arizona. Journal of the Arizona Academy of Science, 5(2), 63-76.
28. Sarikurkcu, C., Arisoy, K., Tepe, B., Cakir, A., Abali, G., & Mete, E. (2009). Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of Vitex agnus castus L. fruits from Turkey. Food and Chemical Toxicology, 47(10), 2479-2483.
29. Shaghaghi, M., Manzoori, J. L., & Jouyban, A. (2008). Determination of total phenols in tea infusions, tomato and apple juice by terbium sensitized fluorescence method as an alternative approach to the Folin–Ciocalteu spectrophotometric method. Food chemistry, 108(2), 695-701.
30. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In Methods in enzymology (Vol. 299, pp. 152-178).
31. Sitthiwong, N. (2019). Pigment and Nutritional Value of Spirogyra spp. in Sakon Nakhon, Nakhon Phanom and Mukdahan Provinces. Progress in Applied Science and Technology, 9(1), 10-21.
32. Stancheva, R., Hall, J. D., McCourt, R. M., & Sheath, R. G. (2013). Identity and phylogenetic placement of S pirogyra species (Zygnematophyceae, Charophyta) from California streams and elsewhere1. Journal of phycology, 49(3), 588-607.
33. Tipnee, S., Ramaraj, R., & Unpaprom, Y. (2015). Nutritional evaluation of edible freshwater green macroalga Spirogyra varians. Emergent Life Sciences Research, 1(2), 1-7.
34. Transeau, E. N. (1951). The Zygnemataceae (fresh-water Conjugate Algae) with keys for the identification of genera and species: and seven hundred eighty-nine illustrations (No. 1). Ohio State University Press.
35. Wells, M. L., Potin, P., Craigie, J. S., Raven, J. A., Merchant, S. S., Helliwell, K. E., ... & Brawley, S. H. (2017). Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. Journal of applied phycology, 29(2), 949-982.
36. Zeb, A. (2015). Phenolic profile and antioxidant potential of wild watercress (Nasturtium officinale L.). SpringerPlus, 4(1), 1-7.