الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine 1

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

مذكرة التخرج لنيل شهادة الماستر

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: العلوم البيولوجية

فرع: بيولوجيا الحيوان

تخصص: علم السموم Toxicologie

N° d'ordre :

N° de série :

تحت عنوان:

دراسة النشاط المضاد للأكسدة لعسل الغابة متعدد الأزهار

من اعداد الطالبات: ضبابعة لجين
بوقطة شيماء
بلعيادي ملاك

في 2023/06/21

لجنة المناقشة:

رئيس اللجنة: البروفيسور مناد أحمد	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1.
المشرفة: الأستاذة دكدوك نادية	أستاذة محاضرة ب	جامعة مصطفى بن بولعيد باتنة 2.
الممتحنة: الأستاذة عثماني-مرابط غنية	أستاذة محاضرة أ	جامعة صالح بوبنيدر قسنطينة 3.

شكروعرفان

الحمدلله السميع العليم ذي العزة والفضل العظيم والصلاة والسلام على حبيبنا المصطفى الهادي الكريم وعلى آله وصحبه أجمعين... أما بعد، الشكر لله والحمدلله عزوجل الذي وفقنا في إتمام هذه المذكرة، و أنار دربنا، ووهبنا الصبر والصحة والقوة، ووفقنا في مسيرتنا العلمية.

لا يسعنا بعد الانتهاء من اعداد هذه المذكرة إلا أن نتقدم بجزيل الشكروعظيم الامتنان للأستاذة الفاضلة "الأستاذة دكدوك نادية" التي تفضلت بالإشراف على هذه المذكرة، والتي كان لعلمها وفضلها وحسن توجيهاتها تصويب أفكارنا نحو الهدف الأساسي للمذكرة فجزاها الله عنا خير الجزاء. كما لا يفوتنا أن نتقدم بجزيل الشكروالعرفان لأعضاء اللجنة الموقرة، الأستاذ الكريم "مناد أحمد" الذي نفخر بترأسه لجنة المناقشة و إثراء المذكرة بالنصائح القيمة والهادفة والشاملة وكذلك كل احتراماتنا وتشكر اتنا الخالصة للدكتورة "عثماني-مر ابط غنية" على قبولها مناقشة هذه المذكرة وتشريفنا في لجنة المناقشة لإثراء هذا العمل بتوجيهاتها ونصائحها السديدة.

كما نتقدم بالشكروالامتنان لطاقم مركز البحث في البيوتكنولوجيا قسنطينة، خاصة الأستاذة "مغبون إبتسام" والأستاذ "بن سويس شوقي"، و"الأستاذة غالي ليندة" على نصائحهم وتوجيهاتهم لنا طيلة التدريب العملي.

كما نتقدم بجزيل الشكر لتعاونية ولاية سطيف لتوفيرها العسل المستعمل في عملنا، خاصة الأستاذ "لمداوي مصطفى" والأستاذ "طلحي عبد الحميد".

كما نتقدم بالشكروالامتنان إلى كل أساتذتنا الذين تتلمذنا على أيديهم في كل مراحل دراستنا، وجميع أسرة كلية علوم الطبيعة والحياة وخاصة قسم بيولوجيا الحيوان وكل من مد لنا يد العون والمساعدة في انجاز هذه المذكرة على أكمل وجه.

إهداء

بعد بسم الله الرحمن الرحيم

قال تعالى: ﴿.. وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾ [يونس: 10]

اللهم لك الحمد حتى ترضى ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضى، والصلاة والسلام على نبينا وحبيبنا محمد وصحبه أجمعين.

عظُم المراد فهان الطريق، فجاءت لذة الوصول لتُمحي مشقة السنين.

أهدي ثمرة جهدي المتواضع إلى من وهبوني الحياة والأمل، والنشأة على شغف الإطلاع والمعرفة، ومن علموني أن أرتقي سلم الحياة بحكمة وصبر، احسانا، ووفاء لهما: أبي العزيز سليمان، وأمي العزيزة ليلى.

إلى من وهبني الله نعمة وجودهما في حياتي أخوتي قطعة من قلبي، أسامة ومرام.

إلى خطيبي وزوجي المستقبلي عبدالله الذي لطالما ساندني وشجعني، وآمن بي.

إلى جميع أفراد عائلتي الكريمة وصديقاتي على دعمهم وحبهم طوال مشواري الدراسي.

وأخيرا، إلى كل من ساعدني وكان له دور من قريب أو بعيد في إتمام هذه المذكرة سائلة المولى عزوجل أن يجزي الجميع خير الجزاء في الدنيا والآخرة.

ثم، إلى كل طالب علم سعى بعلمه، ليفيد الإسلام والمسلمين بكل ما أعطاه الله من علم ومعرفة.

ضبابعة لجين

إهداء

الحمد لله والصلاة على صاحب الشفاعة سيدنا محمد وعلى آله وصحبه الميامين، من تبعهم بإحسان إلى يوم الدين، أما بعد أهدي ثمرة جهدي المتواضع:

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار...إلى من علمني العطاء بدون انتظار...إلى من أحمل اسمه بكل افتخار والدي العزيز صالح

إلى التي بحنانها ارتويت وبدفئها احتميت وبنورها اهتديت ولحقها ما وفيت، إلى الشمعة التي تحترق من أجل أن تضيء لي الدرب أمي الغالية نادية

إلى من تربطني بهم أسمى علاقة في الوجود إخوتي الأعزاء خير الدين، خلود، عماد وعادل وسمير

إلى زوج أختي أحمد وزوجة أخي خولة اللذان أصبحا فردا من العائلة

إلى ملاكي الصغير ألاء الرحمان

إلى كل معلم أفادني بعلمه من أول المراحل الدراسية حتى هذه اللحظة وبالأخص الأستاذة المشرفة دكدوك نادية

إلى كل الذين حاولوا إطفائي ها أنا أهدي لكم هذا العمل وأخبركم أني قد توهجت

إلى كل من يبحث عن المعرفة بين ثنايا هذه المذكرة

أهديكم هذا العمل راجية من المولى عزوجل القبول والنجاح

بوقطة شيماء

إهداء

بسم الله الرحمن الرحيم وصلى الله على صاحب الشفاعة سيدنا محمد النبي الكريم وعلى آله وصحبه الميامين ومن تبعهم بإحسان إلى يوم الدين وبعد الحمد لله الذي وفقنا على تثمين هذه الخطوة في مسيرتنا الدراسية بمذكرتنا هذه ثمرة الجهد والنجاح

أهدي تخرجي هذ ا إلى من أفضلها على نفسي ولم لا فلقد ضحت من أجلي، ولم تدخر جهداً في سبيل إسعادي على الدوام (أمي الحبيبة). نسير في دروب الحياة، ويبقى من يسيطر على أذهاننا في كل مسلك نسلكه.

صاحب الوجه الطيب والأفعال الحسنة، فلم يبخل علي طيلة حياته (والدي العزيز).

إلى أصدقائي وجميع من وقفوا بجواري وساعدوني بكل ما يملكون وفي أصعدة كثيرة.

أقدم لكم هذا البحث و أتمنى أن يحوز على رضاكم.

بلعيادي ملاك

المختصرات

ADN Acide désoxyribonucléique

ABTS 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

CAT Catalase

COX Cycloogenase

COOH Acide carboxylique

DPPH 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl

FRAP Ferric Reducing Antioxidant Power

ERO Espèces Réactives Oxygénés

GAE Acide gallique

GSH Glutathion

GSSG Glutathion oxydé

G6P *Glucose-6-phosphate*

GPX Glutathion Peroxydase.

GR Glutathion réductase

Hcl Acide chlorhydrique

H2O Eau

HNO2 Acide Nitreux

HMF 5-hydroxymethylfurfural

HOCl Acide Hypochloreux

HOBr Acide Hypobromeux

MPO *Myeloperoxidase*

MT Métallothionéine

NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide réduit
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit
NO 2Cl	Chloride Nitryle
NO•	Oxide Nitrique
NO·2	Dioxide d'azote
O2•-	Anion superoxyde
1O2	Oxygène singulier
OH•	Radical hydroxyle
ONOOH	Nitroperoxyde
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
RO·	Radical Alkoxyle
ROO·	Radical Peroxyle
ROOH	Acide organique
SOD	SuperOxydes Dismutases
TE	Trolox
Trx	Thioredoxin
XO	Xanthine oxidase
Zn	Zinc

فهرس

مقدمة.....1

الدراسة البيبليوغرافية.....4

الفصل الأول: الإجهاد التأكسدي 6

1-1 تعريف الإجهاد التأكسدي.....6

2-1 الجذور الحرة وأنواع الأكسجين التفاعلية 6

1-2-1 تعريف الجذور الحرة.....6

3-1 أنواع الأكسجين التفاعلية وأنواع النيتروجين التفاعلي.....7

1-3-1 مشتقات الأكسجين الجذرية 10

1-1-3-1 الأكسيد الفائق 10

2-3-1 مشتقات الأكسجين غير الجذرية.....14

1-2-3-1 الأكسجين الأحادي 14

2-2-3-1 بيروكسيد الهيدروجين 14

3-2-3-1 حمض هيبوكلوروس.....14

3-3-1 أنواع النتروجين التفاعلية 14

1-3-3-1 أكسيد النيتريك.....14

2-3-3-1 البيروكسينيتريت.....15

4-1 مصادر الإجهاد التأكسدي.....15

5-1 الدور الفيزيولوجي للجذور الحرة.....17

6-1 أضرار الإجهاد التأكسدي 18

1-6-1 أضرار أكسدة الحمض النووي.....18

2-6-1 ما فوق الأكسدة اللبيدية 18

3-6-1 أكسدة البروتين.....19

7-1 الدور الباثولوجي للإجهاد التأكسدي.....19

الفصل الثاني: مضادات الأكسدة 22

2-1 تعريف مضادات الأكسدة.....22

2-2 مضادات الأكسدة الإنزيمية.....22

1-2-2 انزيم ديسموتاز الفائق.....22

2-2-2 إنزيم الكتالاز 23

3-2-2 إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز(GPx).....23

4-2-2 الجلوتاثيون المختزل.....24

3-2 مضادات الأكسدة غير الانزيمية 24
2-3-1 الأنظمة الداخلية 24
2-3-1-1 الجلوتاثيون المرجع 24
2-3-1-2 - نظام Thioredoxin الثنائي 25
2-3-1-3 حمض اليوريك 26
2-3-1-4- حمض α- ليبويك 26
2-3-1-5 -الإنزيم المساعد Q10 27
2-3-1-6 البيليروبين 27
2-3-2- مضادات الأكسدة ذات المصدر الخارجي 28
2-3-2-1 الفيتامينات القابلة للذوبان في الماء 28
2-3-2-2 الفيتامينات القابلة للذوبان في الدهون 28
3-3-2 المعادن النادرة 29
4-3-2 الفينولات 31
الفصل الثالث: العسل 35
1-3 تعريف العسل 36
2-3 أنواع العسل 36
1-2-3 عسل الرحيق 36
2-2-3 عسل المن 37
3-3 مكونات العسل 37
1-3-3 البروتينات والأحماض الأمينية 38
2-3-3 الأحماض العضوية 38
3-3-3 الإنزيمات 38
4-3-3 الأملاح المعدنية والعناصر النادرة 38
5-3-3 الفيتامينات 39
6-3-3 هيدروكسيل ميثيل فورفورال 39
7-3-3 الماء 40
8-3-3 المنكهات 40
9-3-3 المركبات الفينولية 40
10-3-3 السكريات 41
11-3-3 المركبات النيتروجينية 41
12-3-3 الدهون 41
4-3 الخصائص الفيزيائية الكيميائية للعسل 42
1-4-3 الرقم الهيدروجيني 42

3-4-2 اللون 42
3-4-3 الحموضة الحرة 42
3-4-4 محتوى الرماد 42
3-4-5 الموصلية الكهربائية 42
3-4-6 محتوى الرطوبة 43
3-4-7 الدوران المحدد 43
3-4-8 المحتوى المائي 43
3-4-9 اللزوجة 43
3-4-10 الكثافة 43
3-4-11 معامل الانكسار 44
3-4-12 الموصلية الحرارية 44
3-5 الخصائص العلاجية للعسل 44
3-5-1 النشاط المضاد للأكسدة 44
3-5-2 الأنشطة العلاجية 46
3-6 سمية العسل 47
الدراسة التطبيقية 49
1 المواد والطرق 50
1-1 المواد 50
1-1-1 عينة العسل 50
1-1-2 المواد الكيميائية 50
1-2 الطرق 50
1-2-1 الاستخلاص 50
1-2-1-1 تحضير المستخلص الميثانولي 50
1-2-1-2 تحضير المستخلص المائي 51
1-2-1-3 وزن المستخلص الميثانولي والمائي 51
1-2-2 دراسة النشاط المضاد للأكسدة 51
1-2-2-1 دراسة النشاط المضاد لأكسدة جذر DPPH· 51
1-2-2-2 دراسة النشاط المضاد لأكسدة FRAP 52
1-2-2-3 دراسة النشاط المضاد لأكسدة Fe+2-phenanthroline 53
1-2-2-4 دراسة النشاط المضاد لأكسدة ABTS 53
1-2-2-5 تقدير المحتوى الكلي للفينولات TPC 54
2-1 حساب المردودية 57
2-2 النشاط المضاد للأكسدة 57

2-2-1 النشاط المضاد للأكسدة لجذر DPPH.....57
2-2-2 النشاط المضاد للأكسدة FRAP.....58
2-2-3 اختبارPhenanthroline 59
2-2-4 النشاط المضاد للأكسدة لجذر ABTS.....61
2-2-5 تقدير المحتوى الكلي للفينولات.....61
الخاتمة.....65
قائمة المراجع.....68
ملحق.....92

قائمة الأشكال

شكل 1: اختلال التوازن ما بين ومضادات الأكسدة ومستوى الجذور الحرة 6

شكل 2: تكوين الجذور الحرة 7

شكل 3: مسارات الانتاج الداخل الخلوي لأنواع الأكسجين التفاعلية 7

شكل 4: الشكل المداري الجزيئي لـجذر $O2^{\bullet -}$ 10

شكل 5 :مصادر إنتاج أنيون الأكسيد الفائق..... 11

شكل 6: إنتاج جذور الأكسيد بالميتوكوندريا..... 11

شكل 7: إرجاع O_2 إلى $O_2^{\bullet -}$ بواسطة NADPH 12

شكل 8: انتاج الأكسيد الفائق من السيتوكروم P450 CYP / السيتوكروم P450 المختزل POR 12

شكل 9: انتاج الأكسيد الفائق من Xanthine oxidase XO 13

شكل 10: تشكيل الأنواع التفاعلية ROS وRNS في مصفوفة الميتوكوندريا عن طريق تفاعل Haber-Weiss (A)، أو تفاعل Fenton (B) أو عن طريق تحلل البيروكسينيتريت (C).. 13

شكل 15: آلية سلسلة بيروكسيد الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة 18

شكل 16: أضرار الجذور الحرة على سلسلة البروتين الجانبية..... 19

شكل17: أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة الإنزيمية واللإنزيمية..... 22

شكل 18: التوزيع الخلوي لأنواع انزيم SOD 23

شكل 19: تضامن الإنزيمات المضادة للأكسدة..... 24

شكل20: بنية الجلوتاثيون 24

الشكل 21: عملية أكسدة واختزال الجلوتاثيون 25

شكل 22 :بنية الثيورودوكسين 26

شكل23 : بنية حمض اليوريك 26

شكل 24: بنية حمض α- ليبويك 27

شكل 25: بنية الايبيكينول..... 27

شكل 26: بنية البيليروبين 28

شكل 27: بنية فيتامين C 28

شكل 28: بنية فيتامين E..... 29

شكل 29 : بنية كاروتين بيتا..... 29

شكل 30 : آلية عمل الزنك في النشاط المضاد للأكسدة 30

شكل31: استقلاب النحاس في الخلية بشكل عام 31

شكل 32 : هيكل وتصنيف البوليفينول. 32

شكل 33: الهيكل العام للمجموعات الرئيسية من مركبات الفلافونويد..... 33

شكل34 : بنية حمض الفينوليك **33**
شكل 35: نحل (*Apis mellifera*) **36**
شكل36: متوسط مكونات العسل..... **37**
شكل 37:هيدروكسيل ميثيل فورفورال..... **39**
شكل 38: الهيكل الأساسي للفلافونويد **40**
شكل 39: أنواع السكر الموجودة في العسل **41**
شكل 40: ألية الكسح الجدري للمركبات الفينولية. **44**
شكل41: طريقة الاستخلاص الميثانولي..... **50**
شكل42: طريقة الاستخلاص المائي. **51**
شكل43: هيكل DPPH وارجاعه بمضادات الأكسدة..... **52**
شكل44: آلية التفاعل خلال اختبار FRAP بين مركب الحديد ثلاثي بريدل تريازين TPTZ- (III) Fe ومضاد الأكسدة.
..... **52**
شكل45: تشكل معقد Fe^{+2}-phenanthroline..... **53**
شكل46: تشكيل وحبس ABTS $^{\bullet+}$ جذري بواسطة أحد مضادات الأكسدة. **54**
شكل 47: منحنى معايرة Trolox لـ DPPH..... **57**
شكل48: النشاط المضاد للأكسدة لجذر DPPH لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي **58**
شكل49: منحنى معايرة Trolox لـ FRAP..... **58**
شكل50: النشاط المضاد للأكسدة لجذر FRAP لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي **59**
شكل52: النشاط المضاد لأكسدة لPhenanthroline لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي. **60**
شكل53: منحنى معايرة Trolox لـ ABTS..... **61**
شكل54: النشاط المضاد لأكسدة لABTS لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي. **61**
شكل55: منحنى معايرة حمض الغاليك للمحتوى الكلي للفينولات **62**
شكل56: المحتوى الكلي للفينولات لعسل الغابة الخام والمستخلص المائي والمستخلص الميثانولي. **62**

قائمة الجداول

جدول 1: أنواع ROS وRNS المنتجة أثناء التمثيل الغذائي **8**
جدول 2: مشتقات الأكسجين والنتروجين الجدرية وغير جدرية..... **9**
جدول 3: المصادر الداخلية والخارجية للجذور الحرة. **16**
جدول 4: الاختلافات الرئيسية بين عسل المن وعسل الرحيق..... **37**
جدول5: الأملاح المعدنية الرئيسية والعناصر النزرة الموجودة في العسل. **39**
جدول6: ألية عمل مركبات الفلافونويد والمركبات الفينولية في النشاط المضاد للأكسدة للعسل. **45**
جدول7: أليات الأنشطة العلاجية للعسل. **46**
جدول 8: قيم مردود الاستخلاص..... **57**

مقدمة

مقدمة

يتميز جسم الإنسان بالعديد من الدفاعات المضادة للأكسدة منها الإنزيمات المضادة للأكسدة مثل: الكاتالاز (CAT)، والجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx)، وأكسيد الفائق (SOD) **(Espinosa-Diez *et al*.,2015)**. والأنظمة غير الإنزيمية منها داخلية المنشأ الجلوتاثيون (GSH)، وحمض البوليك، والألبومين، والبيليروبين **(Monnier *et* Schlienger.,2018)**، والإنزيم المساعد Q **(Sifuentes-Franco *et al*.,2017)**. وأخرى خارجية المنشأ مصدرها الغذاء تتمثل في: فيتامين E، فيتامين C، الكاروتينات، البوليفينول، الفلافونويد **(Monnier *et* Schlienger.,2018)**. بالاضافة إلى بعض العناصر النادرة مثل: السيلينيوم، والنحاس، والزنك التي تعد عوامل مساعدة للانزيمات المضادة للأكسدة **(Haleng *et al*., 2007)**.

تعمل مضادات الأكسدة على إحداث توازن من خلال خفض مستوى الجذور الحرة **(Correia *et al*.,2023)** هذه الأخيرة على أنها ذرة أو جزيء يحتوي على واحد أو أكثر من الإلكترونات غير المزدوجة في غلاف التكافؤ أو المدار الخارجي **(Li *et al*.,2016)**. يتم إنشاء أنواع الأكسجين التفاعلية الرئيسية (ROS)، وجذور الأكسيد الفائق ($O_2^{\bullet -}$)، وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، وجذور الهيدروكسيل ($OH^{\bullet}$)، والأكسجين المفرد ($^1O_2$). يتم إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية بشكل أساسي في الميتوكوندريا، والبيروكسيسومات، والشبكة الإندوبلازمية، وتتولد باستمرار عن طريق التفاعلات الأنزيمية التي تتضمن إنزيمات الأكسدة الحلقية، وNADPH، وأكسيدازات الزانثين، والأكسدة الدهنية ومن خلال تفاعل فنتون **(Correia *et al*.,2023)**.

تعمل (ROS) كمرسل ثانٍ، تنظم العديد من العمليات الفيزيولوجية الجزيئية الخلوية والنسيجية. حيث تشارك في الدفاع المضاد للبكتيريا أثناء تفاعلات السمية الخلوية ضد العوامل المسببة للأمراض، والتدمير عن طريق موت الخلايا المبرمج للخلايا السرطانية، ونقل الإشارات الخلوية، وتعديل التمثيل الغذائي الخلوي عن طريق تفاعل مستقبلات الترابط، التطور الجنيني، النمو، الانتشار، التمايز، وبقاء الخلية **(Bensakhiria.,2015)**. كما أن أكسيد النيتريك (NO) جزيء إشارات يلعب دورًا رئيسيًا في التسبب في الالتهاب. يعطي تأثير مضاد للالتهابات في ظل الظروف الفيزيولوجية العادية **(Sharma *et al*.,2007)**. كما تنتج الجذور الحرة من مصادر خارج خلوية منها الأشعة فوق البنفسجية، والإشعاع المؤين، والمعادن الثقيلة أو الانتقالية، والمبيدات، التدخين والكحول والأوزون **(Douglas.,2015)**.

يؤدي ارتفاع محتوى هذه الجذور الحرة إلى الإجهاد التأكسدي، وهو عبارة عن اختلال التوازن بين إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية وكفاءة نظام الدفاع المضاد للأكسدة **(Rasheed *et al*.,2022)**. يلعب الإجهاد التأكسدي دورًا رئيسيًا في تطور الأمراض التي تصيب الإنسان. حيث تشارك أنواع الأكسجين التفاعلية في نمو الخلايا وتمايزها وتطورها وموتها **(Rajendran *et al*., 2014)**. حيث يسبب الإجهاد التأكسدي أمراض القلب والأوعية الدموية، حيث يعمل بشكل أساسي كمحفز لتصلب الشرايين، ونقص التروية، وارتفاع ضغط الدم، واعتلال عضلة القلب، وتضخم القلب، وفشل القلب الاحتقاني. كما تم ربط الإجهاد التأكسدي بالعديد من الأمراض العصبية، مثل مرض باركنسون، ومرض الزهايمر، والاكتئاب، وفقدان الذاكرة وذلك بسبب إتلاف الخلايا العصبية **(Pizzino *et al*.,2017)**. كما يُشتبه في أنه مسؤول عن كل من انخفاض إفراز الأنسولين بواسطة خلايا بيتا في جزر لانجرهانز وانخفاض تأثير الأنسولين، مما يؤدي إلى تفاقم حالة مقاومة الأنسولين لمرض السكري من النوع 2. **(Delattre *et al*.,2001)**.

تكمن الفرص العلاجية الرئيسية في منع إنتاج المواد المؤكسدة التي تسبب ضررًا مباشرًا للجزيئات الكبيرة، وتثبيط إشارات المصب بواسطة المؤكسدات التي تؤدي إلى إشارات الالتهاب أو موت الخلايا، وزيادة إنزيمات مضادات الأكسدة وركائزها. تتمثل هذه العلاجات في الإنزيمات (SOD)، و (catalase)، و(GPX)، و(GSH). مثل: (EUK-189)، و (Ebselen)، و (NAC)، و(AEOL-10150). قد تكون بعض فعالة في الميتوكوندريا، ولكن يمكن أن تعمل كمواد مؤكسدة بدلاً من حماية وظيفة الميتوكوندريا، مما يجعل لها آثار جانبية ذات سمية **(Forman *et al*.,2021)**. لذا وجب البحث عن مصادر طبيعية غنية بالمضادات الأكسدة كالمركبات الفينولية.

كشفت العديد من الدراسات توفر كل من زيت الزيتون **(Polychniatou *et al*.,2018)**، وأوراق الزيتون على المركبات الفينولية منها oleuropeinو hydroxytyrosol **(Dekdouk *et al*.,2015)**، الكركم **(Yarru *et al*.,2009)**، العسل **(Scalbert *et al*., 2005)**.

ينتج العسل من نحل (Apis mellifera) **(Shapla *et al*.,2018)** وذلك من رحيق الزهور أو المن (**Royo *et al*.,2022)**. يصنف العسل إلى عسل أحادي الأزهار، وعسل متعدد الأزهار **(Hailu *et al*.,2020)** بحيث يتم الحصول على الصنف الأول من رحيق و/ أو من نوع نباتي واحد **(Bonté *et* Desmolière.,2013)** أو سائد، أما الصنف الثاني فيصنع من رحيق أو من العديد من الأنواع النباتية دون غلبة خاصة **(Koechler., 2015)**. يتميز العسل بعدة خصائص فيزيائية-كيميائية منها: الرقم الهيدروجيني، اللون، الحموضة الحرة، محتوى الرماد، الموصلية الكهربائية، محتوى الرطوبة، الدوران المحدد، المحتوى المائي، اللزوجة، الكثافة، معامل الانكسار، الموصلية الحرارية (**Mesele *et al*.,2020)**. يؤمن العسل بخصائص علاجية تتمثل في النشاط المضاد للالتهاب، النشاط المضاد للبكتيريا والميكروبات، النشاط المضاد لأثر الجروح، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للسرطان، كذلك تأثير على الجهاز الهضمي، والقلب والأوعية الدموية ونشاط مضاد للأكسدة **(Nweze *et al*.,2020)**.

يمتلك العسل نشاطا قويا مضادا للأكسدة **(Atif *et al*.,2018)**، ويعزى ذلك لتوفره على المركبات الفينولية منها الفلافونويد، والأحماض الفينولية **(Alvarez-suarez *et al*.,2010)** وهي نواتج أيضية ثانوية نباتية، والتي تعمل كمضادات للأكسدة عن طريق منع إنتاج المؤكسدات وذلك بتثبيط الزانتين أوكسيداز، واستخلاب المعادن الانتقالية (**Cianciosi *et al*., 2018**) وتثبيط أكسدة الدهون **(Da Silva *et al*.,2016)**. كما تعمل مركبات الفلافونويد على تعزيز قدرة مضادات الأكسدة الخلوية **(Seifu *et al*., 2017)**.

ونظرا لدور العسل البيولوجي المضاد للأكسدة ارتأينا انتقاء عسل الغابة من منطقة أكفادو ولاية بجاية، الذي تم حصاده سنة 2022.

يهدف بحثنا إلى دراسة تأثير النشاط المضاد للأكسدة لعسل الغابة متعدد الأزهار

ينقسم البحث إلى

دراسة نظرية تضم ثلاثة فصول، حيث الفصل الأول يتكلم عن الإجهاد التأكسدي والثاني عن مضادات الأكسدة، أما الثالث عن العسل ومكوناتها وخصائصها.

ودراسة تطبيقية التي تهدف إلى تقيم النشاط المضاد للأكسدة (متعدد الفينول، والفلافونويد)، لعسل الغابة الخام والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي من خلال الاختبارات التالية:

-اختبار DPPH لقياس قدرة مضادات الأكسدة على تحييد الجذور الحرة عند التعرض لمادة مضادة للأكسدة.

- اختبار ABTS لتقييم قوة مضادات الأكسدة في تحييد الجذور الحرة وإعادة تأهيل المحلول المؤكسد **(Pisoschi *et* Negulescu, 2011)**

-اختبارFRAP يستخدم لتقييم قدرة المركبات الكيميائية على تخفيض الحديد الثلاثي (Fe^{+3}) المؤكسد إلى الحديد الثنائي (Fe^{+2}). يعتبر الحديد الثنائي مؤشرًا لقدرة المركبات على تحييد الجذور الحرة ومكافحة التأكسد (**(Ouldyerou *et al,* 2018**،

- واختبار تكوين مركب Fe^{2+}-phenanthroline لتحديد وتقييم قدرة مركبات أو عينات معينة على تحييد الجذور الحرة وتأمين النشاط المضاد للأكسدة **(Belcher, 1973)**.

القسم الأول

الدراسة البيبليوغرافية

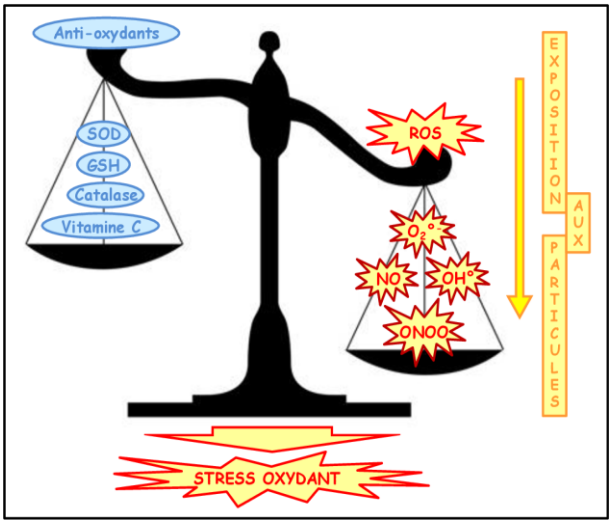
الفصل الأول

الإجهاد التأكسدي

الفصل الأول: الإجهاد التأكسدي

1-1 تعريف الإجهاد التأكسدي

الإجهاد التأكسدي هو عملية ناتجة عن عدم التوازن بين إنتاج الجذور الحرة الأنواع الأكسجين التفاعلية في الخلايا، والأنسجة وقدرة النظام البيولوجي على إزالتها **(Pizzino *et al*, 2017) (شكل 1).**



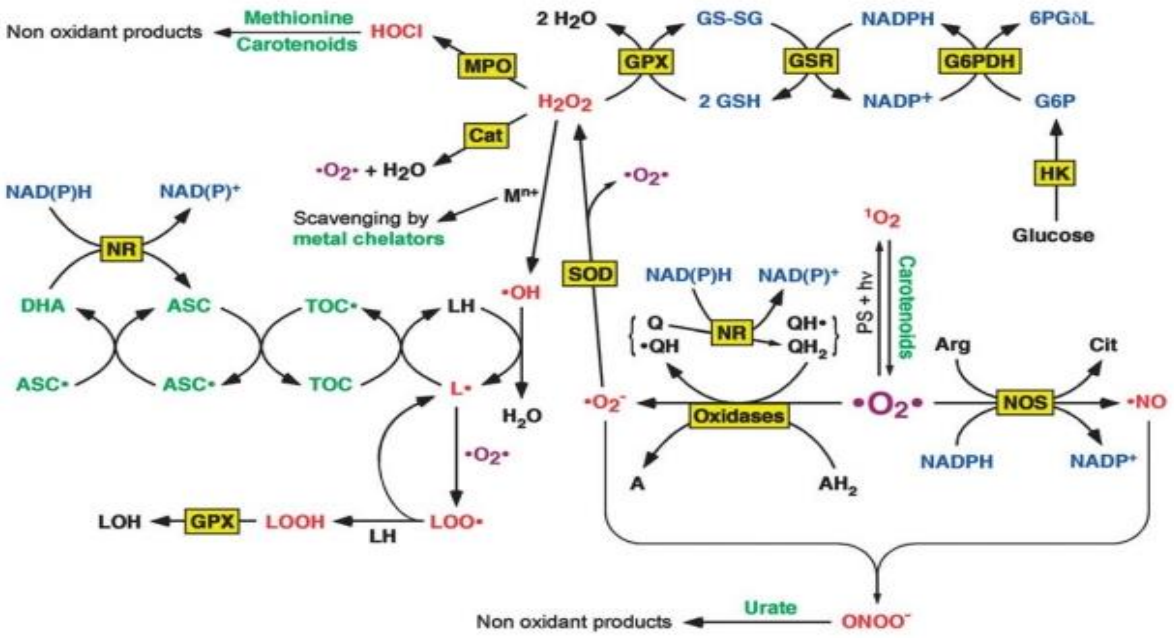
شكل 1: اختلال التوازن ما بين ومضادات الأكسدة ومستوى الجذور الحرة (Marc.,2015).

حيث يمكن أن تلحق الجذور الحرة الضرر بجميع هياكل الخلايا، مما يؤدي لظهور العديد من الأمراض المزمنة والتنكسية، كالسرطان، والتهاب المفاصل، والشيخوخة، واضطرابات المناعة الذاتية، وأمراض القلب والأوعية الدموية، والأمراض العصبية. يمتلك جسم الإنسان عدة أليات لمواجهة الإجهاد التأكسدي عن طريق إنتاج مضادات الأكسدة ذات المصدر الداخلي أو تلك ذات المصدر الخارجي من خلال الأطعمة و/ أو المكملات الغذائية **(Pham-huy *et al*, 2008).**

2-1 الجذور الحرة وأنواع الأكسجين التفاعلية

1-2-1 تعريف الجذور الحرة

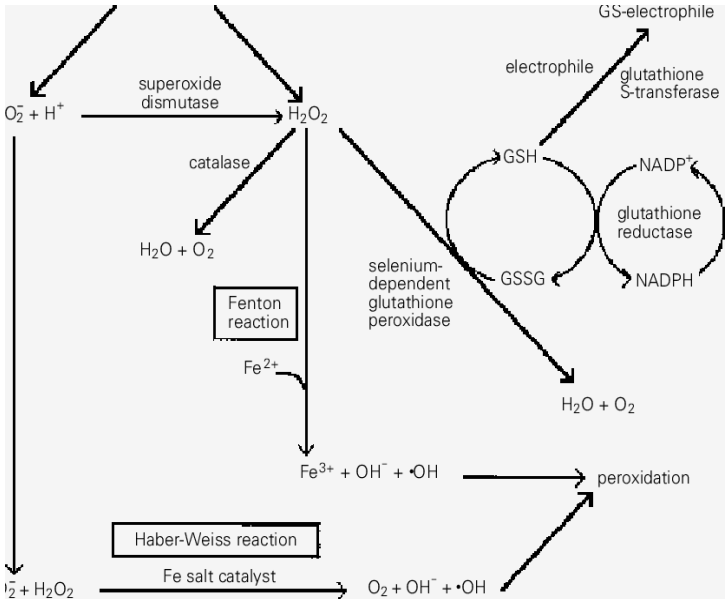
يمكن تعريف الجذور الحرة على أنها ذرة أو جزيء يحتوي على واحد أو أكثر من الإلكترونات غير المزدوجة في غلاف التكافؤ أو المدار الخارجي، وهي جذور غير مستقرة وقصيرة العمر وذات تفاعل كبير. بسبب تفاعلها العالي، فإن الجذور الحرة لها القدرة على تجريد مركبات أخرى من الإلكترونات وذلك لتحقيق الاستقرار. وهكذا يفقد الجزيء المهاجم إلكترونه ويصبح بحد ذاته جذرًا حرًا، لتبدأ سلسلة من التفاعلات المتسلسلة التي تدمر الخلية الحية **(Li *et al*.,2016) (شكل2).**



شكل 2: تكوين الجذور الحرة (Sorg., 2004).

3-1 أنواع الأكسجين التفاعلية وأنواع النيتروجين التفاعلي

أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) هي مجموعة من المواد الكيميائية عالية التفاعل تحتوي على الأكسجين، ويتم إنتاجها داخليًا **(شكل 3)** أو خارجيًا وتشمل كل من الجذور الحرة وغير الجذرية **(Andrés *et al*.,2023) (جدول 1)**



شكل 3: مسارات الانتاج الداخل الخلوي لأنواع الأكسجين التفاعلية (Storey.,1996).

بالنسبة لمشتقات الأكسجين الجذرية وغير جذرية نصنف جدر الأكسيد الفائق، جذر الهيدروكسيل، بيروكسيد الهيدروجين، الأكسجين الأحادي، حمض الهيبوكلورس. ومن أهم الجذور الحرة التي يتم إنتاجها أثناء التفاعلات الأيضية نذكر الجذور المشتقة من الأكسجين، ROS. ويمكن تصنيف كل من ROS وRNS إلى مجموعتين من المركبات وهما الجذرية وغير الجذرية **(جدول 1).**

جدول 1: أنواع ROS وRNS المنتجة أثناء التمثيل الغذائي (Phaniendra et al.,2014)

Half-life	Symbol	Free radical	
10^{-6} S	**$O_2^{\bullet-}$**	Superoxide	
10^{-10} S	**$OH^{\bullet}$**	Hydroxyl	**Reactive Oxygen Species**
10^{-6} S	**RO·**	Alkoxyl radical	**ROS (Radicals)**
17 S	**ROO·**	Peroxyl radical	
Stable	**H_2O_2**	Hydrogen peroxide	
10^{-6} S	**$^1O_2$**	Singlet oxygen	
S	**O_3**	Ozone	**Reactive Oxygen Species**
Stable	**ROOH**	Organic peroxide	**ROS(Non-Radicals)**
Stable (min)	**HOCL**	Hypochlorous acid	
Stable (min)	HOBr	Hypobromous acid	
S[a]	**$NO^{\bullet}$**	Nitric oxide	**Reactive Nitrogen Species**
S	**$NO^{\cdot}_2$**	Nitrogen dioxide	**RNS(Radicals)**
10^{-3} S	**$ONOO^-$**	Peroxynitrite	
S	**NO^-**	Nitrosyl cation	
S	**NO^+**	Nitrosyl anion	
S	**N_2O_3**	Dinitrogen trioxide	**Reactive Nitrogen Species**
S	**N_2O_4**	Dinitrogen tetraoxide	**RNS(Non-Radicals)**
S	**HNO_2**	Nitrous acid	
Fairly stable	**ONOOH**	Peroxynitrous acid	
S	**NO_2Cl**	Nitryl chloride	

بالنسبة لمشتقات الأكسجين الجذرية وغير جذرية نصنف جدر الأكسيد الفائق، جدر الهيدروكسيل، بيروكسيد الهيدروجين، الأكسجين الأحادي، حمض الهيبوكلورس. تنتج كل من ROS وRNS وفق تفاعلات كيميائية **(جدول 2).**

جدول 2: مشتقات الأكسجين والنتروجين الجدرية وغير جدرية

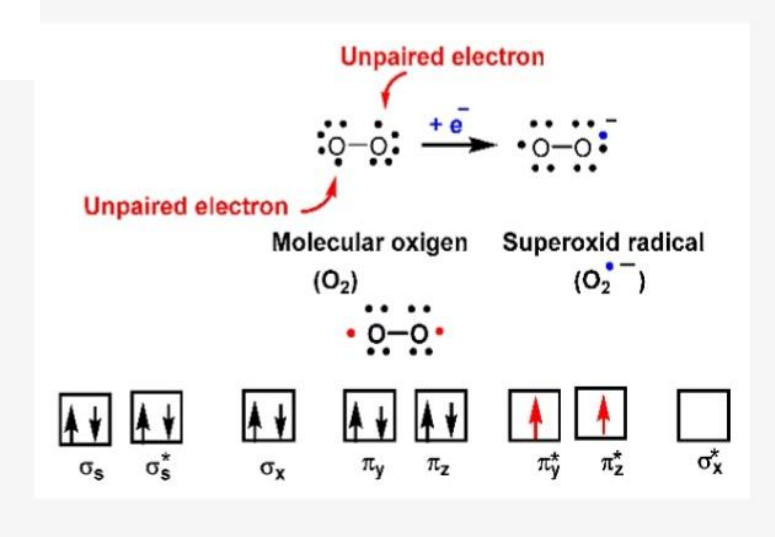
	النوع	آلية التشكل	الخصائص
أنواع الأكسجين التفاعلية الجذرية	**جذر الأكسيد الفائق ($O_2^{\cdot-}$)**	ينتج عبر التفاعلات التالية: $O_2+e^- \rightarrow O_2^{\bullet-}$ **(Phaniendra *et al*, 2015)** $NADPH + H_2O_2 + Fe/Cu \rightarrow O_2 + OH^- + OH^{\bullet}$. $AH_2 + 2\ O_2 + Oxidase \rightarrow A + 2\ H^+ + 2\ O_2^{\bullet-}$ **(Sorg, 2004)**	- القدرة على التحول إلى مركبات أكثر سمية تتمثل في: (OH·) و ($^1O_2$) **(Das *et* Roycoudhury, 2014)**
	جذر الهيدروكسيل ($OH^{\bullet}$)	$Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} \rightarrow Fe^{+3} + OH^{\bullet}+OH^-$ (تفاعل فنتون) $O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + OH^{\bullet} + 0H$ (تفاعل Haber-Weiss) **(Phaniendra *et al*, 2015)**	- نصف عمر قصير جدا وقدرة تفاعلية عالية. -يتشكل أثناء تفاعل " Haber-Weiss" أو عن طريق تفاعل فنتون، أو عن طريق تحلل البيروكسينتريت **(Juan *et al*, 2021)**
أنواع الأكسجين التفاعلية غير الجذرية	**بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)**	ينتج عن تحول ($O_2^{\cdot-}$) بواسطة إنزيم (SOD) **(Patel *et al*, 2017)** $2O_2^{\bullet-} + 2H_2 \rightarrow H_2O_2 + O_2$. **(Villalpando Rodriguez and Gibson, 202)**	يلعب دور في تفاعل فنتون لتوليد جذور الهيدروكسيل. يمتلك القدرة على التفاعل مع جدر الأكسيد الفائق لإنتاج جدور الهيدروكسيل التفاعلية و فقا للتفاعل التالي (Haber-Weiss): $O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow OH^{\bullet}+O_2$ **(Patel *et al*, 2017)**
	الأكسجين المنفرد ($^1O_2$)	$O_2\bullet- + Mn(n+1) \rightarrow {}^1O_2 + Mn+$. $H_2O_2 + ONOO- \rightarrow {}^1O_2 + NO_2^- + H_2O$ $H_2O_2 + ClO^- \rightarrow {}^1O_2 + Cl^- + H_2O$. **(Sorg, 2004)**	
	حمض الهيبوكلورس (HOCl)	-ينتج عن neutrophils المنشطة في موقع الإلتهاب من بيروكسيد الهيدروجين و الكلوريد في تفاعل محفز بواسطة إنزيم myelomperoxidase : $H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + OH^{\cdot}$	-يشارك في تفاعلات أكسدة الثيول وجزيئات بيولوجية الأخرى **(Phaniendra *et al*, 2015)**

			(Phaniendra *et al*, 2015).
أنواع النيتروجين التفاعلية	**أكسيد النتريك ($NO^{\bullet}$)**	L-Arginine + O_2 + NADPH+ NOS →L-Citrulline + $NO^{\bullet}$ + $NADP^+$**(Phaniendra *et al*, 2015)**	-يساهم في توسع الأوعية، يلعب دور مهم في الدورة الدموية (**Adams *et al*, 2015)**
	بيروكسيت النتريت ($ONOO^-$)	$O_2^{\bullet-} + NO^{\bullet} \rightarrow ONOO^-$ **(Sorg, 2004)**	- يمتلك القدرة على أكسدة مجموعات الهيم من البروتينات المختلفة. - يمكنه أن يؤدي إلى إتلاف الحمض النووي، كما يساهم في موت الخلايا المبرمج **(Patel *et al*, 2017)**

1-3-1 مشتقات الأكسجين الجذرية

1-1-3-1 الأكسيد الفائق

(**الأكسيد الفائق** $O_2^{\bullet-}$) هو شكل مختزل من الأكسجين الجزيئي (O_2) ، يتكون من ذرتين من الأكسجين مع 17 إلكترونًا وشحنة كهربائية سالبة **(شكل 4)**.

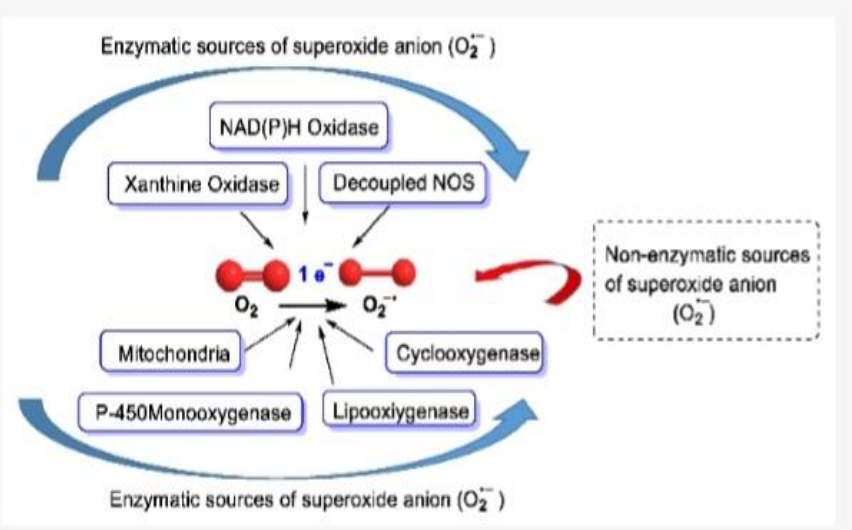


شكل 4: الشكل المداري الجزيئي لـجذر $O2^{\bullet-}$ (Andrés *et al*.,2023).

الأكسيد الفائق هو النوع الأول الذي يتم إنتاجه في السلسلة التنفسية عن طريق نقل الإلكترون وهو أحد الأنواع الأولى التي تولدها الأنظمة الخلوية المختلفة. يتشكل ($O_2^{\bullet-}$) في جميع الكائنات الهوائية الحية، ويمكن أن يتدخل كعامل إشارة أو نوع سام أو وسيط غير ضار يتحلل تلقائيًا. مستوياته محدودة في الجسم الحي بنوعين مختلفين من الإنزيمات، (SOR) اختزال الأكسيد الفائق وأكسيد الفائق ديسموتاز (SOD) **(Andrés *et al*.,2023)**.

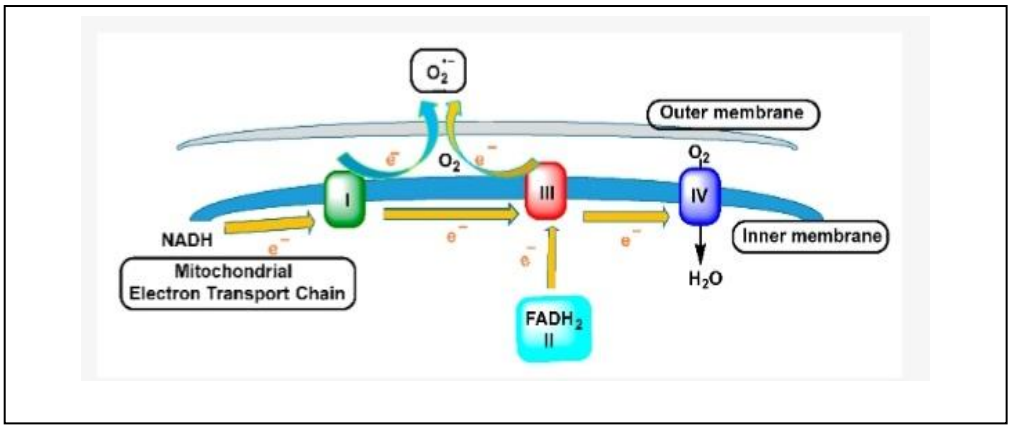
$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\cdot -}$$

يمكن أن يتولد($O_2^{\cdot -}$) من سلسلة نقل الإلكترون في الميتوكوندريا، والتي تعتبر المصدر الرئيسي لجذر ($O_2^{\cdot -}$) ومن العديد من الإنزيمات، مثل (NADPH oxidase) أوكسيديز (NOX) و (Xanthine oxidase XO) و (lipoxygenase) و (cyclooxygenase)، و (cytochrome P450 CYP) / اختزال السيتوكروم (P450 POR)، وسلاسل نقل الإلكترون الموجودة في الشبكة الإندوبلازمية، والبيروكسيسومات، والغشاء النووي والغشاء السيتوبلازمي، ومسارات تحويل (O_2) إلى الأكسيد الفائق **(شكل5) (Dröge *et al.*,2002).**



شكل 5 :مصادر إنتاج أنيون الأكسيد الفائق (Andrés *et al.*,2023).

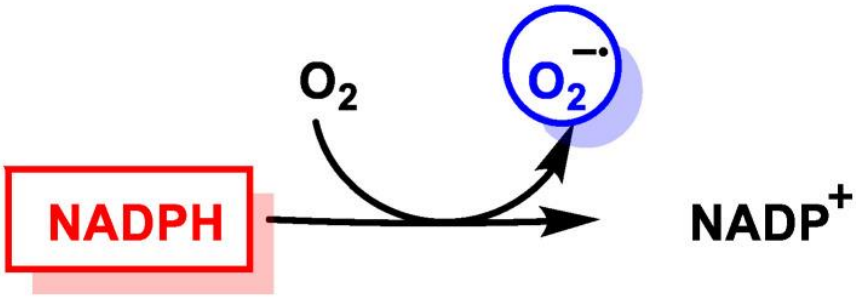
يتم تنفيذ اوكسيد الفائق بواسطة مكونين من سلسلة الجهاز التنفسي للميتوكوندريا، وهما (ubisemiquinone)، و (flavin semiquinone) من (NADH dehydrogenase)**(شكل 6) (Lezza *et al.*,1994).**



شكل 6: إنتاج جذور الأكسيد بالميتوكوندريا(Andrés *et al.*,2023) .

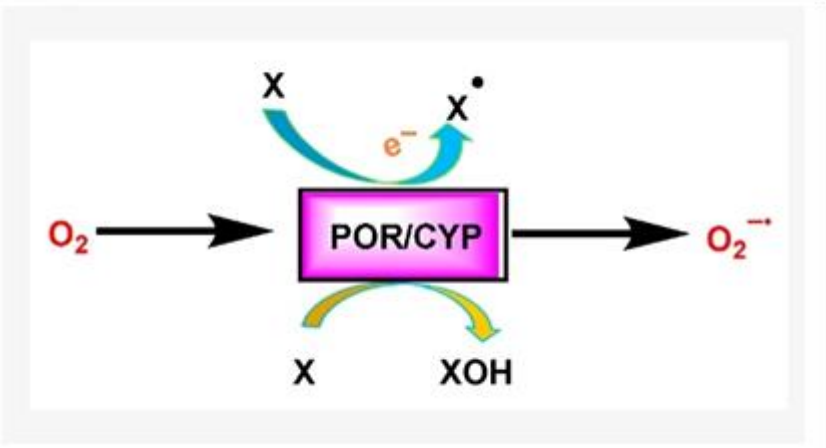
NADPH oxidase

إن إنزيم (oxidase NADPH) يحول (O_2) إلى ($O_2^{\bullet-}$) من خلال عملية الإرجاع التي يؤمنها (NADPH). توجد بروتينات (NOX_2) بشكل أساسي في الغشاء البلازمي، يحول (NOX_2) المنشط الأكسجين الجزيئي إلى أكسيد فائق باستخدام إلكترونات من NADPH) وذلك في وجود محفزات التهابية **(شكل 7) (Andrés *et al*.,2023).**



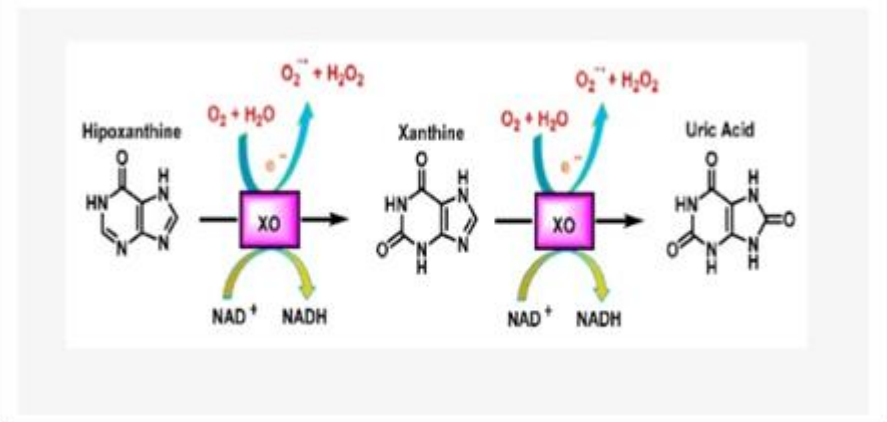
شكل 7: إرجاع O_2 إلى $O_2^{\bullet-}$ بواسطة NADPH (Andrés *et al*.,2023).

ويتم إنتاج جذور الأكسيد الفائق وبيروكسيد الهيدروجين بالشبكة الإندوبلازمية عن طريق الأكسدة التلقائية لبروتين الفلافوبروتين (NADPH) والسيتوكروم (P450) المختزل والسيتوكروم (P450) **(شكل 8) (Genestra et al.,2007).**



شكل 8: انتاج الأكسيد الفائق من السيتوكروم P450 CYP / السيتوكروم P450 المختزل POR (Andrés *et al*.,2023).

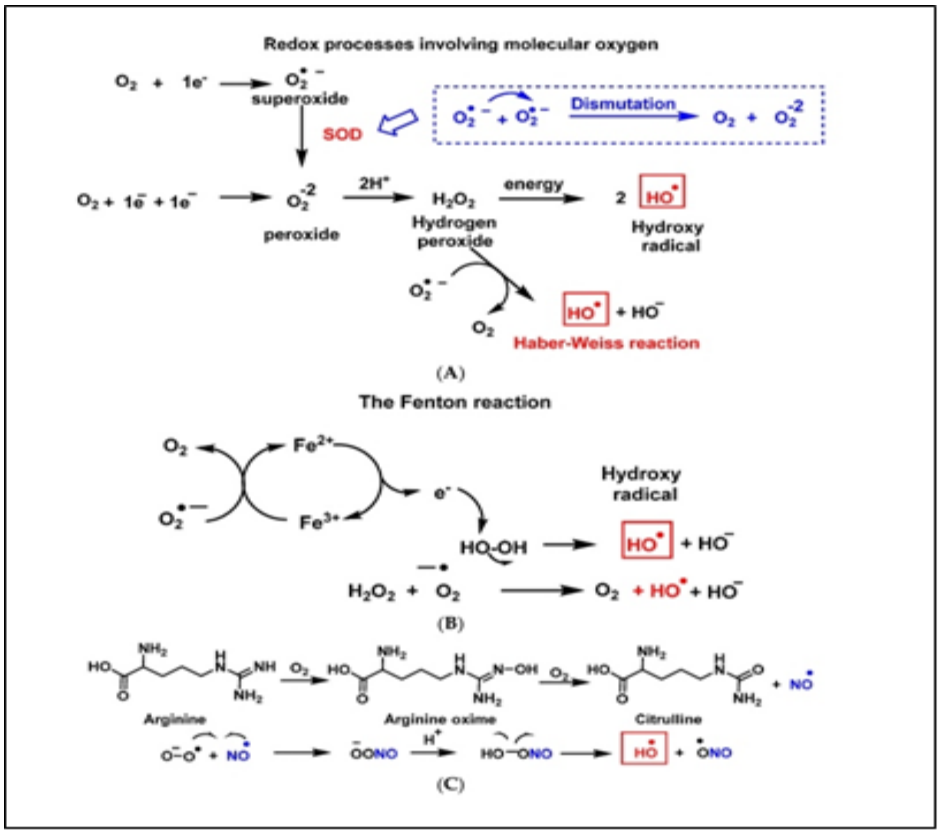
يستخدم (Xanthine oxidase XO) جزيئات الأكسجين، بدلاً من (NAD^+)، كمستقبل للإلكترون فينتج فوق أكسيد أو بيروكسيد الهيدروجين. يولد (XO) الأكسيد الفائق (28٪)، و (H_2O_2) (72٪)، وذلك بأكسدة هيبوكسانثين (hypoxanthine) إلى كزانثين (xanthine)، والزانثين إلى حمض البوليك **(شكل 9) (Mittal *et al*.,2014).**



شكل 9: انتاج الأكسيد الفائق من Xanthine oxidase XO (Andrés *et al.*,2023).

2-1-3-1 الهيدروكسيل

الهيدروكسيل الجذري هو الشكل المحايد لأيون الهيدروكسيد وهو جذر حر شديد التفاعل **(Phaniendra *et al.*,2014)**. يتكون جذر الهيدروكسيل (OH •) أثناء تفاعل (Haber-Weiss)، عن طريق تفاعل فنتون أو عن طريق تحلل البيروكسينيتريت، وله نصف عمر قصير (9- 10ثانية) وتفاعلية عالية **(شكل 10) (Juan *et al.*,2011)**.



شكل 10: تشكيل الأنواع التفاعلية ROS وRNS في مصفوفة الميتوكوندريا عن طريق تفاعل Haber-Weiss (A)، أو تفاعل Fenton (B) أو عن طريق تحلل البيروكسينيتريت (C). (Juan *et al.*,2011).

يمكن لجذر (•OH) أن يتفاعل بقوة مع الجزيئات العضوية وغير العضوية بما في ذلك الحمض النووي، والبروتينات، والدهون، والكربوهيدرات ويسبب ضررًا شديدًا للخلايا أكثر مما يمكن أن يحدثه أي نوع من أنواع أنواع الأكسجين الأخرى **(Halliwell.,1987).**

1-3-2 مشتقات الأكسجين غير الجذرية

1-2-3-1 الأكسجين الأحادي

يتم إنتاج الأكسجين الأحادي عن طريق تنشيط الخلايا المتعادلة والخلايا الحمضية. كما ينتج أيضًا عن بعض التفاعلات المحفزة بإنزيمات الأكسدة الدهنية (lipoxygenases) وديوكسيجيناز(dioxygenases) ولاكتوبيروكسيديز(lactoperoxidase) وكذا من خلال تفاعل حمض هيبوكلوروس (HOCI) و (H_2O_2) **(Phaniendra *et al*.,2014; Patel *et al*.,2018).** يعتبر الأكسجين الأحادي عامل مؤكسد قوي للغاية يمكن أن يتسبب في تلف الحمض النووي وتلف الأنسجة **(Phaniendra.,2014) .**

$$HOCL + H_2O_2 \longrightarrow {}^1O_2 + H_2O + Cl^-$$

1-2-3-2 بيروكسيد الهيدروجين

يتكون بيروكسيد الهيدروجين في الجسم الحي بواسطة إنزيم فوق أكسيد ديسموتاز (SOD). لا يؤثر(H_2O_2) مباشر على الحمض النووي ولكن يمكن أن يتلفه عن طريق إنتاج جذور الهيدروكسيل (OH-) في وجود أيونات المعادن الانتقالية **(Halliwell *et al*.,2000).**

$$O_2 + O_2^{\cdot -} + 2H_2O \xrightarrow{\text{Cu Zn Mn-SOD}} H_2O_2 + O_2$$

1-2-3-3 حمض هيبوكلوروس

تنتج (HOCl) من الخلايا المتعادلة المنشطة في موقع الالتهاب الناتج عن بيروكسيد الهيدروجين والكلوريد في تفاعل محفز بواسطة إنزيم myeloperoxidase **(Winterbourn et Kettle.,2000).** إن (HOCl) هو نوع متفاعل قوي يشارك في تفاعلات الأكسدة والكلورة، يمكنه أكسدة الثيول والجزيئات البيولوجية الأخرى بما في ذلك، أسكوربات (ascorbate)، و يورات(urate)، و نيوكليوتيدات بيريدين، وتريبتوفان (tryptophan) **(Phaniendra.,2014).**

$$H_2O_2 + CL^- \longrightarrow HOCL + OH^{\cdot}$$

1-3-3 أنواع النتروجين التفاعلية

1-3-3-1 أكسيد النيتريك

أول أكسيد النيتروجين (•NO) ينتج بالأنسجة بواسطة تركيبات أكسيد النيتريك المختلفة (NOS) التي تحول L-arginine إلى L-citrulline. تشارك ثلاثة أنواع من الأشكال الإسوية لـ (NOS) مثل (NOS) العصبية (nNOS) و (NOS) البطانية (eNOS) و (NOS) المحرض (iNOS) في تكوين جذور ($^{\cdot}NO$) **(Phaniendra.,2014).** إن (•NO)قابل

للذوبان في الدهون و الماء وبالتالي ينتشر بسهولة من خلال السيتوبلازم وغشاء البلازما **(Chiueh.,1999)**. ويعتبر مرسال ثانٍ مهم داخل الخلايا يحفز بروتين من نوع Kinasesويساعد في استرخاء العضلات الملساء للأوعية الدموية. يمكن أن يعمل أيضًا كمنظم مهم للأكسدة الخلوية وينظم النشاط الأنزيمي عن طريق نتروزيل البروتينات (nitrosylating) **(Phaniendra.,2014)**.

$$\text{L -Arginine + O2 + NADPH} \xrightarrow{\text{NOS}} \text{L -Citrulline + NO}\cdot + \text{NADP}^{+}$$

2-3-3-1 البيروكسينيتريت

ينتج البيروكسينيتريت (OONO-) من التفاعل مابين ($O_2^{\cdot -}$) و ($\cdot NO$) **(Beckman et Koppenol.,1996)**. ويمكن أن يتفاعل مباشرة مع ثاني أكسيد الكربون لتكوين كربوكسيلات نتروسو بيروكسو (nitroso peroxo carboxylate) عالي التفاعل ($-ONOOCO_2$) أو حمض البيروكسينيتروز (peroxynitrous acid) (ONOOH). يخضع (ONOOH) أيضًا للتحلل لتشكيل كل من ($OH^{\bullet}$) و (NO_2) أو إعادة التشكيل لتكوين(NO_3) . يمكن لـجذر (OONO)أكسدة الدهون، وأكسدة ميثيونين وبقايا التيروزين في البروتينات وأكسدة الحمض النووي لتشكيل النيتروغوانين **(Douki et Cadet.,1996)**. يتفاعل (NO) مع (O_2) والماء لتكوين أيونات النترات والنتريت وينتج عن أكسدة إلكترون واحد لـجذر ($\cdot NO$) كاتيون النيتروزونيوم ($NO_2^{+\cdot}$)، بينما ينتج عن نزع الإلكترون أنيون النيتروكسيل (NO^{-}). يمكن أن يتفاعل هذان الأيونان مع (NO) ويشكلان (N_2O) و ($\cdot OH$) يمكن أن يتفاعل (NO) مع مجموعة متنوعة من الجذور مثل (H_2O_2) و (HOCl) لتكوين (N_2O_3) و (NO_2^{-}) و (NO_3^{-}) **(Czapski et Goldstein.,1995)**.

1-4 مصادر الإجهاد التأكسدي

تنتج الجذور الحرة من مصادر خارج خلوية منها الأشعة فوق البنفسجية، والإشعاع المؤين، والمعادن الثقيلة أو الانتقالية. ومن مصادر داخل خلوية كالميتوكوندريا، والبيروكسيسومات، والشبكة الإندوبلازمية (ER)، ونيكوتيناميد الأدينين ثنائي النوكليوتيد فوسفات الهيدروجين (NADPH) **(Douglas.,2015) (جدول 3)**.

جدول 3: المصادر الداخلية والخارجية للجذور الحرة.

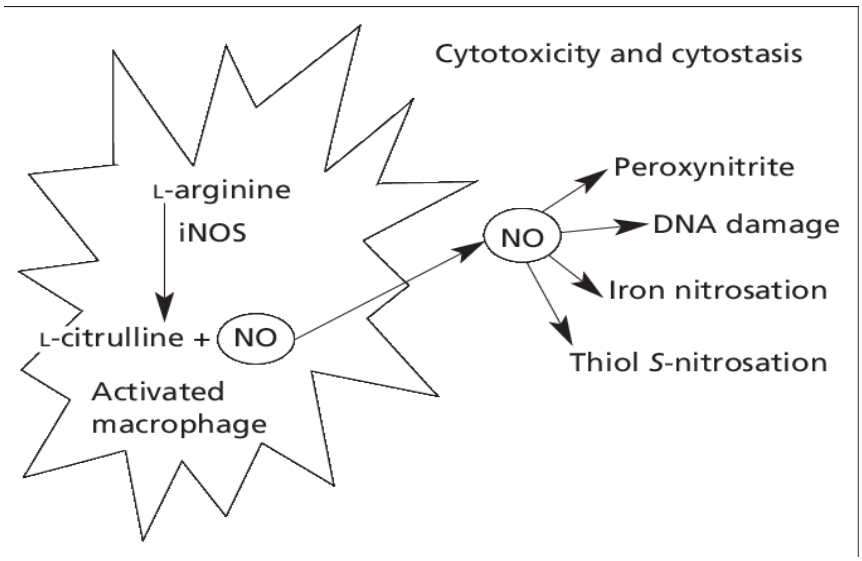
المصادر الخارجية	المصادر الداخلية
- الميتوكوندريا تنتج الميتوكوندريا 1-3 ٪ (ROS) أثناء توليد (ATP) باستخدام إمكانات غشاء الميتوكوندريا (**Ljubava *et al*.,2018** مثل جذري الأكسيد الفائق ($O_2^{\cdot-}$) أو بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). - يساهم المعقد I (NADH ubiquinone oxidoreductase) والمعقد III (ubiquinol - cytochrome c oxidoreductase) في تشكيل جذور فوق الأكسيد بسبب الاختزال غير الكامل **NADPH** -تتألف أكاسيد النيتروجين من سبعة أشكال، بما في ذلك (NOX_1) و (NOX_2) و (NOX_3) و (NOX_4) و (NOX_5) و ($DUOX_1$) و ($DUOX_2$) الموجودة في الأغشية الخلوية وتنتج بشكل أساسي جذر ($O_2^{\cdot-}$) . **(Lambeth *et al*.,2014)** **- البيروكسيسومات** تحفز هدم الأحماض الدهنية (FAs)، وتنتج (H_2O_2) من خلال الأكسيدازات مثل أسيل- CoA الدهني وأكسيداز الأحماض الأمينية D **Xanthine Oxidase** ينشئ (H_2O_2) كمنتج ثانوي خلال خطوتين أكسدة للتفاعل الأنزيمي، مما يشير إلى (XO) كمصدر محتمل لـ	**- الأشعة فوق البنفسجية** - تولد الأشعة فوق البنفسجية أنواع الأكسجين التفاعلية، بما في ذلك ($O2^{\cdot-}$)، الأكسجين المفرد ($^1O_2$)، ($OH^{\cdot}$) ، و (H_2O_2) ، من خلال آليات مختلفة تؤثر بشكل مباشر على المكونات الخلوية أو التحسس الضوئي **Kimeswenger *et al*.,2016)**. **- الإشعاع المؤين (IR)** -تحفز الأشعة تحت الحمراء على زيادة تركيز($NO^{\bullet}$)، وأيونات الكالسيوم مع تقليل نشاط (SOD) و (CAT) وتركيز الجلوتاثيون (GSH) (**Kang *et al*.,2016; Shaban *et al*.,2017**). **- المعادن الثقيلة أو الانتقالية** -تشارك المعادن النشطة الأكسدة والاختزال (Fe، Cu، Cr، Co) بشكل مباشر في تفاعلات الأكسدة والاختزال للخلايا وتشارك في تفاعلات (Haber-Weiss و Fenton) جنبًا إلى (H_2O_2) و($O_2^{\bullet-}$) مما يؤدي لإنتاج ($OH^{\bullet}$) **(Hossain *et al*.,2012)**. **- المبيديات** - تزيد المبيدات الحشرية من إنتاج (ROS) و (RNS) عن طريق تنشيط مستويات (NOX) و ($NO^{\bullet}$) و (Ca_{2+}) وتحرض عملية الأكسدة (**Ranjbar *et al*.,2002**). يعد السيتوكروم (P450) مصدرًا قويًا لأنواع الأكسجين التفاعلية التي يسببها مبيدات الآفات. - يتم استقلاب المبيدات الحشرية بواسطة إنزيم السيتوكروم (P450) ، مما يؤدي إلى إنتاج نواتج تفاعلية وزيادة إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية **(Delescluse *et al*.,2001; Abass *et al*.,2012)**. **-الكحول والتدخين** -يتسبب استهلاك الكحول الحاد والمزمن في زيادة نسبة الأكسجين التفاعلية، المرتبطة جزئيًا بالأسيتالديهيد المتكون كمنتج أثناء استقلاب الإيثانول. يغير الأسيتالديهيد توازن الكالسيوم ويزيد من إنتاج (ROS)، مما قد يسبب إجهاد الشبكة الأندروبلازمية **(Cui *et al*.,2019)**. -يرفع الكحول أيضًا مستويات الحديد في الجسم، مما يساهم في تفاعل فنتون وإنتاج الهيدروكسيد، ويقلل أيضًا من مستويات مضادات الأكسدة الداخلية، مما يؤدي إلى اختلال توازن أكثر أهمية مما يعزز الإجهاد التأكسدي (**Ana Karina *et al*.,2022**)

(ROS) **(Herb and Michael, 2021).** **-الشبكة الإندوبلازمية (ER)** تعتبر الشبكة الأندروبلازمية مصدر آخر مهم لـ (ROS) والتي تولد بشكل أساسي (H_2O_2) أثناء طي البروتينات. **(Malhotra *et al.*,2011; Bravo *et al.*,2011).**	- يحتوي دخان السجائر على مواد الجذور الحرة، بما في ذلك (H_2O_2) و ($^{\bullet}OH$) ، والتي يتم استنشاقها مباشرة في الجهاز التنفسي. يحفز الإنتاج المفرط لـ (ROS) **(Lakshmi *et al.*,2020).** **- ملوثات الهواء** يعمل (PM) على زيادة إنتاج (ROS)، مثل (H_2O_2)، ($^1O_2$)،($O_2^{\bullet -}$)،و ($^{\bullet}OH$)، عن طريق خفض إمكانات غشاء الميتوكوندريا وتغيير توازن الكالسيوم **(Mazuryk *et al.*,2020).**

5-1 الدور الفيزيولوجي للجذور الحرة

يعمل (ROS) كمرسل ثانٍ، ينظم العديد من العمليات الفسيولوجية الجزيئية الخلوية والنسيجية. يشارك في الدفاع المضاد للبكتيريا أثناء تفاعلات السمية الخلوية ضد العوامل المسببة للأمراض، والتدمير عن طريق موت الخلايا المبرمج للخلايا السرطانية، ونقل الإشارات الخلوية، وتنظيم الجينات بظاهرة تسمى التحكم في الأكسدة والاختزال في الجينات، وتعديل التمثيل الغذائي الخلوي عن طريق تفاعل مستقبلات الترابط، التطور الجنيني، النمو، الانتشار، التمايز، وبقاء الخلية **(Bensakhiria.,2015).**

أكسيد النيتريك (NO) هو جزيء إشارات يلعب دورًا رئيسيًا في التسبب في الالتهاب. يعطي تأثير مضاد للالتهابات في ظل الظروف الفزيولوجية العادية. من ناحية أخرى، يعتبر (NO) بمثابة وسيط مؤيد للالتهابات يسبب الالتهاب بسبب الإفراط في الإنتاج في المواقف غير الطبيعية. يتم تصنيع (NO) وإطلاقه في الخلايا البطانية بمساعدة (NOSs) التي تحول الأرجينين إلى إنتاج سيترولين (NO) في هذه العملية. الأكسجين و (NADPH) عوامل مساعدة ضرورية في مثل هذا التحويل **(Sharma et al.,2007) (شكل14).**



شكل 14 : التأثيرات الالتهابية لأكسيد النيتريك (NO) (Stechmiller et al.,2004).

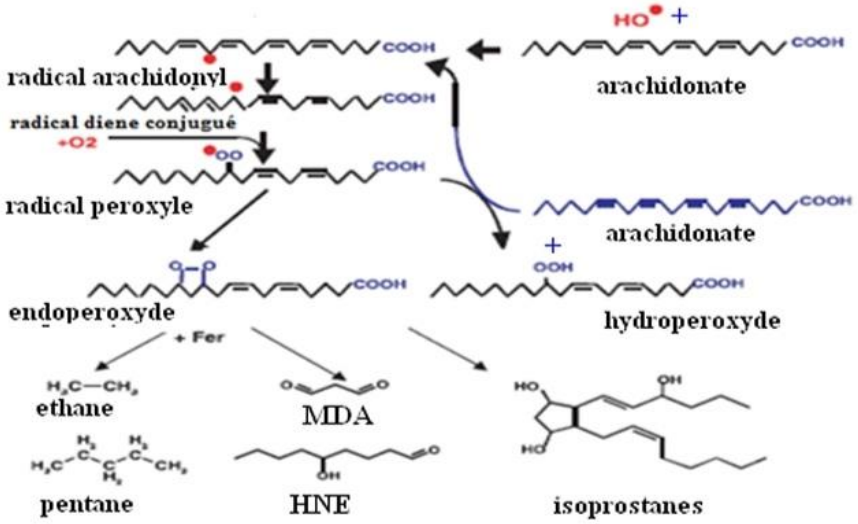
6-1 أضرار الإجهاد التأكسدي

1-6-1 أضرار أكسدة الحمض النووي

يسبب(•OH) ضررًا مباشرًا للأحماض النووية، فهو شديد التفاعل. يتفاعل (•OH) مع الحمض النووي عن طريق إضافة الروابط المزدوجة لقواعد (DNA) البيورين (الأدينين والجوانين) أو البيريميدين (السيتوزين والثايمين) ومن خلال استخلاص ذرة الهيدروجين من مجموعة الميثيل للثيامين وكل من روابط (CH) في السكر deoxyribose-2 يمكن أن تؤدي المنتجات المتولدة من هذه التفاعلات إلى إصابات متسلسلة ، أو ربط الحمض النووي بالبروتينات .كما أن (•OH) يؤكسد بشكل تفضيلي قاعدة الجوانين للحمض النووي ، مكونًا بشكل أساسي 8-هيدروكسي -20-ديوكسي جوانوزين هذا الأخير يؤثر على آليات مثل النسخ **(Cooke *et al*.,2003; Dizdaroglu *et al*.,2012; Chao *et al*.,2013)**.

2-6-1 ما فوق الأكسدة اللبيدية

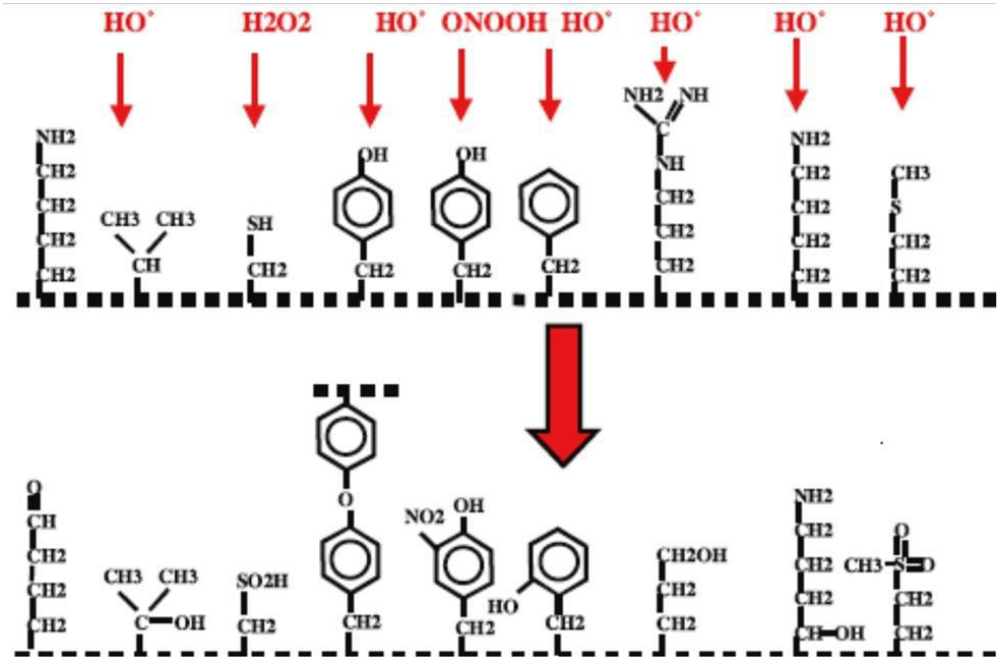
تعتبر الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة، الموجودة في الطبقة الدهنية الثنائية من أغشية الخلايا، الأكثر عرضة لهجوم الجذور الحرة مما يتسبب في تشكيل منتجات أكسدة الدهون. تشمل كل من (HNE-4) و (MDA) و (oxylipins) وisoprostanes وoxysterols **(Gianazza *et al*.,2020)**. ان (•OH) قادر على أخذ الهيدروجين من الكربون الموجود بين رابطتين مزدوجتين، لتكوين جذور مترافقة. يتأكسد الأخير إلى جذر بيروكسيل الذي يشكل تفاعلًا متسلسلًا، لأن ملامسته لحمض دهني آخر يشكل بيروكسيد وجذر مترافق جديد. يمكن تحويل الهيدروبيروكسيدات إلى ألدهيدات وألكانات حمضية (إيثان، إيثيلين، بنتان) بينما يمكن لجذر البيروكسيل ، بعد التطور إلى بيروكسيد دوري وانقسام الجزيء ، إطلاق العديد من الألدهيدات السامة بما في ذلك مالونالديالديهيد (MDA) أو هيدروكسينونينال (HNE) **(Ameni.,2016). (شكل15)**. هذه المنتجات شديدة التفاعل وتتفاعل مع الجزيئات الحيوية مثل الحمض النووي والبروتينات أو الدهون الأخرى، مما يؤدي إلى تأثيرات بيولوجية عديدة. **(Ana Karina *et al*.,2022)**.



شكل 15: آلية سلسلة بيروكسيد الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (Favier, 2003).

3-6-1 أكسدة البروتين

يمكن أن يعمل (ROS) بشكل مباشر أو غير مباشر على أكسدة سلسلة البولي ببتيد، وانقسام روابط الببتيد، وتفاعلات البروتين والبروتينات والتعديلات على السلسلة الجانبية للأحماض الأمينية (**Kelly and Mudway، 2003)(شكل16)**. يمكن لأنواع (ROS) إتلاف البروتينات بطريقة قابلة للعكس مثل أكسدة مجموعة سلفهيدريل (SH) من الميثيونين، أو بشكل لا رجعة فيه مثل تعديل المجموعات الأمينية من السلاسل الجانبية لأحماض أمينية معينة إلى مجموعات كربونيل **(Sanders and Greenamyre, 2013)**. قد تحدث تفاعلات مع البروتينات عن طريق استخراج ذرة الهيدروجين في المواضع المجاورة لمجموعات إلغاء تمركز الإلكترون مثل (–SH)، ومجموعات الهيدروكسي (في السيرين وثريونين) ، والكربوكسيل والأميد (في حمض الأسبارتيك ، وحمض الجلوتاميك، والأسبارجين ، والجلوتامين) ، ومجموعة غوانيدين في أرجينين ؛ و استخراج الإلكترون من المواقع الغنية بالإلكترون **(Hawkins *et al.*,2001;Hawkins *et al* 2019)**. يسبب الضرر التأكسدي للبروتينات تغيير مستويات التعبير و / أو تمنح فقدان السموم أو اكتساب الوظيفة. يمكن أن تؤثر أكسدة الإنزيمات والمستقبلات والأجسام المضادة على وظيفة الخلية؛ يمكن أن تؤثر البروتينات المؤكسدة على مسارات التنظيم والتمثيل الغذائي والنقل ونقل الإشارات التي يمكن أن تغير الوظائف الحاسمة في الخلية **(Sanders and Greenamyre, 2013)**.



شكل 16: أضرار الجذور الحرة على سلسلة البروتين الجانبية (Favier,2003)

7-1 الدور الباثولوجي للإجهاد التأكسدي

يلعب الإجهاد التأكسدي دورًا رئيسيًا في تطور الأمراض التي تصيب الإنسان. حيث تشارك أنواع الأكسجين التفاعلية في نمو الخلايا وتمايزها وتطورها وموتها **(Rajendran *et al.*, 2014)**.

يؤدي الإجهاد التأكسدي أثناء مرض السكري إلى تغيير الجزيئات البيولوجية الكبيرة مثل الأحماض النووية والبروتينات والبروتينات الدهنية. هذه الأخيرة حساسة بشكل خاص للأكسدة. يساهم النشاط المعدل لعوامل النسخ، واستقلاب NO المتغير وزيادة أكسدة البروتينات الدهنية (LDL، HDL) في مضاعفات الأوعية الدموية لمرض السكري. كما يُشتبه في أن الإجهاد التأكسدي مسؤول عن كل من انخفاض إفراز الأنسولين بواسطة خلايا بيتا في جزر لانجرهانز وانخفاض تأثير الأنسولين، مما يؤدي إلى تفاقم حالة مقاومة الأنسولين لمرض السكري من النوع 2. **(Delattre *et al*.,2001).**

كما تتدخل الجذور الحرة في تنشيط المواد المسببة للسرطان في المواد المسرطنة، مما يؤدي إلى ظهور آفات الحمض النووي، وتضخيم إشارات الانتشار، وتثبيط الجينات الكابتة للورم، مثل p53. **(Favier.,2006)**

أيضا، يسبب الإجهاد التأكسدي أمراض القلب والأوعية الدموية، حيث يعمل بشكل أساسي كمحفز لتصلب الشرايين، ونقص التروية، وارتفاع ضغط الدم، واعتلال عضلة القلب، وتضخم القلب، وفشل القلب الاحتقاني **(Pizzino *et al*.,2017)** .

كما تم ربط الإجهاد التأكسدي بالعديد من الأمراض العصبية، مثل مرض باركنسون، ومرض الزهايمر، والاكتئاب، وفقدان الذاكرة وذلك بسبب إتلاف الخلايا العصبية **(Pizzino *et al*.,2017).**

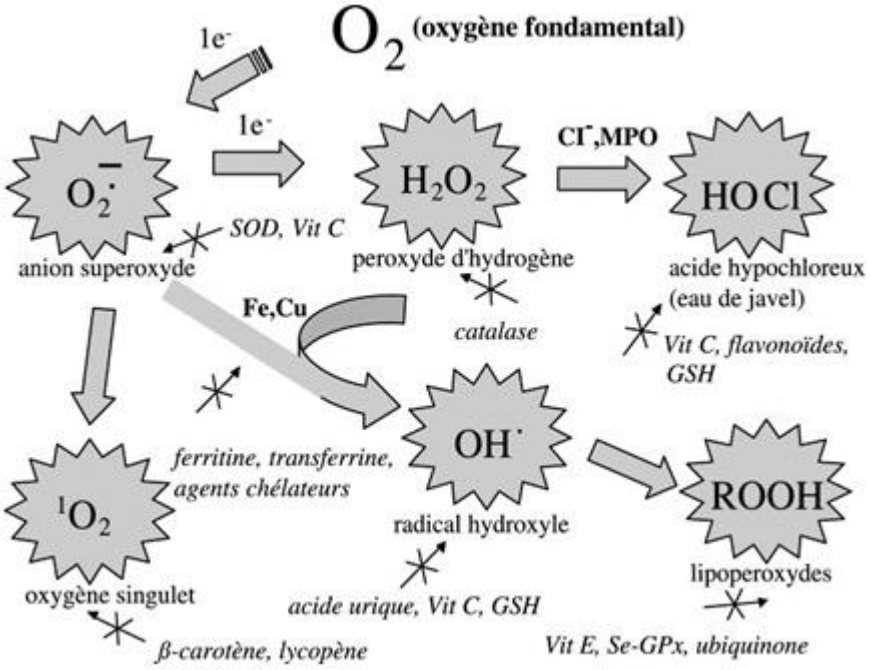
الفصل الثاني

مضادات الأكسدة

الفصل الثاني: مضادات الأكسدة

2-1 تعريف مضادات الأكسدة

تعرف مضادات الأكسدة بأنها جزيئات كابحة لعملية أكسدة الجذور للبروتينات، والدهون، والكربوهيدرات، والحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين **(Cadehas et Packer, 2002)**. يمكن تصنيف مضادات الأكسدة إلى أنظمة إنزيمية كإنزيم الكتلاز أو غير أنزيمية كفيتامين C **(Pincemail *et al.*, 2002)**.وذلك حسب أصلها وآلية عملها وموقعها الخلوي **(Delattre *et al.*,2005)** **(شكل 17)**.



شكل17: أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة الإنزيمية واللإنزيمية (Pincemail *et al.*, 2002)

2-2 مضادات الأكسدة الإنزيمية

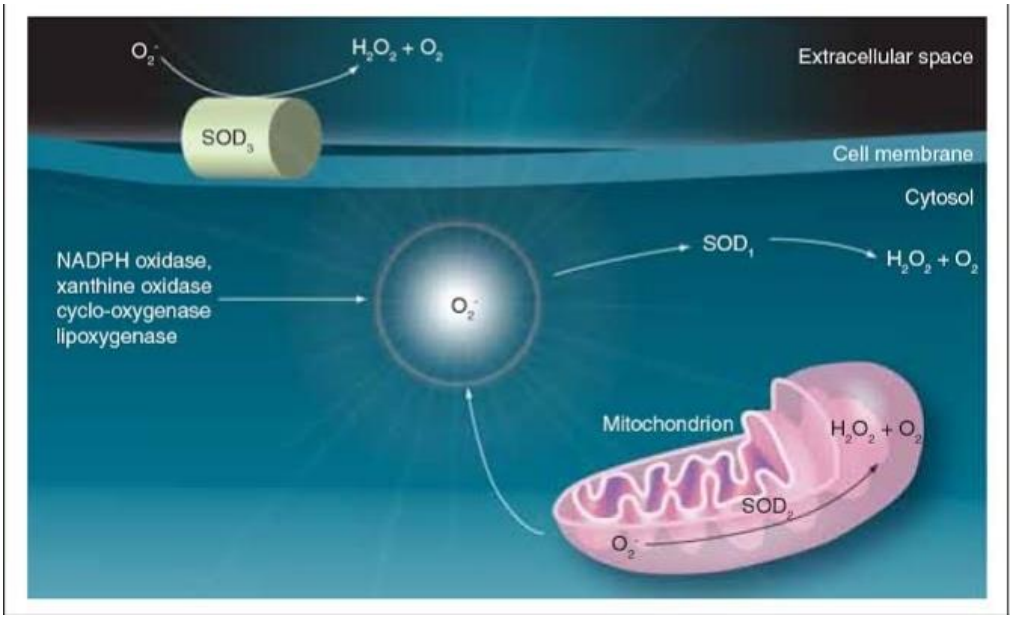
2-2-1 انزيم ديسموتاز الفائق

يعتبر إنزيم ديسموتاز الفائق أهم إنزيم في الدفاع ضد الإجهاد التأكسدي **(Buldak *et al.*,2014)** . وهو بروتين معدني له نشاط إنزيمي **(Puther *et al.*, 2016)**. يحفز تفكيك جذور الأنيون الفائق ($O_2^{-\bullet}$) إلى بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). **(Pham-Huy, 2008)**.

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

توجد ثلاثة أشكال إسوية منSOD لدى الثدييات وهي (SOD1, SOD2, SOD3)، وكلها تتطلب معدن انتقالي نشط للأكسدة والاختزال. يتطلب نشاط (SOD1) كل من النحاس والزنك كعامل مساعد، ويقع بشكل أساسي في العصارة

الخلوية والفراغ ما بين الغشائين للميتوكوندريا. يستخدم نشاط (SOD2) المنغنيز كعامل مساعد ويقع في مصفوفة الميتوكوندريا. بينما يتطلب نشاط (SOD3) كل من النحاس والزنك كعوامل مساعدة (**Powers and Jackson, 2008**) **(شكل 18)** .



شكل 18: التوزيع الخلوي لأنواع انزيم SOD (Lomri, 2008)

2-2-2 إنزيم الكتالاز

يتكون إنزيم الكتالاز من أربع تحت وحدات **(MatÉs *et al.*,1999)**. يحتوي على الهيم متواجد في البيروكسيمات **(Hasanuzzaman *et al.*, 2020)**، إذ يحفز على تفكيك جزيئتين من H_2O_2 في الماء والأكسجين (**Sharma *et al.*, 2012**) وذلك باستخدام عامل مساعد إما الحديد أو المنغنيز **(Ashok *et al.*, 2022)**.

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

2-2-3 إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز(GPx)

الجلوتاثيون بيروكسيداز هو إنزيم مكون من 4 وحدات فرعية تحتوي كل منها على ذرة سيلينيوم (**Youdim K., *et al.*, 2002**). إذ ينتشر بمصفوفة الميتوكوندريا، وبكمية قليلة بالسيتوبلازم **(Ashok *et al.*, 2022)**. يعمل على تفكيك H_2O_2 وذلك لأكسدة الجلوتاثيون المختزل (GSH) إلى الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) **(Pham-Huy, 2008)**. يتمثل الدور الرئيسي لإنزيم الجلوتاثيون بيروكسيداز في التخلص من بيروكسيدات الدهون الناتجة عن تأثير الإجهاد التأكسدي على الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة **(Haleng *et al.*, 2007)**.

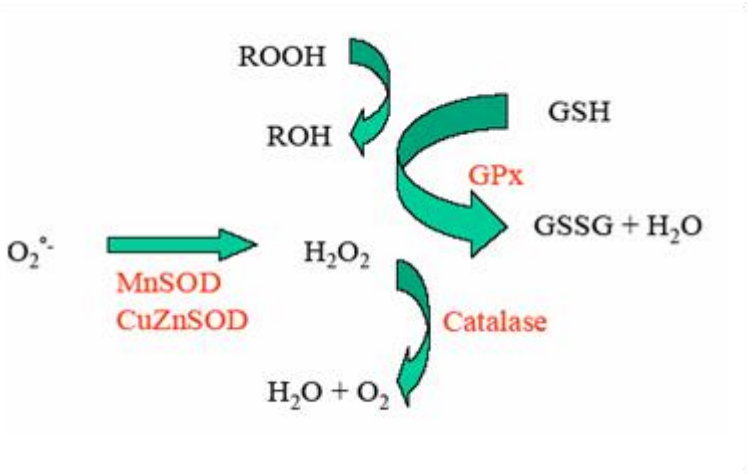
$$H_2O_2 + GSH \xrightarrow{\textbf{GPx}} H_2O + GSSG$$

2-2-4 الجلوتاثيون المختزل

الجلوتاثيون المختزل **(GR)**، وهو إنزيم فلافوبروتين، يجدد (GSH) من (GSSG) مع (NADPH) كمانح للإلكترون لتقليل الطاقة **(Pham-Huy, 2008)** لذلك فهو ضروري للحفاظ على نشاط (GPx) **(William, 2013).**

$$GSSG\ NAD(P)H \xrightarrow{GR} GSH\ NAD(P)$$

تتضامن الإنزيمات المضادة للأكسدة فيما بينها، وهذا لأجل تعديل مستوى الجذور الحرة الداخل خلوية **(شكل19)**.



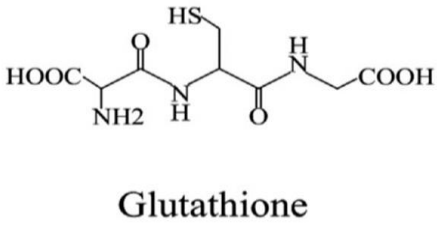
شكل 19: تضامن الإنزيمات المضادة للأكسدة (Olivier.,2004)

2-3 مضادات الأكسدة غير الانزيمية

2-3-1 الأنظمة الداخلية

2-3-1-1 الجلوتاثيون المرجع

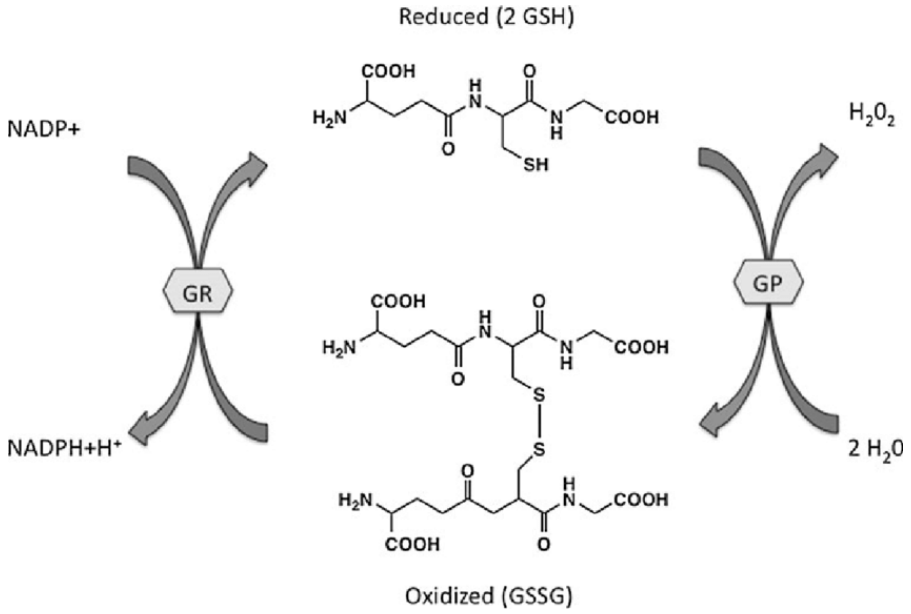
يعتبر الجلوتاثيون المرجع (GSH) ثلاثي الببتيد يتكون من ثلاثة أحماض آمينية الجليسين، والسيستين الجلوتاميك γ-Glu-(Gly-Cys) **(شكل 20)** ،وهو أكثر مضادات الأكسدة الذاتية القابلة للذوبان في الماء **(Ashok *et al.*, 2022).**



Glutathione

شكل20: بنية الجلوتاثيون (Pisoschi *et al.*,2015)

يحتوي الجلوتاثيون على الثيول (thiols)، وهو عامل اختزال قوي اذ يفكك أنواع الأكسجين التفاعلية والجذور الحرة التي تتشكل باستمرار في عملية التمثيل الغذائي يتم تحويل (GSH) داخل الخلايا إلى (GSSG) عن طريق السيلينيوم الذي يحتوي على بيروكسيداز (GSH) ، والذي يحفز تقليل H_2O_2 في وجود (GSH) ويقترن (GSH) بيروكسيداز بأكسدة الجلوكوز -6-فوسفات و 6- فوسفو جلوكونات، مما يوفر (NADPH) لتقليل (GSSG) بواسطة اختزال (GSSG) ،يضمن الجلوتاثيون حماية دهون الأغشية من الأكسدة **(Rahman *et al*.,2012) (شكل 21).** كما يحافظ (GSH) على الأكسدة والاختزال لبروتين sulphydryl الضروري لإصلاح الحمض النووي والتعبير الجيني وذلك ضمن النواة **(Valko *et al*.,2007).**

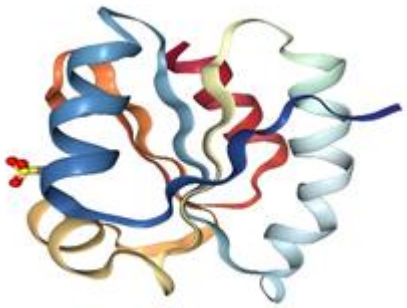


الشكل 21: عملية أكسدة واختزال الجلوتاثيون (Xiong *et al*.,2011)

2-1-3-2 - نظام Thioredoxin الثنائي

Trx Thioredoxinوهو بروتين ثنائي كبريتيد منخفض الوزن الجزيئي **(Balsera *et al*.,2019)**. يحافظ نظام Trx/ TrxR على حالة الأكسدة والاختزال لبروتينات الركيزة داخل الخلايا **(Zhang *et al*.,2020).** يضمن thioredoxin الحفاظ على الصورة المرجعة، ويتم تجديده بواسطة NADPH وذلك بتدخل انزيم thioredoxin reductase (TrxR) الذي يحتوي على مجموعة selenocysteine بموقعه النشط **(Haleng *et al*., 2007).** يشارك في تحلل بيروكسيدات الدهون، وكذلك في تجديد جذور الأسكوربيل إلى حمض الأسكوربيك **(Zhang *et al*.,2020; Haleng *et al*.,2007) (شكل 22).**

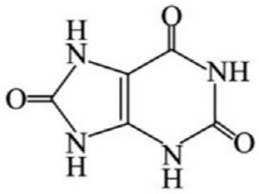
.



شكل 22 :بنية الثيورودوكسين (Sridhar *et al*.,2014)

2-3-1-3 حمض اليوريك

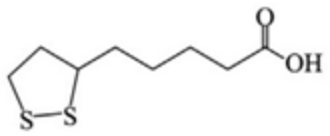
يعتبر حمض اليوريك أحد مضادات الأكسدة المحبة للماء، يتم إنتاجه أثناء عملية التمثيل الغذائي للنيوكليوتيدات البيورينية **(Ashok *et al*., 2022)**. يساهم حمض اليوريك بنسبة 60٪ من إجمالي نشاط مضادات الأكسدة بالبلازما **(Johnson *et al*., 2009)**، و يتفاعل مع العديد من الأنواع التفاعلية المؤكسدة القوية مثل •ROO، و •HO ،و -ONOO ،و •NO_2 ،والأكسجين المفرد **(Halliwell et Gutteridge, 2008) (شكل 23).**



شكل23 : بنية حمض اليوريك (Pisoschi *et al*.,2015)

2-3-1-4- حمض α- ليبويك

يحتوي حمض α- ليبويك على الكبريت والذي يحفز على نزع الكربوكسيل المؤكسد لأحماض ألفا كيتو، مثل البيروفات (pyruvate)، وألفا كيتوجلوتارات (α-cétoglutarate) كمضاد أكسدة. يمكن لحمض الليبويك المؤكسد ونظيره المختزل، حمض ثنائي هيدروليبويك (DHLA) كبح الجذور الحرة ضمن البيئات الدهنية والمائية **(Ashok *et al*., 2022). (شكل24)**

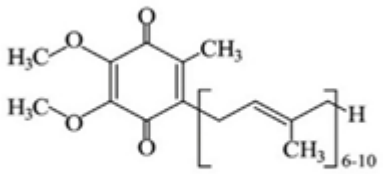


Alpha Lipoic Acid

شكل 24: بنية حمض α- ليبويك (Pisoschi *et al*.,2015).

5-1-3-2 -الإنزيم المساعد Q10

يعتبر الإنزيم المساعد Q10 أحد مضادات الأكسدة المحبة للدهون، بأغشية جميع الأنسجة البشرية تقريبًا إذ يمنع هذا الإنزيم تشكل بيروكسيد الدهون عن طريق تثبيط التكوين الأولي وانتشار جذور البيروكسي الدهني، وهو ضروري لسلسلة النقل التنفسي حيث ينقل الإلكترونات على مستوى المركب I والمركب II إلى المركب III كما أنه قادر أيضًا على إعادة تدوير وتجديد مضادات الأكسدة الأخرى مثل فيتامين C وفيتامين E **(Conti *et al*.,2016) (شكل 25).**



Coenzyme Q

شكل 25: بنية الايبيكينول (Pisoschi *et al*.,2015)

6-1-3-2 البيليروبين

يعتبر البيليروبين أحد منتجات هدم الهيم، ينتج من تحلل خلايا الدم الحمراء. يقبل البيليروبين الذوبان في الدهون. ويتميز بخصائص مضادة للأكسدة حيث يعمل على كبح الأكسجين الفردي، ويكسر تفاعلات الجذور الحرة (**Creeden *et al*.,2020).** يحتجز البيليروبين جذور البيروكسيل وجذر الهيدروكسيل، وبالتالي يحمي الألبومين **(Algeciras-Schimnich *et al*.,2007) (شكل 26).**

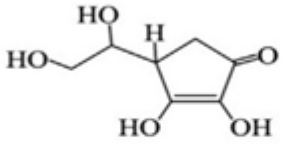
شكل 26: بنية البيليروبين (Pisoschi *et al.*,2015)

2-3-2- مضادات الأكسدة ذات المصدر الخارجي

2-3-2-1 الفيتامينات القابلة للذوبان في الماء

حمض الأسكوربيك (vit C)

يشتهر حمض الأسكوربيك أو فيتامين **C** القابل للذوبان في الماء بكونه أحد مضادات الأكسدة القوية ضد الجذور الحرة. حيث يكسح جذر الأكسيد الفائق (O^{-})، وجذر الهيدروكسيل (HO •)، وجذرالألكوكسيل (RO •)، وجذرالبيروكسيل (ROO •) والجذور الأخرى عن طريق الاختزال غير الأنزيمي. ويقلل حمض الأسكوربيك أيضًا من جذور توكوفيروكسيل (TO •) التي تتكون عندما يقلل توكوفيرول (فيتامين E) من الجذور الحرة في البيئات الدهنية (**Njusa *et al.*,2020**) (شكل 27).



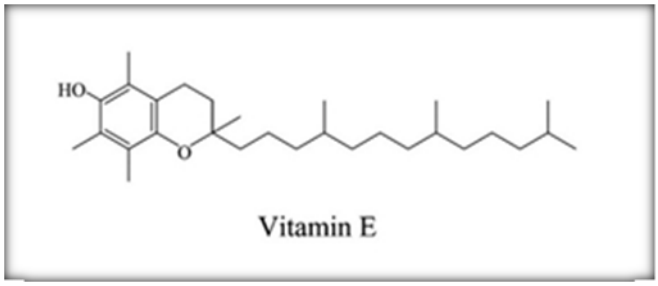
شكل 27: بنية فيتامين C (Pisoschi *et al.*,2015)

2-3-2-2 الفيتامينات القابلة للذوبان في الدهون

فيتامين E (ألفا-توكوفيرول) (vit E)

تحتوي عائلة فيتامين E على ثمانية أيزومرات، منها أربعة توكوفيرول (α- و β- و γ- و δ-tocopherol) وأربعة توكوترينول (α- ،و β-، و γ- ،و-δ tocotrienol). يعكس عدد وموقع مجموعات الميثيل على حلقات الكرومانول الأشكال الأيزومرية المختلفة للتوكوفيرول والتوكوترينول (**Taiki *et al.*,2019**). ويعتبر(α-tocopherol) الصورة الأكثر نشاطًا لدى الانسان (**Pham-Huy, 2008**). ينتشر فيتامين E داخل الجسم، على مستوى أغشية الخلايا

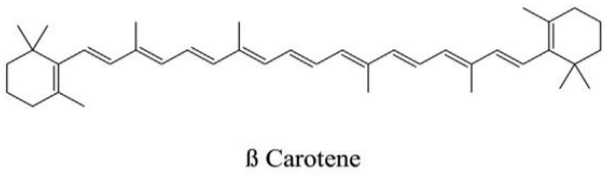
والبروتينات الدهنية وهو قابل للذوبان في الدهون **(Taiki *et al*.,2019)**. يحمي فيتامين E الأغشية من الأكسدة عن طريق التفاعل مع الجذور الدهنية المنتجة في التفاعل المتسلسل لبيروكسيد الدهون **(Kumar *et al*., 2010)**. يؤدي فيتامين E إلى موت الخلايا المبرمج للخلايا السرطانية ويمنع تكوين الجذور الحرة**(Birben *et al*., 2012) (شكل 28)**.



شكل 28: بنية فيتامين E (Pisoschi *et al*.,2015)

فيتامين A (كاروتين بيتا)

الكاروتينات هي أصباغ موجودة بشكل طبيعي في النباتات والفطريات والطحالب والبكتيريا. يوجد أكثر من 650 نوعًا في الطبيعة **(Eggersdorfer *et al*.,2018)**. وهي جزيئات محبة للدهون بدرجة عالية تتواجد داخل الخلايا لحماية الغشاء من الإجهاد التأكسدي **(Fiedor and Burda, 2014)**. تتضمن الكاروتينات روابط مزدوجة مقترنة وينشأ نشاطها المضاد للأكسدة بسبب قدرتها على إلغاء تحديد موقع الإلكترونات غير المزدوجة مما يسمح لها بإيقاف الأكسجين المفرد والتفاعل مع الجذور الحرة **(Rahman ,2007)**. كما تثبط أكسدة الدهون وتمنع موت الخلايا المبرمج عن طريق منع الإجهاد التأكسدي. **(Ashok *et al*., 2022)** **(شكل 29)**.



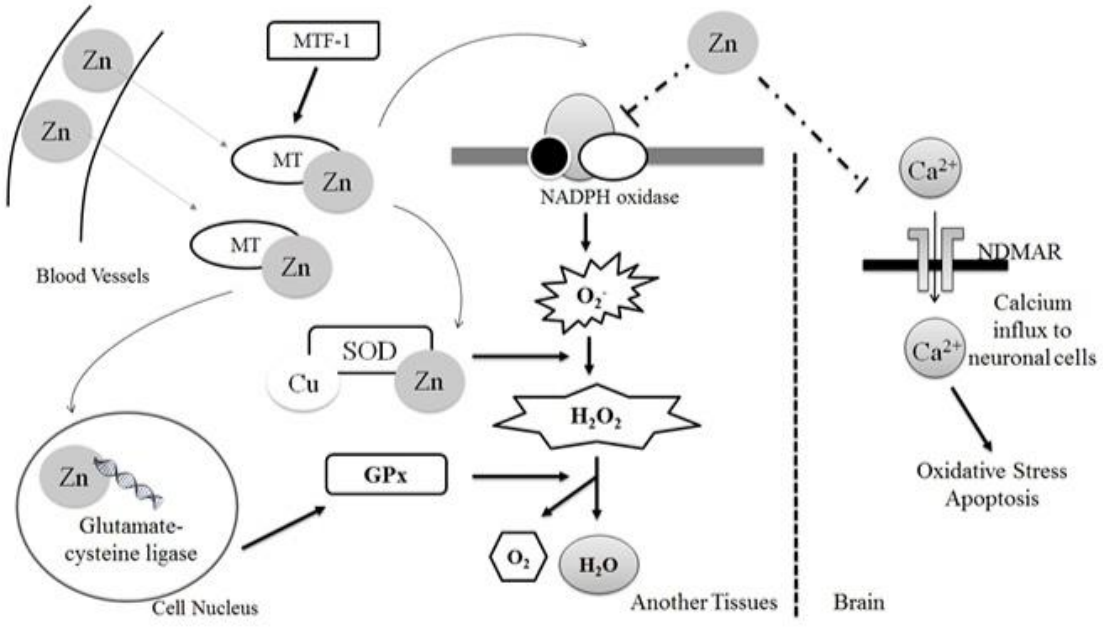
شكل 29 : بنية كاروتين بيتا. (Pisoschi *et al*.,2015)

2-3-3 المعادن النادرة

الزنك

يعمل الزنك كمضاد للأكسدة في الجسم عن طريق تنظيم استقلاب الجلوتاثيون **(Stelmach *et al*.,2014)**، وتثبيط إنزيم نيكوتيناميد أدينين ثنائي نوكليوتيد الفوسفات أوكسيديز (NADPH-oxidase) **(Marreiro *et al*.,2017)** ، وتعديل

التعبير الجيني للميتالوثيونين، كما يشكل عامل مساعد لإنزيم ديسموتاز الفائق، وكذا الإنزيمات مثل الريتينول ديهيدروجينيز(retinol dehydrogenase)، الضروري لدورة فيتامين A **(Bee *et al.*,2018) (شكل 30).**



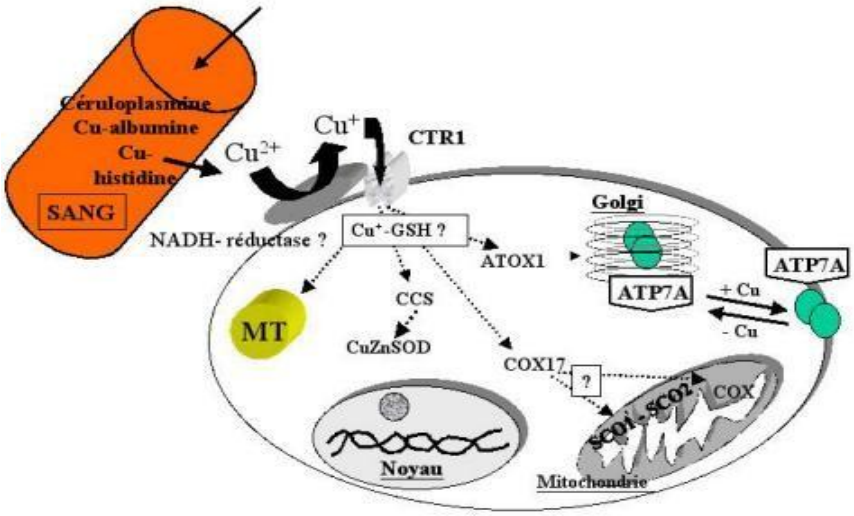
شكل 30 : آلية عمل الزنك في النشاط المضاد للأكسدة (Marreiro *et al.*,2017).

السيلينيوم

يصنف السيلينيوم من العناصر النادرة، يشارك في نظام الدفاع المعقد ضد الإجهاد التأكسدي فهو ضروري لتخليق الجلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) ويشكل الموقع النشط لهذا الانزيم وأيضا لبقية البروتينات الضامة للسلنيوم الأخرى (**Jenkins *et al.*,2020; Siddiqui *et al.*,2014).** يعمل أيضا كمركز الأكسدة والاختزال، على سبيل المثال عندما يقلل السيلينوزيم، اختزال الثيوردوكسين **(Allan *et al.*,1999).**

النحاس

يعتبر النحاس أحد العوامل المساعدة الأساسية لإنزيم ديسموتاز الفائق (Cu / Zn-SOD) المضاد للأكسدة نظرًا لسهولة انتقاله من الحالة المختزلة إلى الحالة المؤكسدة **(Dusek *et al.*, 2015) (شكل31).**

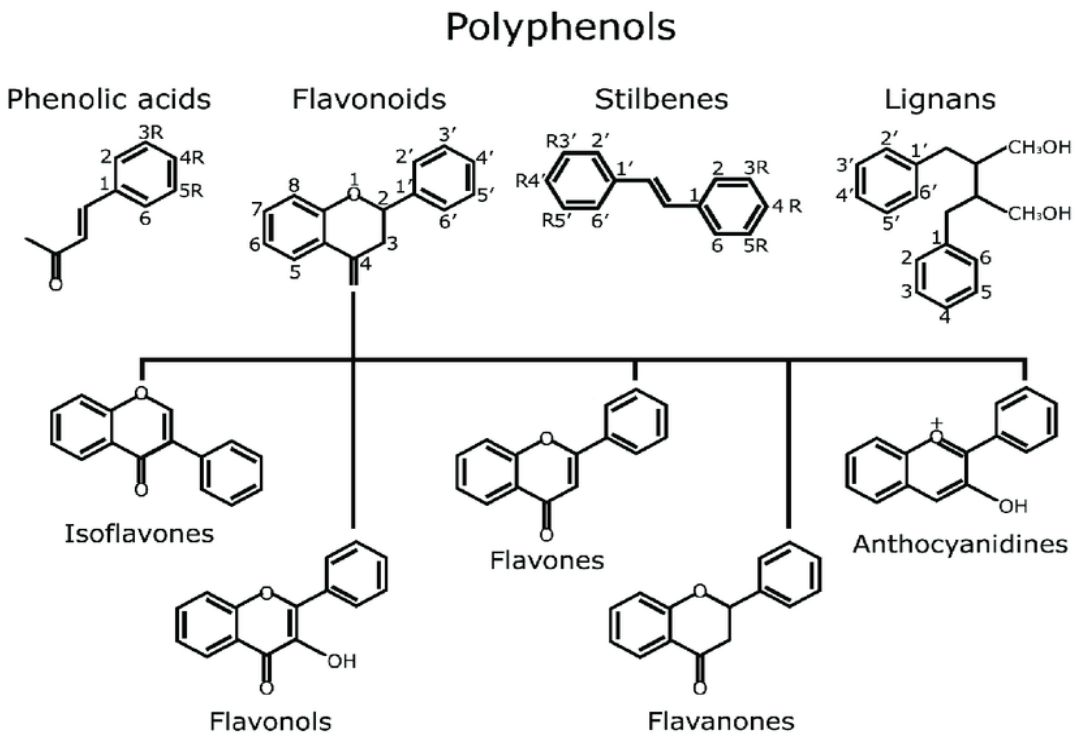


شكل31: استقلاب النحاس في الخلية بشكل عام (Cherrak.,2017)

4-3-2 الفينولات

متعدد الفينول

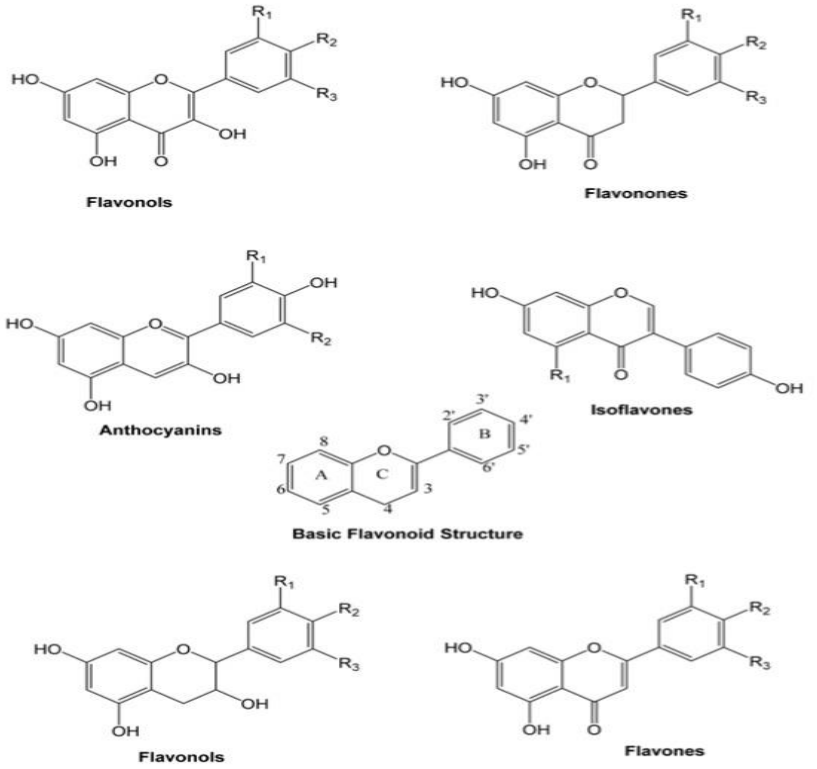
تتوزع المركبات الفينولية على نطاق واسع بين أنسجة النبات، والفواكه والبذور، والأوراق، والسيقان، والجذور. تحتوي هذه المركبات على حلقات عطرية مع مجموعات هيدروكسيل في بنيتها ويتم تصنيعها وفق مسارات فوسفات البنتوز والشيكيمات (shikimate) والفينيل بروبانويد **(Farias *et al*.,2020)**. تتواجد المركبات الفينولية في أشكال حرة أو مترافقة مع السكريات، والأحماض. يمكن تقسيمها إلى مركبات الفلافونويد والفينول والبوليفينول **(De Araújo *et al*., 2020)**. تعمل مركبات البوليفينول كمضادات للأكسدة لتعطيل الجذور الحرة بآليتين إما نقل ذرة الهيدروجين أو إلكترون واحدة. تثبيط الأكسجين التفاعلي وأنواع النيتروجين، وتنشيط الإنزيمات المضادة للأكسدة **(Kamlesh *et al*.,2022 ;De Araújo *et al*., 2020)**. كما تمنع أكسدة البروتينات **(Ashok *et al*., 2022)** **(شكل 32)**.



شكل 32 : هيكل وتصنيف البوليفينول (Losada-Echeberría *et al.*, 2017).

الفلافونويد

تحتوي الفلافونيدات على ذرات C15 التي تشكل حلقتين عطريتين مرتبطتين من خلال حلقة غير متجانسة. تشترك جميع مركبات الفلافونويد في الهيكل الأساسي C6-C3-C6 ، ويتكون من حلقتين عطريتين C6 (A و B) ، وحلقة غير متجانسة (C) تحتوي على ذرة أكسجين واحدة . يمكن تقسيم الفلافونيدات إلى ستة فئات فرعية: الفلافونول (flavonols) ، والفلافون (flavones)، والفلافانون (flavanones)، والإيسوفلافون (isoflavone)، والأنثوسيانيدين (anthocyanidin)، والشالكون (chalcones) **(Saxena *et al*, 2012)**. **(شكل33).**

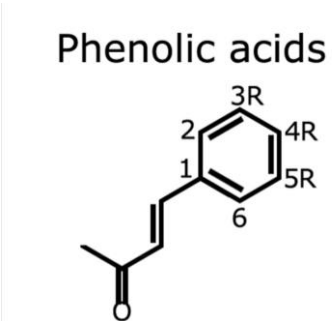


شكل 33: الهيكل العام للمجموعات الرئيسية من مركبات الفلافونويد(Rahman *et al*.,2021).

تتميز الفلافونيدات بخصائص مضادة للأكسدة من قبل مجموعات الهيدروكسيل الفينولية المرتبطة بهياكل الحلقة ويمكن أن تعمل كعوامل مرجعة ، ومعطية للهيدروجين، ومخمدات أكسجين مفردة، وكاسحات جذرية للأكسيد الفائق وحتى كمخلبات معدنية. كما أنها تنشط الإنزيمات المضادة للأكسدة، وتقلل من جذور α-tocopherol(tocopheroxyls) ، وتقلل من الإجهاد النتري، وتزيد من مستويات حمض اليوريك **(Carocho et Ferreira, 2013).**

الأحماض الفينولية

تتكون أحامض الفينول من أحماض هيدروكسي سيناميك وهيدروكسي بنزويك. حيث تتميز المركبات المشتقة من حمض الهيدروكسي بنزويك بمجموعة كربوكسيلية واحدة (COOH) وتعتبرأحماض بيتا هيدروكسي بينزويك وغاليك وبروتوكاتيكويك وفانيليك المشتقات الأكثر شيوعًا هي **(شكل 34).**



شكل34 : بنية حمض الفينوليك (Losada-Echeberría *et al*., 2017)

بينما تتميز المركبات المشتقة من حمض الهيدروكسي سيناميك بهيكل كربوني ($C_6H_5CHCHCOOH$) مع جزيء هيدروجين واحد على الأقل، يمكن استبداله بمجموعة هيدروكسيل. ويتم تمثيلهم بشكل أساسي بأحماض بيتا هيدروكسي سيناميك وبيتا كوماريك والكافيك والفيروليك. تملك الأحماض الفينولية نشاطا مضادا للأكسدة كممخلبات ومزيلات الجذور الحرة مع تأثير خاص على جذور الهيدروكسيل والبيروكسيل وأنيونات الأكسيد الفائق والبيروكسينيتريت **(Carocho *et al*.,2013;De Araújo *et al*., 2020).**

آلية عمل مضادات الأكسدة

تتبرع مضادات الأكسدة الأولية بإلكترون للجذور الحرة الموجودة في الأنظمة.

كما لهاالقدرة على إزالة مسببات أنواع الأكسجين التفاعلية / أنواع النيتروجين التفاعلية (مضادات الأكسدة الثانوية) عن طريق إخماد محفز بدء السلسلة وتنظيم التعبير الجيني **(Lobo V *et al*.,2010).**

والتقليل من توافر المؤكسدات مثل المعادن الانتقالية؛ **(Halliwell and Gutteridge, 1999) (4)** حماية أنظمة الدفاع المضادة للأكسدة **(Halliwel,1994).**

الفصل الثالث

العسل

1-3 تعريف العسل

العسل شراب حلو ولزج ينتجه نحل العسل (*Apis mellifera*) **(Olas.,2020) (شكل 35)**. من رحيق الأزهار أو من إفراز أجزاء حية من النباتات أو من إفرازات تتركها الحشرات الماصة على الجزء الحي من النباتات، والتي يجمعها، ويحولها عن طريق دمجها مع **(Prodollietet *et al*., 1922)** إفرازاته اللعابية **(Belhaj *et al*., 2015)** بحيث يخزن في أمشاط الخلية لينضج **(Prodollietet *et al*., 1922)**. يرتبط تكوين العسل بأصله النباتي والجغرافي حيث يمكن أن يخضع للعديد من التغيرات حسب فترة وظروف تخزينه **(Bobiset., 2020)**.

شكل 35: نحل (*Apis mellifera*) (Mallick.,2013).

2-3 أنواع العسل

1-2-3 عسل الرحيق

1-1-2-3 الرحيق

عبارة عن إفراز سكري لزج إلى حد ما يتم إنتاجه بواسطة غدد الرحيق **(Bonté *et* Desmolière.,2013)** أي الهياكل الإفرازية التي يمكن العثور عليها في أجزاء مختلفة من الزهرة. تختلف بشكل كبير من حيث التركيب التشريحي، وآليات إفراز الرحيق **(Anton *et al*., 2017)**. يتم الحصول على عسل الرحيق في أغلبية الأحيان من رحيق الزهور **(Alvarez-Suarez *et al*., 2014)**، حيث يكون شفاف، ويتصلب بمرور الوقت حسب أصله النباتي، ودرجة حرارته. وعليه يمكن تمييز فئتين من العسل **(Suescúnet Vit.,2008)**.

2-1-2-3 عسل أحادي الأزهار

يصنع العسل أحادي الأزهار من رحيق و/ أو من نوع نباتي واحد **(Bonté *et* Desmolière.,2013)**، أو سائد حيث يعتبر العسل أحادي الزهرة إذا كان من نفس الصنف بنسبة 80% **(Koechler.,2015)**.

3-1-2-3 عسل متعدد الأزهار

يصنع العسل متعدد الأزهار من رحيق العديد من الأنواع النباتية دون غلبة خاصة، له أذواق، وروائح، وألوان تتغير حسب طبيعة المنشأ والزهور. يتفاوت لونه من الأصفر الشاحب إلى البني الغامق جدا **(Koechler.,2015)**.

3-2-2 عسل المن

ينتجه النحل عن طريق جمعه للمن إفرازات من الحشرات المنتمية إلى جنس (Rhynchota)، التي تعمل على اختراق الخلايا النباتية وابتلاع عصارة النبات، ثم تقوم بإفرازها مرة أخرى **(Alvarez-Suarez *et al*., 2014)**. غالبا ما يكون له لون أغمق، ونكهة مكثفة، ونشاط بيولوجي مقارنة بعسل الرحيق **(Azevedo *et al*,2021)**.

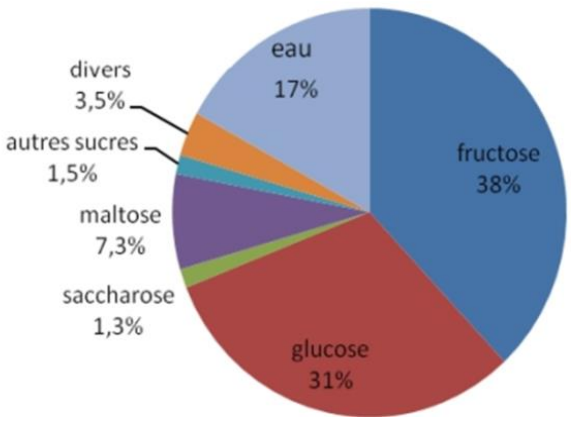
يختلف تركيب عسل المن عن عسل الرحيق حيث يحتوي عسل المن على نسبة أقل من الجلوكوز، والفركتوز، ومستويات أعلى من المعادن، ودرجة الحموضة، والموصلية الكهربائية، والبروتينات، والمركبات الفينولية مقارنة بعسل الرحيق **(Azevedo *et al*.,2021) (جدول 4)**.

جدول 4: الاختلافات الرئيسية بين عسل المن وعسل الرحيق (Rossant., 2011)

العامل/المكون	عسل الرحيق	عسل المن
درجة الحموضة	3,9%	4,5%
المعادن	0,26%	0,58%
الفركتوز + الجلوكوز	74%	61,6%
Mélézitose	0,2%	8,6%
Raffinose	0,03%	0,84%
Maltose +isomaltose	7,8%	9,6%

3-3 مكونات العسل

يحتوي العسل على مجموعة متنوعة من المكونات ما يقارب 180 مركبا، مثل: السكريات، والبروتينات، والأحماض الأمينية الحرة، والمعادن الأساسية، والفيتامينات، ومجموعة واسعة من المواد الكيميائية البوليفينولية (**Alvarez-Suarez *et al*.,2013**). تعتمد هذه المكونات بشكل أساسي على عوامل مختلفة: نوع النحل، مصدر الأزهار، العوامل البيئية والمعالجة. إن تنوع نسبة هذه المركبات يؤدي إلى اختلاف في اللون، والذوق، واللزوجة، والأنشطة العلاجية للعسل (**Abdah *et al*.,2021**) **(شكل 36)**.



شكل36: متوسط مكونات العسل (Rossant.,2011).

3-3-1 البروتينات والأحماض الأمينية

تعتبر حبوب اللقاح المصدر الرئيسي لبروتين العسل **(Da Silva *et al*.,2015)**. حيث يختلف محتوى البروتين في العسل باختلاف أنواع نحل العسل، يحتوي عسل (Apis cerana) على ما بين (0.1 إلى 3.3%) من البروتينات، بينما يحتوي عسل (Apis mellifera) على ما بين (0.2 إلى 1.6%) **(Won *et al*, 2009)**. ويحتوي العسل تقريبا على جميع الأحماض الأمينية المهمة من الناحية الفيسيولوجية **(Bogdanov.,2011)** وهي 26 حمضا أمينيا **(Atif *et al*, 2018)**. حيث يقدر محتوى الأحماض الأمينية والبروتينات بنسب ضئيلة 0.7 %. ويعتبر البرولين الحمض الأميني الرئيسي **(Bogdanov.,2011)**. حيث يشكل (50-85%) من مجموع الأحماض الأمينية **(Atif *et al*.,2018)**، ويدل على نضج العسل **(Bogdanov.,2011)**.

كما نميز أحماض أمينية أخرى منها الجلوتاميك، وحمض الأسبارتيك، جلوتامين، هيستيدين، وجلايسين، ثريونين، بيتا ألانين، والأرجنين، ألفا ألانين، حمض بيتا أمينوبوتيريك، برولين، تيروسين، فالين، ميثيونين، وسيستين، وايزولوسين، ليسين،تريبتوفان، فينيل ألانين، أورنيثين، ليسين، سيرين، أسباراجين، وألانين **(Da Silva *et al*.,2015)**.

3-3-2 الأحماض العضوية

تتراوح نسبة الأحماض العضوية ما بين (0,5 و0,6%) **(Bobiset., 2020)**. إذ تشتق من السكريات بواسطة الإنزيمات المفرزة من قبل نحل العسل عند تحويل الرحيق أو عند الحصول علية مباشرة من الرحيق **(Cherchi *et al*,1994)**.

3-3-3 الإنزيمات

يحتوي العسل على إنزيمات مصدرها الإفرازات اللعابية للنحل **(Belhaj *et al*., 2015)** أو حبوب اللقاح أو الرحيق أو حتى الخمائر أو الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في العسل **(Alvarez Suarez *et al*., 2013)**. مثل دياستاز أو الأميلاز**(Belhaj *et al*., 2015)**، الذي تتمثل وظيفته في تحطيم الروابط الكيميائية في النشاء **(Abdah *et al*.,2021)** فيتفكك إلى دكسترين ثم إلى مالتوز **(Belhaj *et al*., 2015)**. بحيث يستخدم كمؤشر على جودة العسل، وعليه فإن العسل عالي الجودة يحتوي على كميات كبيرة من الدياستار **(Afrin *et al*., 2019)**. كذلك الجلوكوز أوكسيداز هو أحد إنزيمات إستقلاب الكربوهيدرات، يقوم بتفكيك الجلوكوز إلى حمض الجلوكونيك وبيروكسيداز الهيدروجين **(Kwakman *et* .(Zaat, 2012**

Glucose → peroxyde d'hydrogène + D-Glucono-δ-lactone

والكتالاز يدعم تكوين الأكسجين والماء من بيروكسيد الهيدروجين **(Nguyen *et al*., 2019)**. والإنفيرتاز الذي يسبب تقسييم السكروز إلى سكر الفواكه والجلوكوز **(Belhaj *et al*., 2015)**. كما تشمل إنزيمات العسل أيضا على الفوسفتاز**(Ball.,2007)**.

3-3-4 الأملاح المعدنية والعناصر النادرة

يحتوي العسل على كميات مختلفة من المعادن تتراوح ما بين (g100/0.2) و (g100/0.4) **(Alqarni *et al*.,2012)**. بحيث يتراوح المحتوى المعدني لعسل الرحيق حوالي (0,1-0,2 %) وحوالي (1 %) بالنسبة لعسل المن (**Mračević *et***

al., 2020). وحوالي (0,04) في العسل الباهت إلى (0,2) في العسل الداكن **(Baroni *et al.*, 2009)**. يختلف المحتوى المعدني للعسل حسب نوع العسل من الناحية النباتية يمكن تصنيف العسل حسب محتواه المعدني الذي يعتمد على الاصل الجغرافي، ونوع التربة التي وجد فيها النبات والرحيق **(Da Silva *et al*, 2016)** ويعتبر البوتاسيوم العنصر الأكثر وفرة في العسل **(Da Silva et al, 2015) (جدول 5).**

جدول5: الأملاح المعدنية الرئيسية والعناصر النزرة الموجودة في العسل (Rossant.,2011).

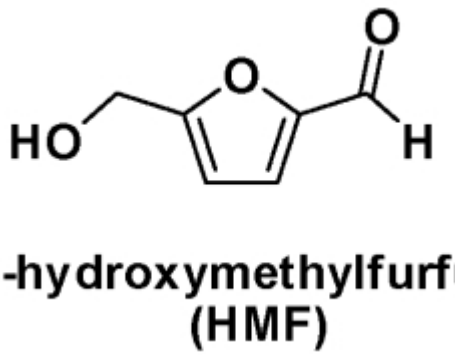
الأملاح المعدنية الرئيسية Mg/Kg	العناصر النزرة Mg/Kg
البوتاسيوم 200-1500	الكروم 0,1-0,3
الصوديوم 16-170	الكوبالت 0,01-0,5
الكالسيوم 40-300	النحاس 0,2-6
النيكل 0,3-1,3	المغنيزيوم 7-130
الكادميوم 0,005-0,15	الزنك 0,5-20
الألمنيوم 3-60	الحديد 0,3-40

5-3-3 الفيتامينات

يحتوي العسل على كمية منخفضة من الفيتامينات (**Alvarez-suarez *et al.*, 2010**) ينتمي معظمها إلى عائلة الفيتامين **B** بما في ذلك الثيمين (**B1**)، والريبوفلافين (**B2**)، وحمض النيكوتين (**B3**)، وحمض البانتوثينيك (**B5**)، والبيريدوكسين (**B8**)، وحمض الفوليك (**B9**)، كما يحتوي العسل أيضا على الفيتامين **C** (**Afrin et al.,2019**).

6-3-3 هيدروكسيل ميثيل فورفورال

(HMF) هو مركب عضوي غير متجانس ينتج عن تحلل السكر، مكون من 6 ذرات كربون، يحتوي على مجموعات ألدهيد وكحول وظيفية. تتقلص حلقة الهيكل على شقوق الفوران، بينما ترتبط المجموعتان الوظيفيتان أي مجموعات الفورميل وهيدروكسي ميثيل في الموضعين الثاني والخامس **(Shapla *et al.*, 2018).** يظهر هذا الجزيء أثناء عملية الشيخوخة الطبيعية للعسل، يتراوح محتوى HMF ما بين (1.64 و76.34 mg/kg) **(Achour *et* khali, 2014) (شكل 37).**



شكل 37:هيدروكسيل ميثيل فورفورال (Rosatella et al.,2011) .

3-3-7 الماء

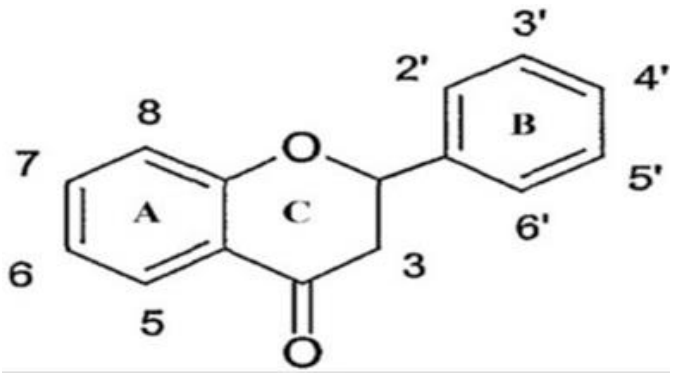
تتراوح نسبة الماء في العسل بين (17 إلى 20 %) **(Kamal *et* klein, 2011).** لا ينبغي أن يزيد المحتوى المائي عن هذا الحد لأنه قد يسبب حدوث تخمر على السطح. حيث أن هناك ارتباط بين محتوى الماء أو النشاط المائي، ومحتوى الخميرة، بحيث أن الخميرة تزيد بمقدار 5 مرات في حالة زيادة المحتوى المائي بمقدار (1جرام/100جرام). ارتفاع محتوى الماء يرجع إلى الحصاد المبكر جدا والمناخ الرطب **(Bogdanov *et al.*,2004).** يعتمد محتوى الماء في العسل على الظروف البيئية وفترة الحصاد، ويمكن أن يختلف من سنة إلى أخرى **(Achour *et al.*, 2014).**

3-3-8 المنكهات

يختلف العسل في المذاق والرائحة حسب مصدره **(Adams *et al.*,2010).** ويرجع ارتفاع درجة حلاوة العسل لاحتوائه على نسبة عالية من الفركتوز **(Bogdanov *et al.*,2008).** أما رائحة العسل راجع إلى احتوائه على المواد الطيارة **(Tafere *et al.*,2021)**، وكذا كمية ونوع الأحماض الأمينية والأحماض الموجودة **(Bogdanov et al.,2008).**

3-3-9 المركبات الفينولية

هي مجموعة غير متجانسة كيميائيا، تنقسم إلى الأحماض الفينولية الفلافونيدات منها فلافون، فلافونول، فلافانون، فلافانول، أنثوسيانيدين، أيسوفلافون، شالكون **(Da Silva *et al.*, 2016).** بالنسبة للفلافونويدات فهي مركبات كيميائية طبيعية قابلة للذوبان في الماء بشكل أساسي، تتكون من حلقتين بنزين تليهما سلسلة خطية من ثلاث ذرات كربون (C6-C3-C6)، غالبا ما تعيد هده البنية ترتيب نفسها لتشكل ثلاث حلقات تحتوي على 15 ذرة كربون تسمى (A, B, C) **(Cianciosi *et al.*,2018) (شكل 38).** يبلغ تركيز الفلافونويدات في العسل حوالي (20 ملغ/كلغ) حيث يختلف حسب الأصل النباتي للعسل **(Afrin *et al.*,2019).**



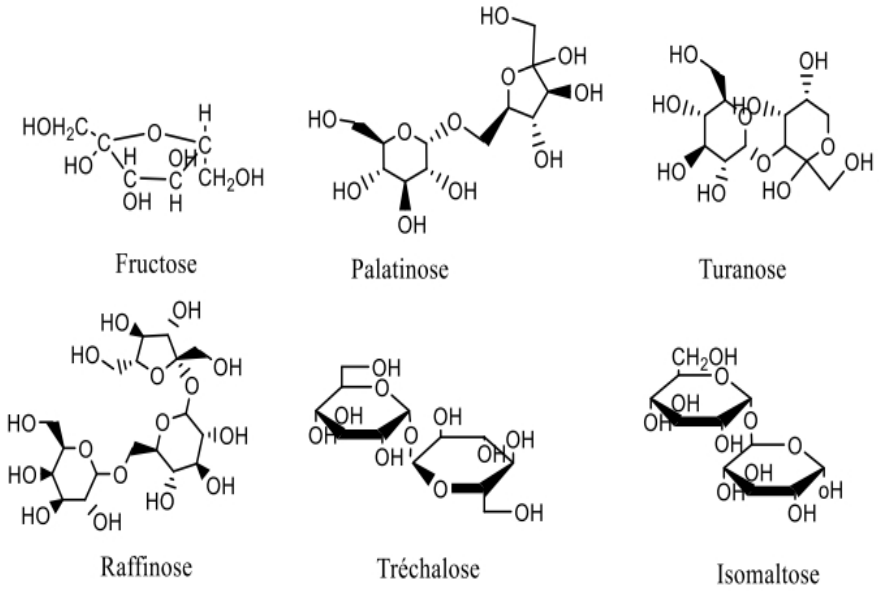
شكل 38: الهيكل الأساسي للفلافونويد (Cianciosi *et al.*, 2018).

بالنسبة للأحماض الفينولية فهي تحتوي على حلقة فينولية، ووظيفة حمض كربوكسيلي عضوي واحدة على الأقل، يمكن تقسيمها وفقا لتركيبتها إلى: (C6-C3)، على سبيل المثال: حمض الكوماريك، الفيروليك، وحمض الكافيين. (C6-C2)، مثل: حمض الأسيتوفينونات، أحماض فينيل أسيتيك) و (C6-C1)، مثل: حمض الفانيليك، وحمض الغاليك **(Cianciosi *et al.*, 2018).** المركبات الفينولية هي نواتج الأيض الثانوية المشتقة من النبات (**Tafereet al, 2021**). حث يتراوح نسبتها بالعسل ما بين (56 - 500 مغ /كغ) (**Bogdanov *et al.*, 2008**). تعمل كمضادات للأكسدة عن طريق القضاء

على الجدور الحرة وتثبط أكسدة الدهون (**Da Silva *et al.*, 2016**)، وذلك من خلال تكوين مجوعة هيدروكسيل أكثر سمية (**Cianciosi *et al.*,2018**).

3-3-10 السكريات

يحتوي العسل على ما يقارب (80%) من الكربوهيدرات، (35%) جلوكوز، (40%) فركتوز (**Abselami *et al.*,2018**)، حيث أن تركيز السكريات الثنائية والثلاثية حوالي (5%)، و(1%) على التوالي ويعتبر المالتوز، التورانوز، السكروز أكثر السكريات تواجدا بالعسل. حيث توفر السكريات الموجودة في العسل طاقة بقيمة (Kcal /100g300)، أي ما يعادل 15% من الاستهلاك اليومي الموصى به من الطاقة (**Nguyen *et al.*,2019**) (**شكل 39**).



شكل 39: أنواع السكر الموجودة في العسل (Erejuwa *et al*, 2012).

3-3-11 المركبات النيتروجينية

إن محتوى المركبات النيتروجينية في العسل منخفض جدا (**Suescúnet Vit.,2008**). حيث تتراوح نسبة البروتينات مابين (40%) إلى (65%) وبعض الأحماض الأمينية الحرة (**Di Girolamo *et al.*,2012**). يرتبط هذا المحتوى بوجود حبوب اللقاح، كما أنها تستخدم كمؤشر لكشف الغش في العسل التجاري (**Suescúnet Vit.,2008**).

3-3-12 الدهون

يحتوي العسل على حوالي (0,002%) من الدهون، حيث تلعب النباتات والشمع دورا رئيسيا في إخراج مركبات دهنية مختلفة في صور أحماض مثل: حمض البالمتيك، الأوليك، الستياريك، وحمض اللينوليك (**Ranneh *et al.*,2021**).

4-3 الخصائص الفيزيائية الكيميائية للعسل

1-4-3 الرقم الهيدروجيني

العسل حمضي بشكل طبيعي مهما كان أصله الجغرافي والذي قد يكون سببا في وجود الأحماض العضوية التي تساهم في نكهته واستقراره ضد التلف الجرثومي **(Khalil *et al*., 2012)**. تتراوح درجة حموضته بين (3,2 - 4,5)، تشير القيم المتزايدة للحموضة إلى بداية عملية التخمر والتي يتم من خلالها تحويل الكحول المنتج إلى أحماض عضوية (**Ratiu *et al*., 2020**).

2-4-3 اللون

يظهر العسل ألوانا مختلفة جدا، تتراوح من الأبيض أو الأصفر الشاحب إلى الأحمر الغامق أو حتى الأسود **(Gonzalez-Miret *et al*., 2005)**. تعتمد هذه الخاصية على المحتوى المعدني وحبوب اللقاح والمحتوى الفينولي للعسل. كما يختلف لون العسل وفقا لأصله الجغرافي، أيضا يمكن أن تؤثر طريقة الإنتاج والممارسات الزراعية عليه. بحيث يتراوح ما بين (Pfund26 إلى Pfund,150) عند القياس بمقياس الضوء **(Nordin *et al*., 2018)**.

وجد أن العسل النقي يتغير لونه تدريجيا إلى اللون الغامق **(Can *et al*.,2015)** مع تقدم العمر **(Khalil *et al*.,2012)**، بسبب تفاعلات الكرملة الغير الإنزيمية (تفاعلات ميلارد)، كما أن العسل داكن اللون يحتوي على مستويات عالية من الأصباغ، وحبوب اللقاح، والمركبات الفينولية، والمعادن، ونواتج تفاعل ميلارد **(Can *et al*,2015)**.

3-4-3 الحموضة الحرة

تتميز الحموضة الحرة للعسل بوجود الأحماض العضوية في حالة اتزان مع اللاكتونات والأسترات الداخلية وبعض الأيونات الغير عضوية كالفوسفات والكبريتات **(Vranić *et al*.,2017)**. تشير الحموضة العالية للعسل إلى تخمر السكريات وتحولها إلى أحماض عضوية **(Nordin *et al*., 2018)**. إن الاختلاف في الحموضة الحرة بين أنواع العسل يرجع إلى الأصل الجغرافي ووجود الأحماض العضوية المختلفة وبعض الأيونات غير العضوية وموسم الحصاد **(Vranić *et al*., 2017)**.

4-4-3 محتوى الرماد

يعبر محتوى الرماد معيار جودة العسل ويعتمد على الأصل النباتي للعسل **(Amri *et al*.,2007)**، تعد نسبة الرماد مؤشر على المحتوى المعدني **(Eteraf-Oskouei *et al*.,2013)**. بحيث يحتوي العسل فاتح اللون على نسبة منخفضة من الرماد مقارنة بالعسل الملون **(Finola *et al*.,2007)**.

5-4-3 الموصلية الكهربائية

تستخدم الموصلية الكهربائية للتمييز بين عسل المن وعسل الزهر وأيضا لتحديد العسل أحادي الأزهار (**Belay *et al*.,2013)**. تتراوح ما بين (0,34 - 0.55 mS/cm) **(Bakchiche *et al*.,2018)**. ترتبط ارتباطا مباشرا بتركيز المعادن، والأملاح، والأحماض العضوية، والبروتينات **(Nordin *et al*.,2018)**. حيث يحتوي عسل المن على مستويات عالية من الموصلية الكهربائية ويرجع ذلك لغناه بالمعادن **(Lazarević *et al*.,2017)**.

3-4-6 محتوى الرطوبة

يعتبر محتوى الرطوبة عامل مهم لتحديد جودة العسل، واستقراره، ومقاومته للتلف ضد تخمر الخميرة (**Zarei *et al*.,2019**). فكلما زاد محتوى الرطوبة زادت احتمالية تخمر العسل أثناء التخزين (**El Sohaimy *et al*.,2015**). يعتمد هذا المحتوى على الظروف البيئية مثل درجة الحرارة والرطوبة النسبية في المنشأ الجغرافي أثناء إنتاج العسل في المستعمرات وكذلك التلاعب من النحالين في فترة الحصاد (**Zarei *et al*.,2019**). حيث أن الرطوبة المنخفضة أقل من 20 تزيد من العمر الافتراضي للعسل أثناء التخزين عن طريق الحماية من النشاط الميكروبي (**El Sohaimy *et al*.,2015**).

3-4-7 الدوران المحدد

يعتبر الدوران المحدد عن طريق مقياس الاستقطاب مفيدا (**Belay *et al*.,2013**)، للتميز بين عسل المن وعسل الرحيق (**Suescún *et* Vit.,2008**). يعتمد الدوران العام المحدد للعسل على تركيز السكريات المختلفة الموجودة في العسل. حيث أن العسل الطبيعي له خاصية تدوير مستوى الضوء المستقطب إلى اليسار، مما يسمح في كشف غش العسل (**Belay *et al*.,2013**).

3-4-8 المحتوى المائي

يسمح المحتوى المائي للعسل بتقدير درجة نضج العسل، كما أن التفاعل القوي للسكر مع جزيئات الماء يقلل من المياه المتاحة لتطور الكائنات الدقيقة (**Bakchiche *et al*.,2018**). مسؤول أيضا عن استقرار العسل أثناء التخزين (**Belhaj *et al*.,2015**). حيث أن تخزين العسل في رطوبة عالية يسبب امتصاص بخار الماء من البيئة مما يزيد من النشاط المائي للعسل (**Fuad *et al*., 2017**). حيث أن ارتفاع نسبة الماء في العسل يسبب تخمره وفقدان نكهته وكذلك جودته. ويعزى التباين في المحتوى المائي بين أنواع العسل إلى الظروف البيئية مثل: المناخ، أصل الأزهار، المحتوى المائي للرحيق (**Belhaj *et al*.,2015**).

3-4-9 اللزوجة

عادة ما يكون العسل في الحالة السائلة شديد اللزوجة، بحيث أن اللزوجة المنخفضة مؤشر على الغش في العسل بإضافة الماء. تعتمد هذه الخاصية على تركيبته الكيميائية ومحتوى الماء ودرجة الحرارة (**Suescún *et* Vit.,2008**). كما أنها يمكن أن تتأثر أيضا بمحتوى السكر (**Soumboudou *et al*.,2022**).

3-4-10 الكثافة

كثافة العسل عالية نسبيا تتراوح ما بين (1,40 - 1,45 g/cm^3)، يتم تحديدها باستخدام طرق مختلفة: طريقة (pycnometric)، أو عن طريق الدفع الهيدروستاتيكي وكذلك مقياس كثافة السوائل، كما يمكن أيضا تحديدها وفقا لمبدأ استخدام جهاز (PAAR) (**Bogdanov.,2004**).

3-4-11 معامل الانكسار

يختلف معامل الانكسار مع درجة الحرارة ومحتوى الرطوبة من (1,4915) إلى (1,5041) لمحتوى رطوبة ما بين (13) إلى (18) **(Chettoum *et al*.,2023)**. يسمح هدا المؤشر بتحديد رطوبة العسل بسرعة وبدقة، حيث يرتبط محتوى الماء عكسيا بمعامل الانكسار **(Suescún *et* Vit.,2008)**.

3-4-12 الموصلية الحرارية

الموصلية الحرارية عبارة عن مقياس لانتقال الحرارة، ويشار إليها أيضا باسم "مؤشر الحرارة" **(Bogdanov.,2004)**. يتم التعبير عنها بال (cm^3) وبالنسبة المئوية. يعتبر العسل موصل ضعيف للحرارة، إلا عندما يكون جاف تماما **(Huchet *et al*.,1996)**.

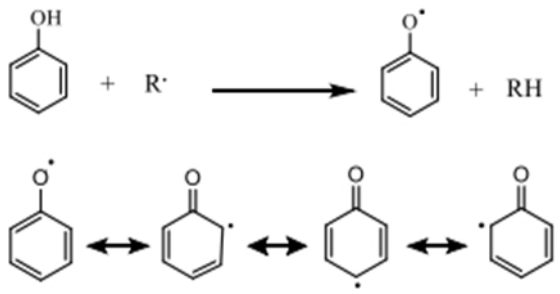
3-5 الخصائص العلاجية للعسل

3-5-1 النشاط المضاد للأكسدة

يمتلك العسل نشاط قوي مضاد للأكسدة **(Atif *et al*.,2018)**، حيث تساهم مضادات الأكسدة الموجودة بشكل طبيعي في العسل في قدرته المضادة للأكسدة. وتشمل مركبات الفلافونويد، والأحماض الفينولية، وبعض الإنزيمات مثل: الجلوكوز أوكسيداز، الكاتالاز، حمض الأسكوربيك، والمواد الشبيهة بالكاروتين، والأحماض العضوية، منتجات تفاعل ميلارد، والأحماض الأمينية، والبروتينات **(Alvarez-suarez *et al*.,2010)**.

تم ربط النشاط المضاد للأكسدة للعسل بأصله الزهري، ومجموعة المركبات التي تنتقل إلى العسل من خلال حبوب اللقاح، ورحيق النبات، ومركبات أخرى تنقلها النحلة عن طريق لعابها **(Bobis *et al*., 2020)**.

يحتوي العسل على مضادات أكسدة مائية ومحبة للدهون، وبالتالي يمكن أن تعمل على مستويات خلوية مختلفة. يقلل هذا النشاط من التفاعل التأكسدي عن طريق تثبيط تكوين الجدور الحرة مثل: الحديد والنحاس التي يتم تحفيزها بواسطة أيونات المعادن، تؤدي هذه العملية إلى تقليل الإجهاد التأكسدي **(Oryan *et a*l.,2016)**. الألية الدقيقة لنشاط العسل كمضاد للأكسدة غير معروفة، لكن هناك أليات مقترحة تشمل: عزل الجدور الحرة، واستخلاب الأيونات المعدنية، الفلافونويد، عمل ركيزة للهيدروكسيل **(Atif *et al*.,2018)**.



شكل 40: ألية الكسح الجدري للمركبات الفينولية.

جدول6: ألية عمل مركبات الفلافونويد والمركبات الفينولية في النشاط المضاد للأكسدة للعسل.

المركب	الألية
مركبات الفلافونويد والمركبات الفينولية	- تعتبر كل من الأحماض الفينولية، ومركبات الفلافونويد المسؤولة الرئيسية عن النشاط المضاد للأكسدة للعسل **(Cianciosi *et al*.,2018)**، حيث تعمل على: - منع إنتاج المؤكسدات عن طريق تثبيط الزانتين أوكسيداز، واستخلاب المعادن الانتقالية. - منع المؤكسدات من مهاجمة الأهداف الخلوية. - منع انتشار التفاعلات المؤكسدة عن طريق كسر سلسلة النشاط المضاد للأكسدة. - تعزيز قدرة مضادات الأكسدة الخلوية من خلال تجنب التأثير على مضادات الأكسدة الأخرى. - تحفيز التعبير عن مضادات الأكسدة الذاتية **(Seifu *et al*.,2017)**. - تعمل أيضا على استقرار الجذور الحرة عن طريق إطلاق الهيدروجين من إحدى مجموعات الهيدروكسيل، حيث يعتمد هذا النشاط على عدد مجموعات الهيدروكسيل الخاصة بها **(Cianciosi *et al*.,2018)**. - تثبيط السمية الخلوية المستحدثة بواسطة عامل نخر الورم، الناتجة عن توسط أنواع الأكسجين التفاعلية في التسمم الخلوي الناجم عن هذا العامل **(Oryan *et al*.,2016)**.

2-5-3 الأنشطة العلاجية

يتميز العسل بخصائص علاجية تتمثل في النشاط المضاد للالتهاب، النشاط المضاد للبكتيريا والميكروبات، النشاط المضاد لأثر الجروح، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للسرطان، كذلك تأثير على الجهاز الهضمي، والقلب والأوعية الدموية ونشاط مضاد للأكسدة **(Nweze *et al*.,2020)**.

وآلية عمله كما هو موضح في **الجدول 7.**

جدول7: أليات الأنشطة العلاجية للعسل.

النشاط العلاجي	الألية
النشاط المضاد للالتهاب	- تقليل تنظيم عوامل النسخ الالتهابية (MAPK)، و(NF-kB) مما يؤدي إلى انخفاض مستويات السيتوكينات المنشطة للالتهابات، كعامل نخر الورم ألفا والأنترلوكين 6 والأنترلوكين 1 بيتا **(Stavropoulou *et al*., 2022)**. - تحفيز إنتاج وسطاء الالتهاب مثل: البروستاجلاندين E2 و2-cyclooxygenase. - تحفز تكاثر الخلايا الليفية والظهارية وإصلاح تلف الأنسجة **(Ranneh *et al*.,2021)**. - منع إنتاج وانتشار الخلايا الالتهابية في موقع الجرح **(Alvarez-Suarez *et al*., 2014)**.
النشاط المضاد للبكتيريا والميكروبات	- تثبيط نمو الميكروبات بواسطة بيروكسيد الهيدروجين (**H2O2**) الناتج عن النشاط الإنزيمي مثل الجلوكوز أوكسيداز، والأنشطة غير البيروكسيدية المعتمدة بشكل أساسي على عمل الفينولات المعقدة والأحماض العضوية (**Martinoutti et al.,2018**). - تؤثر العوامل المختلفة على قدرة العسل المضادة للبكتيريا، بما في ذلك: المحتوى المائي المنخفض، اللزوجة العالية، الحموضة، ومحتوى بيروكسيد الهيدروجين، المحتوى السكري المرتفع **(Almasaudi *et al*., 2020)**.
النشاط المضاد لأثر الجروح	حموضة العسل تعزز من التئام الجروح عن طريق زيادة إطلاقه للأكسجين من الهيموغلوبين. كما أن الرقم الهيدروجيني للعسل أقل ملائمة لنشاط البروتياز، وبالتالي تقليل تدمير المكونات اللازمة لإصلاح الأنسجة **(Molan et Rhodes.,2015)**. - المحتوى المائي المنخفض للعسل يسبب تدفق السوائل التي تعمل على طرد البقايا والأنسجة الميتة، وكذلك الكائنات الحية الدقيقة من الجرح. كما يساعد على نقل الأكسجين والمواد المغذية من الأنسجة العميقة إلى منطقة الجرح **(Tashkandi.,2021)**. - المحتوى العالي من السكر يعمل على تحسين التغذية في مناطق الإصابة، مما يسمح لبيروكسيد الهيدروجين على العمل بمثابة رسول لتعديل مسارات إشارات الخلايا المختلفة التي تشارك في إصلاح الجروح **(Martinoutti *et al*., 2018)**.
النشاط المضاد للفطريات	- يلعب الأصل النباتي للعسل دورا مهما في التأثير على النشاط المضاد للفطريات للعسل، وكذلك مكوناته مثل الأحماض الفينولية، والفلافونويد (**Ahmed et al.,2012**). من خلال: - منع نمو الفطريات من خلال منع تشكيل أغشيتها الحيوية.

	- تعطيل التغيرات التي تنشأ في بنية عديدات السكاريد الخارجية، أي أنه يشوه غشاء الخلية مما يتسبب في انكماش سطح الخلية على مستوى الأغشية الخلوية مما يؤدي إلى الموت أو تأخر النمو (**Atif et al, 2018**).

النشاط المضاد للسرطان	- أثبت أن للعسل نشاط مضاد للسرطان ضد سلالات وأنسجة الخلايا السرطانية، مثل: سرطان الثدي، والقولون المستقيم، سرطان بطانة الرحم، سرطان الفم. وهذا راجع للبوليفينول الموجود في العسل **(Ahmed *et* Othman.,2013).** من بين الأليات المقترحة لهدا النشاط: - أنه يقوم بتثبيط تكاثر الخلايا وتحريض تكاثر دورة الخلية، تثبيط أكسدة البروتين الدهني. كما أثبت أن العسل يحث على موت الخلايا المبرمج المبكر، والمتأخر، وتعطيل إمكانات غشاء الميتوكوندريا **(Laube.,2022).** - يعمل العسل على تقوية النشاط المضاد للأورام لأدوية العلاج الكيميائي، مثل: 5-فلورويوراسيل وسيكلوفوسفاميد **(Ahmed *et* Othman.,2013).**
العسل والجهاز الهضمي	- يعمل العسل على تقصير من مدة الإسهال البكتيري، ويمنع نمو الميكروبات، والكائنات المسببة للأمراض المعوية، مثل: الكلوستريديوم، وأنواع السالمونيلا. بحيث يمنع ارتباط أنواع السالمونيلا بالخلايا الظهارية المخاطية، وبالتالي منع تكوين العدوى، كما أن له تأثير وقائي على المعدة (**Schell *et al*.,2022).**
تأثير العسل على القلب والأوعية الدموية	- البوليفينول في العسل يخفف من أمراض القلب والأوعية الدموية من خلال اليات مختلفة، منها: تحسين الوظيفة البطانية، تقليل الاستجابات الالتهابية، توفير الحماية المضادة للأكسدة، وتقليل الإجهاد التأكسدي **(Ab Wahab *et al*.,2018).** - كما تعمل مركبات الفلافونويد على تحسين تمدد الشريان التاجي، خفض قدرة الصفائح الدموية على التخثر، ومنع أكسدة البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة. بالإضافة إلى العسل يمكنه أن يخفض ضغط الدم الوريدي مما يقلل من احتقان الجهاز الوريدي **(Eteraf-Oskouei *et al*.,2022).**

6-3 سمية العسل

يحتوي العسل على مركبات عضوية وغير عضوية (كمية ضئيلة)، قد تسبب في بعض الأحيان التسمم. من بينها مركب (HMF) الذي يتشكل تلقائيا في الأطعمة عن طريق تفاعل ميلارد أثناء عملية تسخين العسل أو حفظه، بحيث قد يكون عبارة عن مادة مطفرة ومسرطنة، وسامة للخلايا. كما يمكن للعسل أن يكون ملوثا بالمعادن الثقيلة كالرصاص، والزئبق، والكادميوم. كذلك العسل المنتج من رحيق (Rhododendron ponticum)، الذي يحتوي على القلويدات التي بدورها يمكن أن تكون سامة للبشر عن طريق تشكيلها لمستقلبات نشطة. كما يمكن أن ترتبط بشكل لا رجعي بعدة مواقع في الكبد، وغيرها من الأعضاء الحيوية. بينما يحتوي العسل الّذي يتم جمعه من أزهار أندروميدا على السموم الرمادية التي يمكن أن

تسبب شلل الأطراف عند الإنسان، ويؤدي في النهاية إلى الموت. الأعراض الأكثر شيوعا هي الغثيان، القيء، التشنجات، والصداع، والخفقان أو حتى الموت **(Nazmul *et al*.,2013).**

القسم الثاني

الدراسة التطبيقية

1 المواد والطرق

1-1 المواد

1-1-1 عينة العسل

بغرض هذه الدراسة، تم الحصول على عينة عسل الغابة متعدد الأزهار من منطقة أكفادو ولاية بجاية، من طرف تعاونية ولاية سطيف، تم حصاده سنة 2022. حفظ العسل في زجاجة بعيدا عن الضوء وبدرجة حرارة الغرفة.

1-1-2 المواد الكيميائية

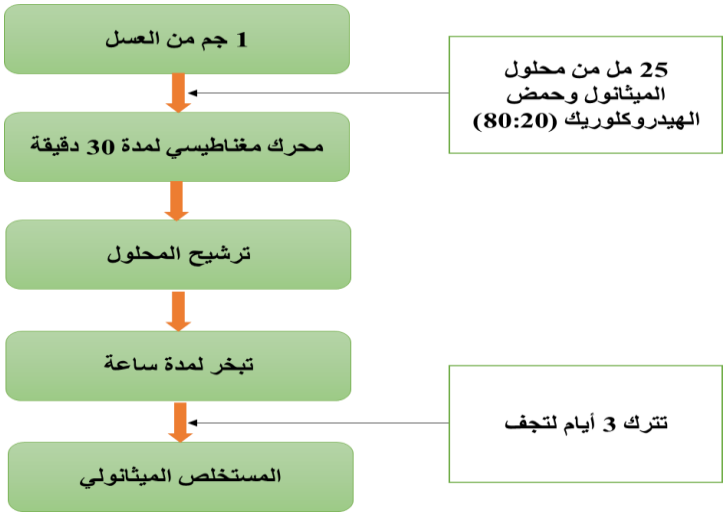
ميثانول (CH_3OH)، حمض الهيدروكلوريك 6N (HCl)، 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazy (DPPH)، بيرسلفات البوتاسيوم ($K_2S_2O_8$)، Acide2,2'-azino-bis (3-éthylebenzothiazoline-6-sulphonique) (ABTS)، إيثانول (C_2H_5OH)، FCR (Folin-Ciocalteu réactif)، الفينانثرولين، كلوريد الحديد ($FeCl_3$)، ثلاثي حمض كلورو أسيتيك (TCA)، Potassium ferricyanide $K_3Fe(CN)_6$، Phosphate buffer ، كربونات الصوديوم 7،5٪ (Na2CO3)، حمض الغاليك.

1-2 الطرق

1-2-1 الاستخلاص

1-1-2-1 تحضير المستخلص الميثانولي

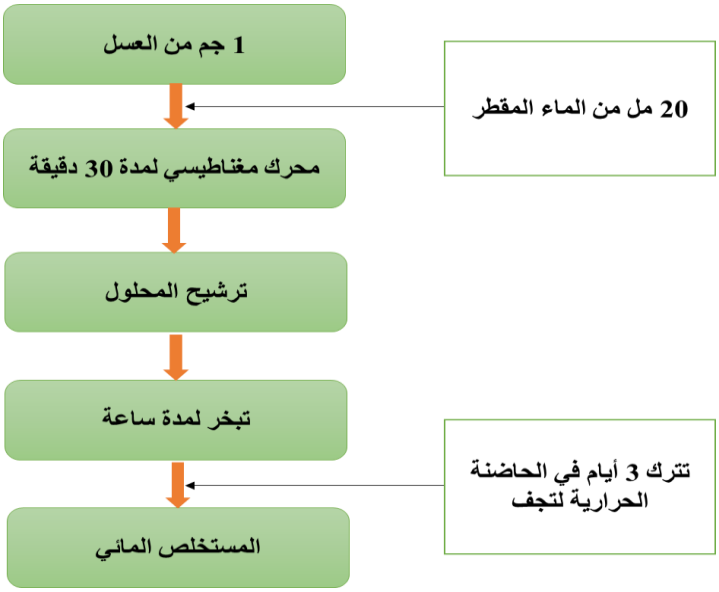
تم إجراء الاستخلاص لتقدير المحتوى الكلي الفينولات وتحديد سعة مضادات الأكسدة وذلك حسب الطريقة التي وصفها **Tomás-Barberán** وآخرون.. **(2001)**. والتي تتمثل في خلط 1 جم من العسل مع 25 مل من محلول الميثانول، حمض الهيدروكلوريك6N، (20:80 حجم / حجم) يذاب تحت التحريك المستمر لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة الغرفة. ثم ترشيحها على ورق واتمان. يبخر المحلول الناتج في المبخر للتخلص من المحاليل ثم يترك ليجف مدة ثلاثة أيام **(شكل41)**.



شكل41: طريقة الاستخلاص الميثانولي.

2-1-2-1 تحضير المستخلص المائي

اعتمدت **kavangh** وآخرون..**(2019)** للحصول على المستخلص المائي استخلاص**.** يتم تخفيف 1 جم من العسل في 20 مل من الماء المقطر (الاستخلاص المائي) مع التحريك المستمر لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة الغرفة، ثم نقوم بالتصفية من خلال ورق واثمان. نضع المحلول في علب بيتري ونتركها في الحاضنة الحرارية 60 درجة لمدة 3 أيام لتجف **(شكل42).**



شكل42: طريقة الاستخلاص المائي.

3-1-2-1 وزن المستخلص الميثانولي والمائي

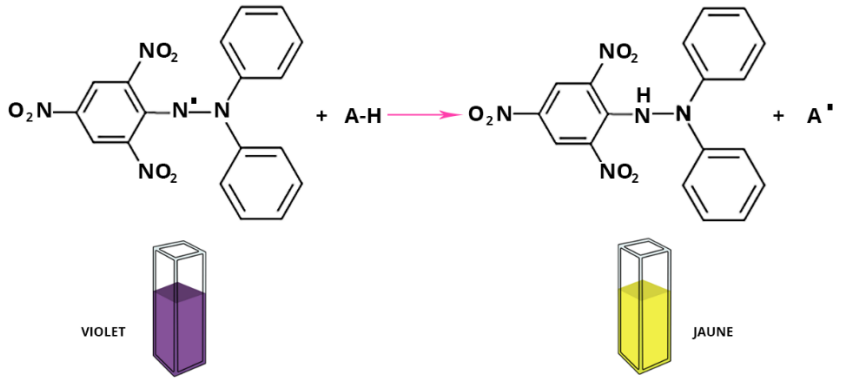
كان وزن العسل الابتدائي 1جم في كل عينة بعد الاستخلاص تحصلنا على كمية 0.83جم من المستخلص الميثانولي، و0.87جم من المستخلص المائي.

2-2-1 دراسة النشاط المضاد للأكسدة

1-2-2-1 دراسة النشاط المضاد لأكسدة جذر DPPH·

1-1-2-2-1 مبدأ التفاعل

يعتبر جزيء 1،1– diphenyl-2-picrylhydrazyl جذر حر ثابت، وله لون بنفسجي وامتصاص مميز عند 517 نانومتر. عندما يتم خلط محلول DPPH مع مادة مانحة لذرة الهيدروجين يتشكل الشكل المختزل **(شكل43)**. يؤدي هذا إلى فقدان اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر الذي يتميز بوجود شريط امتصاص في المرئي عند 517 نانومتر.**-Brand Williams *et al.*,1995) (شكل43).**



شكل43: هيكل DPPH وارجاعه بمضادات الأكسدة

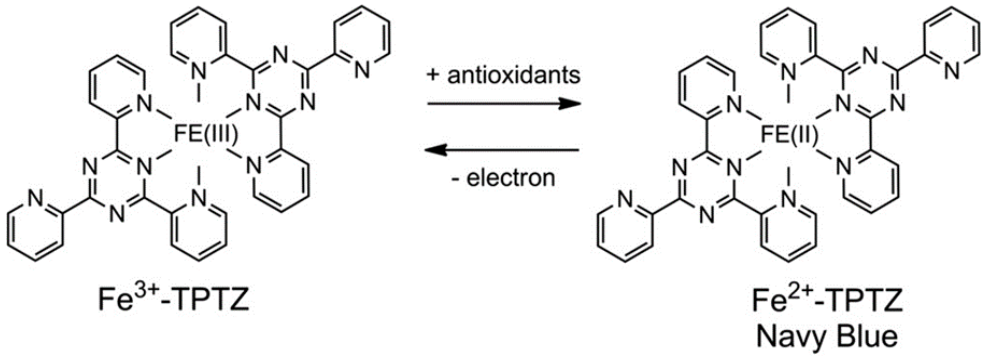
2-1-2-2-1 المبدأ التجريبي

يتم تحديد نشاط المضاد لأكسدة جذر (DPPH) بالطريقة التي وصفها **Blois (1958).** حيث على صفيحة 96 بئر، تم خلط حجم 160µl من محلول (DPPH) مع 10 µl من المستخلص المحضر بتركيزات متعددة. يتم حفظ الخليط في درجة حرارة الغرفة بعيدا عن الضوء لمدة 30 دقيقة. تم قياس الامتصاصية عند طول موجي 517 نانومتر.

2-2-2-1 دراسة النشاط المضاد لأكسدة FRAP

1-2-2-2-1 مبدأ التفاعل

يعتمد اختبار فاعلية المضادة لأكسدة الحديديك (FRAP) على قدرة مضادات الأكسدة على تقليل الحديد (III) إلى الحديد (II). يعتمد التقييم على تفاعل الاختزال لمركب (Fe^{+3}) الموجود في مركب فيروسيانيد البوتاسيوم إلى (Fe^{+2})، وكشف التفاعل عن طريق انتقال اللون الأصفر للحديد الحديدي (Fe^{+3}) باللون الأزرق- أخضر من الحديدوز (Fe^{+2}) ، يتم قياس شدة هذا التلوين بواسطة مقياس الطيف الضوئي عند 700 نانومتر **(Li *et al.*,2008; Amarowicz *et al.*,2010; Jones *et al.*,2017) (شكل 44).**



شكل44: آلية التفاعل خلال اختبار FRAP بين مركب الحديد ثلاثي بريدل تريازين TPTZ- Fe (III) ومضاد الأكسدة.

1-2-2-2-2 المبدأ التجريبي

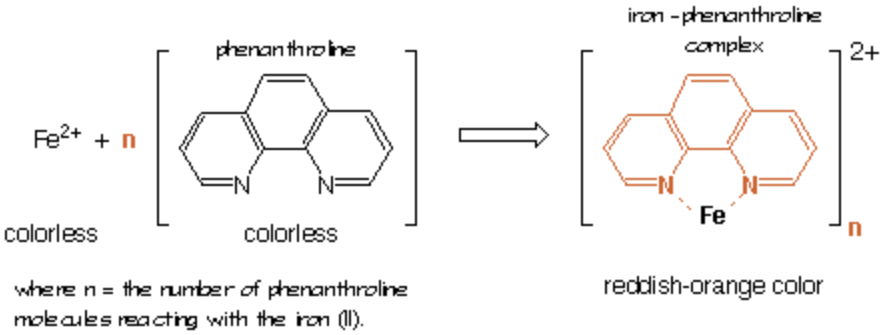
يتم تحديد قوة الاختزال بواسطة طريقة **Oyaizu (1986)** مع تعديل طفيف. يتم وضع حجم 10µl من مستخلص مع 40 من (phosphate buffer) (PH 6.6) نضيف 50 µl من محلول فيري سيانيد البوتاسيوم ($K_3Fe(CN)_6$) (1%) (1جم من ($K_3Fe(CN)_6$) في 100 مل ماء) .يحضن محلول التفاعل في درجة حرارة 50 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة ثم نضيف حجم 50µl من (TCA) (trichloroacetic acid) (10%) و حجم 40µl من الماء المقطر وحجم 10 µl من كلوريد الحديد FeCl3 (0.1٪) . تقرأ الامتصاصية عند 700 نانومتر.

3-2-2-1 دراسة النشاط المضاد لأكسدة Fe+2-phenanthroline

1-3-2-2-1 مبدأ التفاعل

يمكن تحديد الحديد المائي، في شكله الحديدي المختزل (Fe^{+2})، بطريقة قياس الطيف الضوئي من مركبه شديد اللون باستخدام (phénanthroline-1,10) في محلول حمضي (4-3PH) **(شكل45).**

يشكل الحديد الثنائي فقط Fe (II) أو Fe^{2+} مركبًا ثابتًا مع (orthophenanthroline) ويعطي لونًا برتقاليًا. يسمى هذا المركب (ferroin) ويقدر كميته ضوئيًا بطول موجة يبلغ 510 نانومتر **(Belcher.,1973).**



شكل45: تشكل معقد Fe^{+2}-phenanthroline (Anil Kumar.,2017).

2-3-2-2-1 المبدأ التجريبي

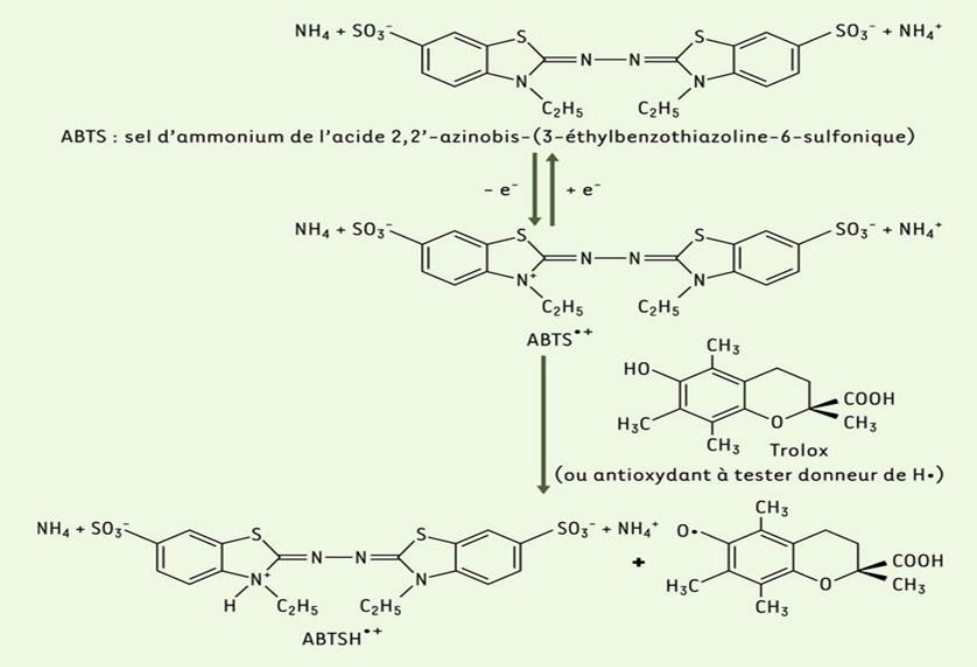
تم قياس نشاط الاختزال عن طريق تكوين معقد Fe^{+2}-phenanthroline للمستخلصات وفقًا لطريقة **Szydlowska-Czerniaka (2008)**. مزج حجم 10 µl من المستخلص مع حجم 50µl من $FeCl_3$ (0.2%) وحجم 30 µl من محلول Phenanthroline (0.5%) وحجم 110 µl من الميثانول يحضن محلول التفاعل في درجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة. تم قياس الامتصاصية عند 510 نانومتر.

4-2-2-1 دراسة النشاط المضاد لأكسدة ABTS

1-4-2-2-1 مبدأ التفاعل

يحدد اختبار ABTS قدرة الكسح للنشاط المضاد للأكسدة بناءً على قدرة المركبات على كسح ($ABTS^{\bullet+}$) الراديكالية، (sel d'ammonium de l'acide 2,2'azinobis (3-éthylbenzothiazoline) -6-sulfonique). يتكون

(ABTS•$^{+}$) الجذري (الممتص عند 734 نانومتر) من خلال تجريد إلكترون من ذرة نيتروجين من ABTS. في وجود (Trolox) (أو مانح للأكسدة H •) ، فإن جذور النيتروجين المعنية تحبس (H •)، مما يؤدي إلى (ABTSH $^{+}$) ، مما يؤدي إلى تغير لون المحلول **(Jiri *et al.*,2010) (شكل46).**



شكل46: تشكيل وحبس ABTS •$^{+}$ جذري بواسطة أحد مضادات الأكسدة.

2-4-2-2-1 المبدأ التجريبي

تم تحديد هذا الاختبار وفقًا لطريقة **Re (1999)**، مع تعديل طفيف. يتم إنتاج (ABTS •$^{+}$) (7 mM) الجذري عن طريق الأكسدة، عن طريق بيرسلفات البوتاسيوم (2.4 mM). تم تخزين تحضين الخليط لمدة 16 ساعة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة. تم تخفيف الخليط بالماء المقطر لتحقيق امتصاص 0.7 ± 0.02 عند 734 نانومتر. يضاف حجم 160 µl من محلول ABTS •$^{+}$ إلى 10 µl من تركيزات مختلفة من مستخلص العسل. تحضن العينة مدة 10 دقائق. تقاس الامتصاصية عند 734 نانومتر.

5-2-2-1 تقدير المحتوى الكلي للفينولات TPC

1-5-2-2-1 مبدأ التفاعل

يتم تحديد محتوى البوليفينول الكلي باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu **(Singleton and Rossi، 1965)** وفقًا لطريقة فحص الصفيحة الدقيقة التي وصفها **(Muller *et al.*,2010).** يتم تخفيف كاشف (FCR) . هذا الأخير عبارة عن كاشف حمض أصفر اللون الذي يتكون من خليط من ($H_3PW_{12}O_{40}$) (acide phosphotungstique) و (acide phosphomolybdique) ($H_3PMo_{12}O_{40}$) ، يتم اختزاله، في وجود البوليفينول، إلى خليط أزرق من oxydes de tungstène (W_8O_{23}) و molybdène (Mo_8O_{23}) . يتناسب اللون الأزرق الناتج مع محتوى الفينول الكلي وله أقصى امتصاص حوالي 750-765 نانومتر.

2-5-2-2-1 المبدأ التجريبي

نضع 10 µl من المستخلص + 100 µl من FCR المخفف (1 :10) + 75 µl من كربونات الصوديوم (7.5٪) + يوضع الخليط في الظلام لمدة ساعتين، تم قياس الامتصاصية عند 765 نانومتر.

بالنسبة Gamme d'étalonnage حمض الغاليك (يتم إذابة كمية 1 مجم من حمض الغال في 5 مل من الميثانول للحصول على محلول الأم) ، تم تحضير التخفيفات على النحو التالي:

25µg/ml ⟶ 25µl de S1+ 175µl de MeOH

50 µg /ml ⟶ 50µl de S1+ 150µl de MeOH

75µg/ml ⟶ 75µl de S1+ 125µl de MeOH

100µg/ml ⟶ 100µl de S1+ 100µ de MeOH

125µg /ml ⟶ 125µl de S1+ 75µl de MeOH

150µg /ml ⟶ 150µl de S1+ 50µl de MeOH

175 µg /ml ⟶ 175µl de S1+ 25µl de MeOH

200µg /ml ⟶ 200µl de S1

النتائج والمناقشة

2 النتائج والمناقشة

2-1 حساب المردودية

تم حساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات انطلاقا من الكتلة الابتدائية للعسل المستخدمة والكتلة الجافة للمستخلص المتحصل عليها لكلا المستخلصين (المستخلص المائي، المستخلص الميثانولي).

$$R\% = mf/mi \times 100$$

R% :%المردود.

mf :الكتلة النهائية.

mi:الكتلة الابتدائية.

وكانت نسبة المردودية الإنتاجية لكلا المستخلصين كما هي موضحة في **(الجدول8).**

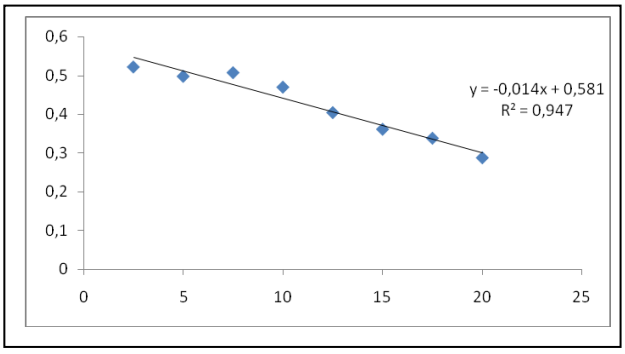
جدول 8: قيم مردود الاستخلاص

المستخلص	كتلة العينة الأولية	كتلة المستخلص الجاف	المردود الإنتاجي%
المستخلص المائي	g 1	g0.83	%83
المستخلص الميثانولي	g1	g0.87	%87

2-2 النشاط المضاد للأكسدة

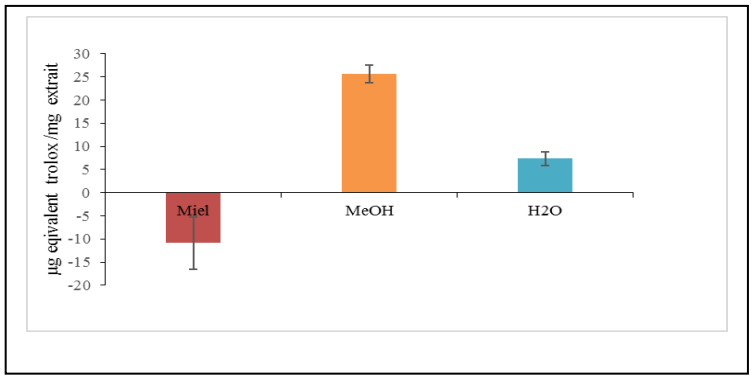
2-2-1 النشاط المضاد للأكسدة لجذر DPPH

في هذه الدراسة، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المختلفة من عسل الغابة استنادًا إلى قدرة المادة على تقليل جذر (DPPH)، باستخدام سلسلة تخفيف للحصول على ثلاثة تراكيز (1-0.75-0.25 مجم / مل)، باستعمال منحنى العيارية (Trolox) الموضح في **(الشكل47)**



شكل 47: منحنى معايرة Trolox لـ DPPH

تظهر النتائج المدرجة في الجدول **(ملحق1)** قيم النشاط المضاد للأكسدة للجدر الحر ثنائي فنيل بيكريل هيدرازيل (DPPH) لكل من عسل الغالبة الخام ومستخلصة الميثانولي والمائي على التوالي: (10,88- ± 5,59 µgTE/mg)، (25,61 ± 1,95 µgTE/mg)، (7,36 ± 1,46 µgTE/mg) **(شكل48).**



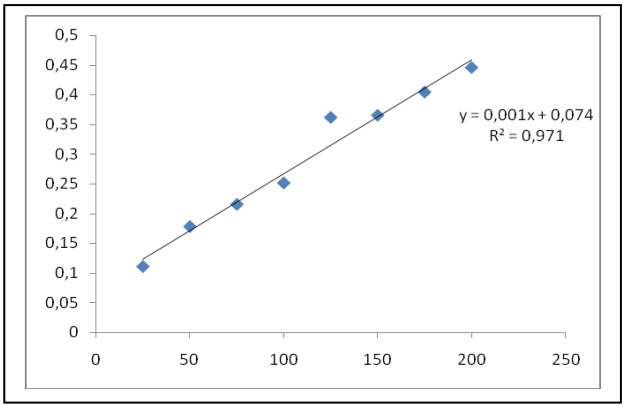
شكل48: النشاط المضاد للأكسدة لجذر DPPH لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي

من خلال النتائج المتحصل عليها يتضح أن المستخلص الميثانولي قد أبدى أعلى نشاط مضاد للأكسدة لجدر DPPH (25,61 ±1,95 µgTE/mg) أكبر ثلاث أضعاف مقارنة بالمستخلص المائي (7,36 ± 1,46 µgTE/mg), بينما لم سجل أي نشاط مضاد للأكسدة بالنسبة لعسل الغابة الخام (10,88- ± 5,59 µgTE/mg) (شكل48)

إختلفت نتائج النشاط المضاد للأكسدة لجذر DPPH المحصل عليها بدراستنا مقارنة مع نتائج كل من **(Jingwen *et al*, 2023)** و **(Pehlivan, 2018 *et* Gül)**, حيث تراوحت قيمة هدا النشاط ما بين (2,17 – 19,77 %) بالنسبة لعينات العسل التي درست من قبل (Jingwen *et al*, 2023) و ما بين 12.01و65,52 مجم/ مل للعينات المدروسة من طرف **(Pehlivan, 2018 *et* Gül).**

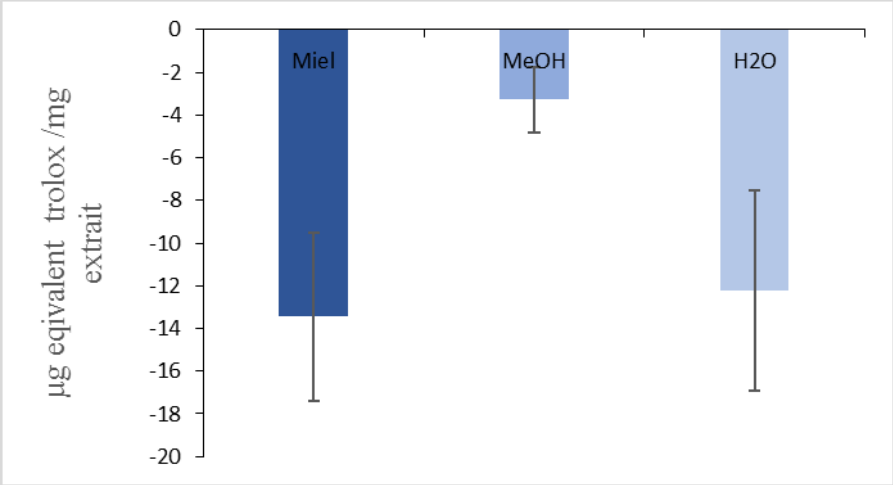
2-2-2 النشاط المضاد للأكسدة FRAP

تعتمد مراقبة هذا النشاط على قدرة المستخلصات المختبرة على تقليل الحديد (Fe^{+3}) من اللون الأصفر إلى حديد (Fe^{+2}) من اللون الأزرق والأخضر، باستخدام سلسلة تخفيف للحصول على ثلاثة تراكيز (1-0.75-0.25 مجم / مل)، باستعمال منحنى العيارية لمركب Trolox الموضح في **(الشكل49).**



شكل49: منحنى معايرة Trolox لـ FRAP

يوضح **(الشكل50)** قيم النشاط المضاد للأكسدة (FRAP) المتحصل عليها من خلال الدراسة التي أجريت على العينات التالية: عسل الغابة الخام (13,45- ±3,95 µgTE/mg)، والمستخلص الميثانولي (3,28- ± 1,51 µgTE/mg) والمستخلص المائي.(12,22- ±4,71 µgTE/mg)

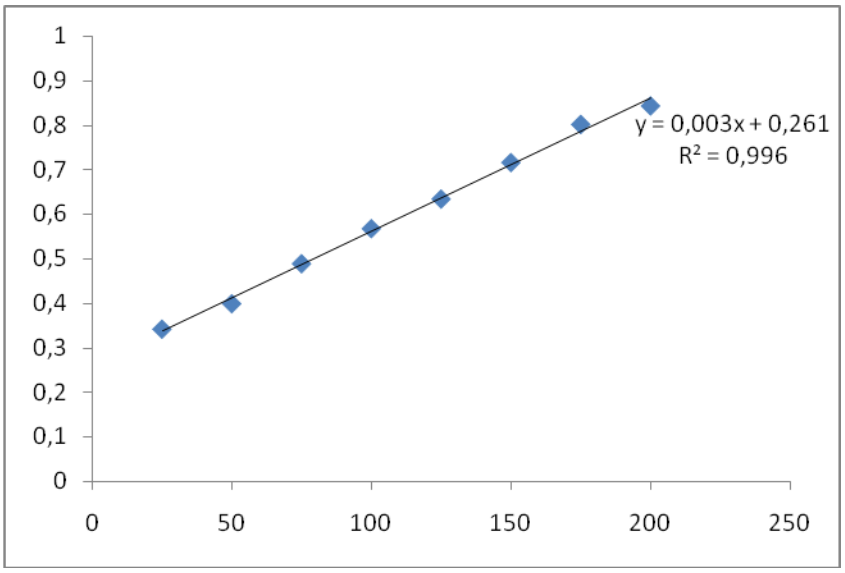


شكل50: النشاط المضاد للأكسدة لجذر FRAP لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي

تبدو النتائج أن كل من عسل الغابة الخام، والمستخلص الميثانولي، والمستخلص المائي لم يظهر أي نشاط مضاد لأكسدة FRAPحيث أن هذه النتائج تختلف عن النتائج التي أعلنها **(Gül *et* Pehlivan, 2018)** والتي تراوحت من 0,0022 إلى 0,0091 مجم/100عسل. كما أنها كانت مختلفة أيضا لنتائج **(Can *et al.*, 2015)** تراوحت ما بين (0,59 – 3,07 umol $FeSO_4$ $7H_2O$/g)**.**

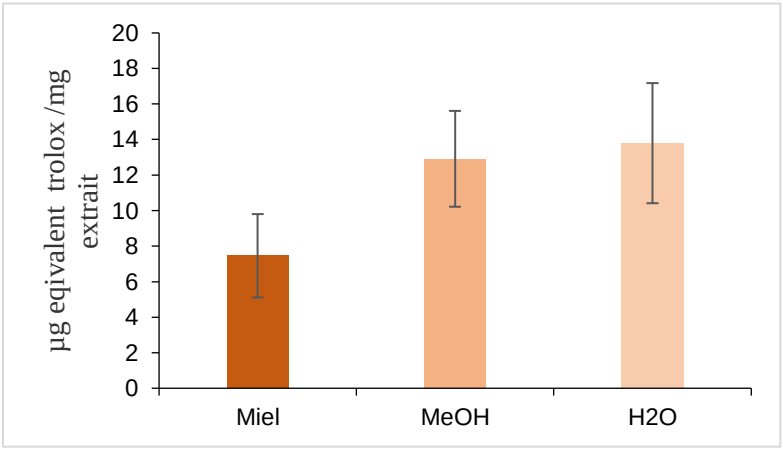
3-2-2 اختبار Phenanthroline

بعد تفاعل الأكسدة والاختزال، يتشكل مركب (Fe^{+2}-phenanthroline) بلون أحمر برتقالي، باستخدام سلسلة تخفيف للحصول على ثلاثة تراكيز (1-0.75-0.25 مجم / مل)، باستعمال منحنى العيارية لمركب (Trolox) الموضح في (الشكل)، تم الحصول على النتائج التالية **(الشكل51).**



شكل51: منحنى معايرة Trolox بـ Phenanthroline

تظهر النتائج الموضحة في الجدول (ملحق 3) قيم النشاط المضاد لأكسدة مركب (Phenanthroline) لكل من عسل الغابة الخام ومستخلصة الميثانولي والمائي على التوالي: (µgTE/mg 2.35±7.46)، (µgTE/mg 2.69±12.91)، (µgTE/mg 3.38±13.8) **(شكل52).**



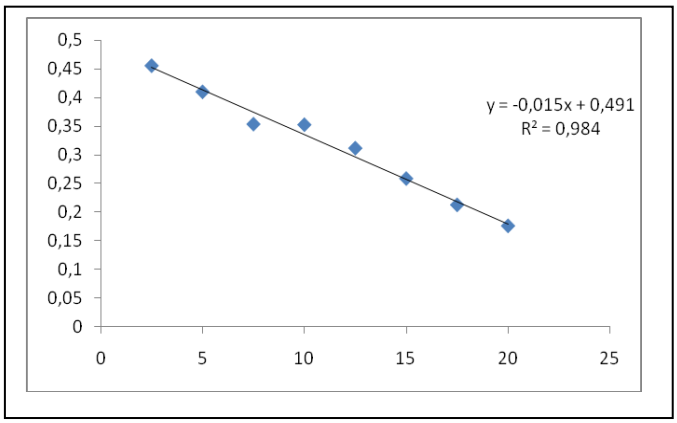
شكل52: النشاط المضاد لأكسدة لPhenanthroline لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي.

النتائج المتحصل عليها توضح أن كل من عسل الغابة ومستخلصه الميثانولي، والمائي له القدرة على ارجاع الحديد وتشكيل معقد (Fe+2-phenanthroline).

حيث أن المستخلص المائي أبدى أعلى قيمة لنشاط (Phenanthroline) بقيمة (µgTE/mg 3.38±13.8)، يليه المستخلص الميثانولي بقيمة مقاربة (µgTE/mg 2.69±12.91)، أكبر مرتين تقريبا من قيمة نشاط (Phenanthroline) الخاصة بعسل الغابة الخام، والتي تقدر بقيمة (µgTE/mg 2.35±7.46).

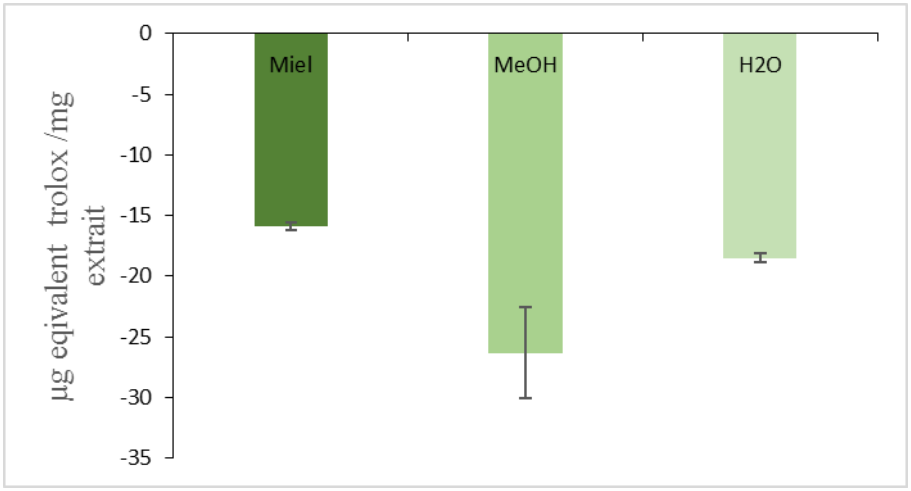
4-2-2 النشاط المضاد للأكسدة لجذر ABTS

في هذا الاختبار، يتفاعل مضاد الأكسدة مع ($ABTS^{\bullet+}$) باللون الأزرق / الأخضر عن طريق نقل الإلكترون لإرجاع ($ABTSH^{\bullet+}$) عديم اللون. باستخدام سلسلة تخفيف للحصول على ثلاثة تراكيز (1-0.75-0.25 مجم / مل)، تمت مراقبة هذا التحول عن طريق قياس الامتصاصية باستعمال منحنى العيارية (Trolox) الموضح في **(الشكل53)**.



كل53: منحنى معايرة Trolox لـ ABTS

بينت النتائج المحصل عليها سلبية النشاط المضاد لأكسدة لجذر ABTS، حيث كانت (µgTE/mg -0.32±15.84) بالنسبة لعسل الغابة الخام، و (µgTE/mg -26.35±3.77) لمستخلصه الميثانولي، أما المستخلص المائي (µgTE/mg -0.37±18.49) **(شكل54)**.

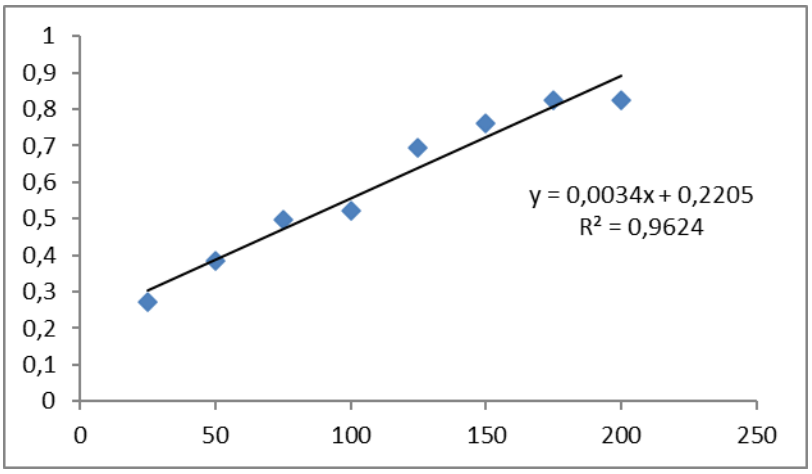


شكل54: النشاط المضاد لأكسدة لABTS لعسل الغابة والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي.

اختلفت نتائجنا مع **(Perna *et al.*,2013)**، و**(Guo *et al.*, 2023)** حيث سجلوا قيم نشاط عالي (58.99±1.28) بالنسبة لعينة **(Perna *et al.*,2013)**، و ما بين 54.73% و 87.57% لعسل **(Guo *et al.*, 2023)** .

5-2-2 تقدير المحتوى الكلي للفينولات

تم تقييم كمية المحتوى الكلي للفينولات في كل عينة من خلال المقارنة بين منحنى معياري لحمض الغاليك وامتصاص كل عينة **(الشكل55).**

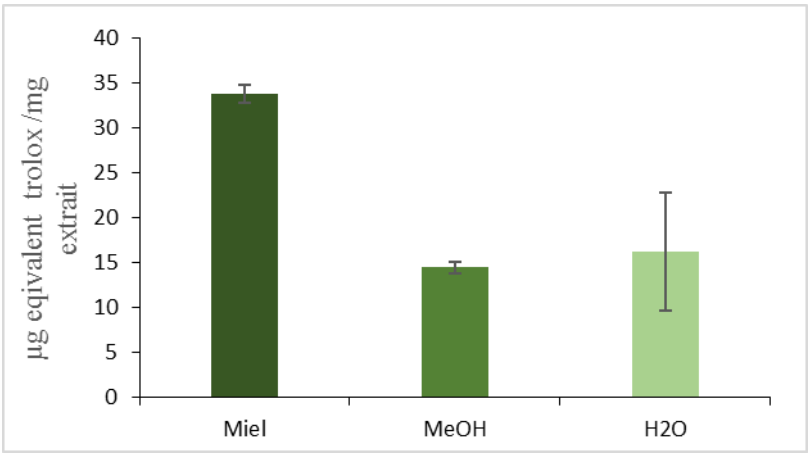


شكل55: منحنى معايرة حمض الغاليك للمحتوى الكلي للفينولات

أوضحت نتائج المحتوى الكلي للفينولات لعسل الغابة الخام نسبة أكبر تقريبا بمرتين من المستخلص المائي والميثانولي (1.01±33.77 µgGAE/mg)، بينما كان هناك تقارب في النتائج بين المستخلص المائي (6.57±16.25 µgGAE/mg)، والميثانولي الذي أوضح (0.67±14.49 µgGAE/mg) **(شكل 56).**

ابدت النتائج المحصل عليها بدراستنا قيم منخفضة مقارنة بتلك التي تحصل عليها **Bakchiche *et al.*, 2017** حيث تم تسجيل كميات مختلفة من البوليفينول تتراوح ما بين 56إلى 172 مجم GAE / جم.

وبالمثل مقارنة مع نتائج **Silvia *et al.*, 2022** الذين وجدوا حيث تراوح محتوى البوليفينول من 350.80 إلى 565.90 مجم GAE / جم.



شكل56: المحتوى الكلي للفينولات لعسل الغابة الخام والمستخلص المائي والمستخلص الميثانولي.

حسب ما أظهرته النتائج المتحصل عليها في النشاطات المضادة للأكسدة نجد أن عسل الغابة له فعالية في النشاط المضاد للأكسدة وذلك راجع لوجود المركبات الفينولية والفلافونويد حيث كانت كمية البوليفينول مرتفعة في عينة عسل الغابة اغام مقارنة بالمستخلص المائي والمستخلص الميثانولي.

يرتبط نشاط العسل المضاد للأكسدة إرتباطا وثيقا بالأحماض الفينولية والفلافونويد في العسل **(Zou *et al*.,2021)**. تمارس البوليفونول نشاطها المضاد للأكسدة بشكل أساسي عن طريق تحييد الجدور الحرة إما بالتبرع بإلكترون أو بذرة هيدروجين من أحد مجموعات الهيدروكسيل **(Cristina *et al*.,2020)**، كما أنها تقلل من إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية، واستعادة نشاط الإنزيمات المضادة للأكسدة وتحسينها و و ظيفة الميتوكوندريا **(Zou *et al*.,2021)**، و منع المؤكسدات من مهاجمة أهدافها الخلوية و كسر سلسلة النشاط المضاد للأكسدة لمنع إنتشار التفاعلات المؤكسدة **(Selfu *et al*.,2017)**. واستخلاب أيون معدني، كما تزيد من كمية ونشاط العوامل المضادة للأكسدة مثل بيتا كاروتين وفيتامين سي واختزال الجلوتاثيون وحمض البوليك **(Ahmed *et al*.,2018)**.

الخاتمة

الخاتمة

العسل هو سائل طبيعي ولزج يتم إنتاجه عن طريق نحل العسل، يتكون من رحيق الزهور أو المن الذي يتم جمعه وتحويله من قبل نحل العسل. يحتوي على العديد من العناصر الغذائية المفيدة مثل السكريات المختلفة كالغلوكوز، والفركتوز، وكذلك الفيتامينات والمعادن والأحماض الأمينية والمواد المضادة للأكسدة. كما يتميز العسل بعدة خصائص فيزيائية-كيميائية منها: الرقم الهيدروجيني، اللون، الحموضة الحرة، محتوى الرماد، الموصلية الكهربائية، محتوى الرطوبة، الدوران المحدد، المحتوى المائي، اللزوجة، الكثافة، معامل الانكسار، الموصلية الحرارية. وله خصائص علاجية حيث تعمل كمضادة للبكتيريا والالتهابات والفطريات ومضادة للأكسدة.

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد النشاط المضاد للأكسدة لعسل الغابة الخام وكلا من مستخلصه الميثانولي والمائي، حيث تم الحصول على هذا العسل من منطقة أكفادو بولاية بجاية والذي تم حصاده سنة 2022، ثم حفظه في زجاجيات بعيدا عن الضوء وبدرجة حرارة الغرفة.

أجريت هذه الدراسة في مركز البحث في البيوتكنولوجيا (قسنطينة) على مستوى مخبر مراقبة الجودة ومخبر الكيمياء الحيوية، أين تم إجراء 5 اختبارات لتقدير النشاط المضاد للأكسدة لعينات العسل المدروسة وهي: اختبار DPPH، واختبار FRAP،ABTS ، وPhenanthroline، وتقيم المحتوى الكلي للفينولات.

يشير التحليل الفيزيو-كيميائي إلى أن العسل الخام والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي تحتوي على مركبات بوليفينول تبلغ 33.77±1.01 GAE / g و 14.49±0.67 GAE / g و 16.25±6.57 GAE / g على التوالي. أظهر العسل والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي الذي تمت دراسة أنشطته المضادة للأكسدة وكانت النتائج كالتالي: اختبار DPPH (µgTE/mg -10,88 ± 5,59)، (µgTE/mg 25,61 ± 1,95)، (µgTE/mg 7,36 ± 1,46). اختبار FRAP (µgTE/mg-13,45 ± 3,95)، (µgTE/mg-3,28 ± 1,51)، (µgTE/mg-12,22 ± 4,71). اختبار ABTS (µgTE/mg -15,84 ± 0,32)، (µgTE/mg -3,77 ± 26,35)، (µgTE/mg -12,22 ± 4,71). اختبار Phenanthroline (µgTE/mg 2,35 ± 7,46)، (µgTE/mg 2,69 ± 12,91)، (13,8 ± 8,38 µgTE/mg)، على التوالي.

النتائج المتحصل عليها، توضح أن المستخلص الميثانولي في اختبار الجذر الحر DPPH قد أبدى نشاط مضاد للأكسدة أكبر مقاربة بعسل الغابة الخام والمستخلص المائي ويمكن أن يرجع ذلك إلى وجود مركبات فينولية مرجعة للجذور الحرة، التي سمحت بإرجاع جذر DPPH.

أما بالنسبة لاختبار Phenanthroline، كانت أعلى قيمة في المستخلص المائي وقد ما يدل هذاعلى أن المستخلص المائي يؤكسد الحديد الثنائي إلى حديد ثلاثي، لمنع حدوث تفاعلات الحديد.

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكن اعتماد العسل كعامل بديل له ان يضمن نشاطا مضادا للأكسدة وذلك لاحتوائه على مجموعة واسعة من المركبات المضادة للأكسدة كالفلافونويدات والفينولات والتي تعمل على محاربة التأكسد وتقليل التلف الناتج عن الجذور الحرة في الجسم مما يساهم في الحفاظ على صحة الجسم وتقليل خطر الإصابة بالأمراض.

ونظرا لأهمية النتائج نقترح مستقبلا:

-إجراء دراسة فيتوكيميائية على عسل الغابة

-إجراء دراسات صيدلانية *in vitro* و *in vivo*

قائمة المراجع

قائمة المراجع

A

Ab Wahab, S. Z ., Hussain, N. H. N., Zakaria, R., Kadir, A. A., Mohmed, N., Tohit.,*et al* (2018). Long-term effects of honey on cardiovascular parameters and anthropometric measurements of postmenopausal women. Complementary therapies in medicine. 41 : 154-160.

Abass, K.; Lämsä, V.; Reponen, P.; Küblbeck, J.; Honkakoski, P.; Mattila., *et al* (2012) Characterization of human cytochrome P450 induction by pesticides. Toxicology, 294, 17–26.

Abdah, M. A., Abduhmannan, F., Haiah, Ab. H., Huzwah, k.,Mohammed, a., Moho, F. Ab., Yazan, R., *et al* (2021). Honey and its nutritional and antiinflammatory value. BMC Complementary Medicine and Therapies, 21 (1), 1-17.

Abselami, A., Tahani, A., Sindic, M., Fauconnier, M. L., Bruneau, E., Elbachiri, A. (2018). Physiochemical properties of Some honeys produced from different flora of eastern marocco. Journal of materials and environmental sciences ,9(3) 879-886.

Achour, H. y., khali, M. (2014). Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. Afrique SCIENCE 10(2) (2014) 127 – 136.

Adams, B. A., Osikabor, B., Olomola, A., Adesope, A. A. A. (2010). Analysis of physical and vhemical composition of honey samples in selected market in ibadan metropolis. Journal of Agriculture and social research (JASR). P 31.

Adams, L., Franco, M. C., Estevez, A. G. (2015). Reactive nitrogen species in cellular signaling. Experimental biology and medicine. 240(6) : 711-717.

Afrin, S., Haneefa, S. M., Fernandez-Cabezudo, M. J., Giampieri, F., Al-Ramadi, B. K., Battino, M. (2019). Therapeutic and preventive properties of honey and its bioactive compounds in cancer : An evidence-based review. Nutrition research reviews, 33(1), 50-76.

Ahmed, M., Djebli, N., Aissat, S., Meslem, A., Benhalima, A. (2012). Antifungal activity of four honeys of differents types from Algeria against pathogenic yeast : Candida albicans and Rhodotorula sp. Asian Pacific journal of Tropical Biomedicine. 2(7) : 554-557.

Ahmed, S., Othman, N. H. (2013). Honey as a potential natural anticancer agent : A review of its mecanisms. Hindawi Publishing Corporation,2013, 1-7.

Ahmed, S., Sulaiman, S. A., Baig, A. A., Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S., … Othman, N. H. (2018). Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018, 1–19.

Algeciras –Schimnich A., Coo W. J., Milz T. C., Saenger A. K., Karon, B. S. (2007). Evaluation of hemoglobin interference in capillary heel-Stick samples collected for determination of neonatal bilirubin. Clinical Biochemistry, 40 : 1311 – 1313.

Allan CB, Lacourciere GM, Stadtman TC. (1999). RESPONSIVENESS OF SELENOPROTEINS TO DIETARY SELENIUM,. Annual Review of Nutrition, 19(1), 1–16.

Almasaudi , S. (2020). The antibacterial activities of honey. Saudi J Biol Sci. 28(4) : 2188-2196.

Alqarni, A. S., Owayss, A. A., & Mahmoud, A. A. (2012). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. Journal of Saudi Chemical Society, 5, 618 – 625.

Alvarez-Suarez J, Giampieri F, Battino M. (2013). Honey as a source of dietary antioxidants : structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. Current medicinal chemistry, 20 : 621-638.

Alvarez-suarez, j. M., Battino, M., Bertoli, E., Romandin, S., Tulipani, S., (2010) Contribution of honey in nutrition and human health : A review. Mediterr J Nutr Metab 3 : 15-23.

Alvarez-Suarez, J.M., Gasparrini, M., Forbes-Herna´ndez, T.Y., Mazzoni, L., & Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: A focus on manuka honey. Foods, 3, 420–432.

Amarowicz, R., Estrella, I., Hernandez, T., Robredo, S., Troszynska, A., Kosinska, A., Pegg, R. (2010). Free radicals-scavenging capacity: antioxidant activity andphenolic composition of green lentil (Lens culinaris); Food Chemistry 121; Ed: ELSEVIER.705-711.

AMENI Djamila. (2016). Thèse de doctorat Effets Antioxydants des Extraits de la plante médicinale Daphne gnidium L. utilisée en Algérie. Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Amri, A.,Ladjama A., Tahar, A. (2007). Etude de quelques miels produits à l'est Algérien : aspect physico-chimique et biochimique. P58.

Ana Karina Aranda-Rivera, Alfredo Cruz-Gregorio, Yalith Lyzet Arancibia-Hernández, Estefani Yaquelin Hernández-Cruz and José Pedraza-Chaverri.(2022). RONS and Oxidative Stress: An Overview of Basic Concepts.Oxygen 2022, 2, 437–478.

Andrés, C.M.C., Pérez de la Lastra, J.M., Andrés Juan, C., Plou, F.J., Pérez-Lebeña, E.(2023) Superoxide Anion Chemistry—Its Role at the Core of the Innate Immunity. Int. J. Mol. Sci. 2023, 24, 1841.)

Anton´, S., Denisow, B., Komon´-Janczara, B.(2017). Floral nectary, nectar production dynamics and chemical composition in five nocturnal Oenothera species (Onagraceae) in relation to floral visitors. Planta.)

Ashok A, Andrabi SS, Mansoor S, Kuang Y, Kwon BK, Labhasetwar V. (2022). Antioxidant Therapy in Oxidative Stress-Induced Neurodegenerative Diseases: Role of Nanoparticle-Based Drug Delivery Systems in Clinical Translation. Antioxidants (Basel), 17;11(2):408. P 8,9.

Atif, A. B., Nighat, S., Nor, H. O., Muhammed, I., sadia, J., Saira, F., *et al* (2018). Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action. Hindawi, oxidative Medicine and cellular longevity.

AU BON MIEL, MIEL DE CHAMPAGNE.2023. https://www.aubonmiel.com/.

Azevedo, M. S., Bergamo, G., Costa,A, C. O., Daguer, H., Fett, R.,Gonzaga, L. V.,Miotto, M., *et al* (2021). Physicochemical mproperties and biological activities of bracatinga honeydew honey from different geographical locations. J food technol, 58(9), 3417–3429.

B

Babior, B.M. NADPH oxidase. (2004) Curr. Opin. Immunol**.** , 16(1), 42 47.

Bakchiche B. Habati M. Benmebarek A.et Gherib Q. (2017) : Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composes phénoliques et pouvoir antioxidant de quatre variétés de miels locales (Algérie).119-120-121.

Bakchiche, B., Habati, M., Benmebarek, A., Gherib, A. (2018). Caractéristiques physico-chimiques, concentration en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locales (Algérie). Rev. Mar. Sci. Agron. Vét. 6(1) : 118-123.

Baker, R.R.; Massey, E.D.; Smith, G. (2004). An overview of the effects of tobacco ingredients on smoke chemistry and toxicity. FoodChem. Toxicol., 42, 53–83.

Ball DW. (2007). The chemical composition of honey. J Chem Educ,84(10): 1643–6.

Balsera M, Buchanan BB. (2019). Evolution of the thioredoxin system as a step enabling adaptation to oxidative stress. Free Radic Biol Med 20;140: 29.

Baroni, M. V., Arrua, C., Nores, M. L., Fayé, P., Díaz, M. D. P. Chiabrando, G. A., Wunderlin, D. A.(2009). Compsition of honey from cordoba (argentina) : Assessment of north/South provenance by chemometrics. Food chemistry, 114 : 727-733.

Bogdanov, S., Jurendic , T., Sieber, R., Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health : A review. Journal of the American college of nutrition, 27 (6) : 677-689.

Bassez, M.-P. (2015). Water, Air, Earth and Cosmic Radiation. Origins of Life and Evolution of Biospheres, *45(1-2), 5–13.*

Beckman, J. S., & Koppenol, W. H. (1996). Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. American Journal of Physiology-Cell Physiology, 271(5), C1424–C1437.

Bee Ling Tan, Mohd Esa Norhaizan, Winnie-Pui-Pui Liew, and Heshu Sulaiman Rahman (2018). Antioxidant and oxidative stress: a mutual interplay in age-related diseases. Frontiers in pharmacology, 9, p13.

Belay, A., Solomon, W. K., Bultossa, Geremew, Adgaba, N., Melaku, S. (2013). Physicochemical properties of the harenna forest honey, Bale, Ethiopia. Food chemistry, 141 : 3386-3392.

Belcher, R. (1973). "Application of chelate Compounds in Analytical Chemistry" Pure and Applied Chemistry. Volume 34. Pages 13-27.

Belhaj,O., Oumato,j., Zrira, Z.(2015). Etude physico-chimique de quelques tympes de miels marocains.Rev. mar. Sci. Agron. Vét.3(3) :71-75.

Bensakhria Ayoub. (2015). Chapiter 09 Stress Oxydatif.P79.

Bergman. (202*1*). Germicidal UV Sources and Systems. Photochemistry and Photobiology, 97(3), 466–470.

Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. World Aller.gy Organization Journal, 5(1), 9-19.

Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. Nature, 4617 (181) : 1119-1200.

Bobis, O., Moise, A. R., Ballesteros, I., Reyes, E. S., Durán, *et al* (2020). Eucalyptus honey: Quality parameters, chemical composition and healthpromoting properties. Food chemistry 325, 126870 .

Bobis, O., Moise, A.R., Ballesteros, I., Reyes, E. S., Durán, S. Z ., Sánchez- Sánchez , J., *et al* (2020). Eucalyptus honey : Quality parameters, chemical compositions and health-promoting properties. Food chemistry, 126870.

Bogdanov, s. (2011). Honey Composition. The Honey Book. Bee Product Science.

Bogdanov, S., Bieri, K., Gremaud, G., Iff, D., Kanzig, A., Seiler, K., *et al* (2004). Produit apicoles. MSDA. P12 .

BONTÉ, F., Desmolière , A.(2013). Le miel : origine et composition. Actualités pharmaceutiques, 52(531), 18–21.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT-Food Science and Technology, 28, 25-30.

Bravo, R.; Vicencio, J.M.; Parra, V.; Troncoso, R.; Munoz, J.P.; Bui, M.; *et al*. (2011). Increased ER–mitochondrial coupling promotes mitochondrial respiration and bioenergetics during early phases of ER stress. J., 124, 2143–2152.

Buádak L, Labuzek K, Buádak RJ, Kozáowski M, Machnik G, Liber S, *et al* (2014). Metformin affects macrophages' phenotype and improves the activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase, catalase and decreases malondialdehyde concentration in a partially AMPK-independent manner in LPS-stimulated human monocytes/macrophages.Pharmacol Rep. 66(3):418-429.

C

Cadehas E and Packer L. (2002). Hand book of antioxydants second and expanded, p. 4.

Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Turumatay, E. A., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An Investigation of turkish honeys : their physico-chimical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. Food Chemistry, 180, 133-109.

Chao, M.-R.; Rossner, P.; Haghdoost, S.; Jeng, H.A.; Hu, C.-W. (2013). Nucleic Acid Oxidation in Human Health and Disease. Oxid. Med. Cell Longev,2013, 368651.

Cherchi, A., Spanedda, L., Tuberoso, C., & Cabra, P. (1994). Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. Journal of Chromatography A, 669, 59-64.

CHERRAK Sabri Ahmed (2017). Etude in vitro.de l'effet antioxydant des complexes Flavonoïdes –Métaux : Relation structure activité. These de doctorat Université de Tlemcen.

Chettoum, A., Feknous, N., Boumendjel, M., Mekhancha, D-E., Boudida, Y., Sedari, A., *et al* (2023). Biological, physicochemical and antibacterial properties of pure honey harvested at the municipality of seraïdi (Annaba, North east of Algeria). Food Science and technology. 43(1), 1-10.

Chisté, R. C., Freitas, M., Mercadante, A. Z., Fernandes, E. (2015). Superoxide anion radical : generation and detection in czllular and non-cellular systems. Current medicial chemistry. 22(37) : 4234-4256.

CHIUEH, C. C. (1999). Neuroprotective Properties of Nitric Oxide. Annals of the New York Academy of Sciences, 890(1 NEUROPROTECTI), 301–311.

Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T. Y., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna,P.P., Battino, M. (2018). Phenolic compounds in honey and their associated health benefits : A review. Molecules, 23(9), 2322.

Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P., *et al* (2018). Phenolic Compounds in Honey and Their Associated Health Benefits: A Review. Molecules, 23(9), 2322.

Cooke, M.S.; Evans, M.D.; Dizdaroglu, M.; Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. FASEBJ. 2003, 17, 1195–1214.

Correia, Ana Salomé, Armando Cardoso, and Nuno Vale. (2023). "Oxidative Stress in Depression: The Link with the Stress Response, Neuroinflammation, Serotonin, Neurogenesis and Synaptic Plasticity" Antioxidants ,12 no. 2: 470.

Cristina, S., Contreras-Martínez, J. P., Macías-Nieves, J. Manuel García-González, V. L., Trejo-Guardado., *et al* (2020). Antioxidant capacity and phenolic content of bee honey produced in zacatecas, Mixico. Artículo científico. 43 (4) : 453-460.

Czapski, G., & Goldstein, S. (1995). The role of the reactions of ·NO with superoxide and oxygen in biological systems: A kinetic approach. Free Radical Biology and Medicine, 19(6), 785–794.

D

Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. Food Chemistry, 196, 309–323.

Das, K., Roychoudhury. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environemental. Frontiers in Environmental science. 2(53) : 1-13.

David J A Jenkins, David Kitts, Edward L Giovannucci, Sandhya Sahye-Pudaruth, Melanie Paquette, Sonia Blanco Mejia, *et al* (2020). Selenium, antioxidants, cardiovascular disease, and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. The American Journal of Clinical Nutrition.

David Njusa, Patrick M. Kelleya, Yi-Jung Tub, H. Bernhard Schlegelb.(2020). Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. Free Radical Biology and Medicine, 159, 37-43.

De Araújo, F. F., de Paulo Farias, D., Neri-Numa, I. A., & Pastore, G. M. (2020). Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. Food chemistry, 127535. p2-3.

Delattre J, Beaudeux JL, Bonnefont-Rousselot (2005). Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier édition TEC et DOC. Paris. 1-405.

Delattre, J., Gardès, M., & Jore, D. (2001). Stress oxydant et diabète sucré. Journal de La Société de Biologie, 195(4), 375–376.

Delescluse, C.; Ledirac, N.; Li, R.; Piechocki, M.P.; Hines, R.N.; Gidrol, X.; Rahmani, R. (2001). Induction of cytochrome P450 1A1 gene expression, oxidative stress, and genotoxicity by carbaryl and thiabendazole in transfected human HepG2 and lymphoblastoid cells. Biochem. Pharmacol. 2001, 61, 399–407.

Di Girolamo, F., D'Amota, A., Righetti, P. G. (2012). Assessment of the floral origin of honey via proteomic tools. Journal of proteomics, 75 : 3688-3693.

Dizdaroglu, M., & Jaruga, P. (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. Free Radical Research, 46(4), 382–419.

Douki, T., & Cadet, J. (1996). Peroxynitrite Mediated Oxidation of Purine Bases of Nucleosides and Isolated DNA. Free Radical Research, 24(5), 369–380.

Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. 82,* 47–95.

Dumanović, J., Nepovimova, E., Natic, M., Kuča, K., Jaćević, V. (2021). The significance of reactive oxygen species and antioxidant concise Overview. Sec. Front. Plant Sci. 11.

Dusek P, Roos P, Litwin T, Schneider S, Flaten T, Aaseth J. (2015). The neurotoxicity of iron, copper and manganese in Parkinson's and Wilson's diseases. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 31 : 193-199.

Dzugan, M., Grabek-lejko, D.,Sowa,P., Tomczyk, M. (2018). Antioxidant activity as biomarker of honey variety. Màlecules, 23, 2069.

E

Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. Archives of Biochemistry and Biophysics, 652, 18–26.

El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D., Shehata, M. G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. Annals of Agricultural Science. 60(2) : 279-287.

Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., et al. (2015). Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. Redox Biol. 6, 183–197.

Eteraf-Oskouei, T., Najafi, M. (2013). Traditional and modem uses of nqtural honey in human diseases : A review. Iranian journal of basic medical sciences, 16(1) 731-742.

Eteraf-Oskouei, T., Najafi, M. (2022). Uses of narurel honey in cancer : An updated revirw. Advanced pharmaceutical bulletin. 12(2) : 248-261.

F

Farias, D. de P., Neri-Numa, I. A., de Araújo, F. F., & Pastore, G. M. (2020). A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. Food Chemistry. 306. p 3-4

Favier, A. (2006). Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64(6), 390–396.

Fiedor, J., and Burda, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. Nutrients 6, 466–488.

Finola, M. S., Lasagno, M. C., Marioli, J. M. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. Food chemistry. 100, 1649-1653.

Forman, H.J., Zhang, H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. Nat Rev Drug Discov 20, 689–709.

Fuad, A. M. A., Anwar, Z. R., Zakaria, A. J., Shahidan, N., Zakaria, Z. (2017). Physicochemical characteristics of malaysian honeys influenced by storage time and temperature. Journal of fundamental and applied sciences. 9(2S) : 841-851.

G

Gangwar, R.S.; Bevan, G.H.; Palanivel, R.; Das, L.; Rajagopalan, S. (2020). Oxidative stress pathways of air pollution mediated toxicity: Recent insights. Redox Biol., 34, 101545.

Genestra, M. (2007). Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Cell. Signal. , 19, 1807–1819.

Georgiadis, N., Tsarouhas, K., Tsitsimpikou, C., Vardavas, A., Rezaee, R., Germanakis, I., … Kouretas, D. (2018). Pesticides and cardiotoxicity. Where do we stand? Toxicology and Applied Pharmacology, 353, 1–14.

Gianazza, E.; Brioschi, M.; Martinez Fernandez, A.; Casalnuovo, F.; Altomare, A.; Aldini, G.; Banfi, C. (2021). Lipid Peroxidation in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases. Antioxid. Redox Signal., 34, 49–98.

Gonzalez-Miret, M. L., Terrab, A., Hernanz, D., Fernandez-Recamales, M. A., J. Heredia, F.(2005). Multivariate correlation between color and mineral composition of honey and by their botanical origine. J. Agric ; Food chem. 53(7) 2575-2580.

H

Hailu D, Belay A .(2020). Melissopalynology and antioxidantproperties used to differentiate Schefflera abyssinica and polyfloral honey. PLoS ONE 15(10):e0240868.

Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). Le stress oxydant. Revue médicale de Liège, 62(10), 628-630.

Halliwell B., Gutteridge J. M. C. (2008). Free Radicals in Biology and Medicine. Fourth Edition. Oxford University Press. Citer dans la Thèse de Doctorat (2015) : Implication du stress oxydant dans plusieurs affections du cheval athlète : revue bibliographique, P. 44-61.

Halliwell, B. (1987). Oxidants and human disease: some new concepts. The FASEB Journal, 1(5), 358–364.

Halliwell, B., Clement, M. V., & Long, L. H. (2000). Hydrogen peroxide in the human body. FEBS Letters, 486(1), 10–13.

Hasanuzzaman M, Bhuyan MHMB, Zulfiqar F, Raza A, Mohsin SM, Mahmud JA, Fujita M, Fotopoulos V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. Antioxidants (Basel). 29;9(8):681. P16.

Hawkins, C. L., & Davies, M. J. (2019). Detection, identification and quantification of oxidative protein modifications. Journal of Biological Chemistry, jbc. REV119.006217.

Hawkins, C.L.; Davies, M.J. (2001). Generation and propagation of radical reactions on proteins. Biochim. Biophys, 1504, 196–219.

Herb, M., & Schramm, M. (2021). Functions of ROS in Macrophages and Antimicrobial Immunity. Antioxidants, 10(2), 313.

Hossain, M. A., Piyatida, P., da Silva, J. A. T., & Fujita, M. (2012). Molecular Mechanism of Heavy Metal Toxicity and Tolerance in Plants: Central Role of Glutathione in Detoxification of Reactive Oxygen Species and Methylglyoxal and in Heavy Metal Chelation. Journal of Botany, 2012, 1–37.

Huchet, E., Coustel, J., Guinot, l. (1996). Les constituants chimique du miel. Méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment ; Ecole nationale supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. France. 16P.

Huy LP, He HG, Huy CP (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. Int J BiomedSci. 4(2): 94.

I

Indriolo, N., Neufeld, D. A., Gerin, M., Schilke, P., Benz, A. O., Winkel, B., … Wyrowski, F. (2015). HERSCHELSURVEY OF GALACTIC OH+, H2O+, AND H3O+: PROBING THE MOLECULAR HYDROGEN FRACTION AND COSMIC-RAY IONIZATION RATE. The Astrophysical Journal, 800(1), 40.

Ischiropoulos, H., & Al-Mehdi, A. B. (1995). Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. FEBS Letters, 364(3), 279–282.

J

Jayaraj, R.; Megha, P.; Sreedev, P. (2016). Review Article. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. Interdiscip. Toxicol. 2016, 9, 90–100.

JIRI, S., MARKETA, R., OLGA, K., PETR, S., VOJTECH, J., LIBUSE, T., *et al* (2010). Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity : Advantages and Disadvantages. Molécules. (15) : 8618-8640.

Johnson RJ, Sautin YY, Oliver WJ, Roncal C, Mu W, Gabriela Sanchez-Lozada L, *et al* (2009). Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? J Comp Physiol B ;179(1):71.

Jones, A., Pravadali-Cekic, S., Dennis, G. R., Bashir, R., Mahon, P. J., & Shalliker, R. A. (2017). Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. Analytica Chimica Acta, 967, 93–101.

Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., Pérez-Lebeňa, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited : outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. Internationalournal of Molecular Sciences. 22(9) : 4642.

Jurado-Sánchez, B., Ballesteros, E., & Gallego, M. (2011). Gas chromatographic determination of 29 organic acids in foodstuffs after continuous solid-phase extraction. Talanta, 84, 924–930.

Justin F. Creeden, Darren M. Gordon, David E. Stec, Terry D. Hinds, Jr.(2020). Bilirubin as a Metabolic Hormone: The Physiological Relevance of Low Levels. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism.320(2), E191-E207. p4

K

Kamal, M. A., klein, p. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. Saudi Journal of biological sciences. 18 : 17-21.

Kamlesh Prasad, Ravneet Kaur and Shubhra Shekhar. (2022). Antioxidant Potential of Fruits and Vegetables.Journal of Clinical Nutrition & Dietetics ISSN 2472-1921.Vol.8 No.1:111.p4-5.

Kang, J. A., Yoon, S. H., Rho, J. K., Jang, B., Choi, D. S., Lee, D.-E., *et al* (2016). Radioprotective effect of hesperetin against γ-irradiation-induced DNA damage and immune dysfunction in murine splenocytes. Food Science and Biotechnology, 25(S1), 163–168.

Kelly F J, Mudway I S. (2003). Protein oxidation at the air-lung interface. Amino Acids. 25: 375-96.

Khlil, M., Moniruzzaman, M., Boukraa, L., Benhanifia, M., Islam, M., Sulaiman, S. A., *et al* (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. Molecules, 17(9), 11199-11215.

Kimeswenger, S., Schwarz, A., Födinger, D., Müller, S., Pehamberger, H., Schwarz, T., *et al* (2016). Infrared A radiation promotes survival of human melanocytes carrying ultraviolet radiation-induced DNA damage. Experimental Dermatology, 25(6), 447–452.

Koechler S.(2015). Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament. these po ur obtenir le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Universite de Lorraine.

Kumar SV, Saritha G, FareedullahMd (2010). Role of antioxidants and oxidative stress in cardiovascular diseases. Annals of Biological Research. 1(3): 161-162.

Kwakman PHS, Zaat SAJ. (2012). Antibacterial components of honey. IUBMB Life. 2012;64(1):48–55.

L

Lakshmi, S.P.; Reddy, A.T.; Kodidhela, L.D.; Varadacharyulu, N.C. (2020). Epigallocatechin gallate diminishes cigarette smoke-induced oxidative stress, lipid peroxidation, and inflammation in human bronchial epithelial cells. LifeSci. 2020, 259, 118260.

Lambeth, J. D., & Neish, A. S. (2014). Nox Enzymes and New Thinking on Reactive Oxygen: A Double-Edged Sword Revisited. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, 9(1), 119–145.

Lanez, T., Rebiai, A.(2014). Comparative study of honey collected from different flora of Algeria. Journal of fundamental and ampplied sciences, 6(1),48-55.

Laube, C. (2022). Honey and is use in cancer therapy. Journal of carcinogenesis & mutagenesis. S 31 :003.

Lazarević, K. B., Jovetić, M. S., & Tešić, Ž. L. (2017). Physicochemical parametres as a tool for the assessement of origin of honey. Journal of AOAC International, 100(4), 840-851.

Les miels monofloraux et polyfloraux [En ligne]. [Consulté en Déc. 2017]. Disponible sur : http://www.guide-du-miel.com/Lemiel/Miels-monofloraux.html.

Lezza, A.; Boffoli, D.; Scacco, S.; Cantatore, P.; Gadaleta, M. (1994). Correlation between mitochondrial DNA 4977-bp deletion and respiratory chain enzyme activities in aging human skeletal muscles. Biochem. Biophys. Res. Commun, 205, 772–779.

Li, H.B., Wong, C.C., Cheng, K.W., Feng, C. (2008). Antioxidant properties in vitro and total phenolic contents in methanol extracts frommedicinal plants. Lebensmittel-Wissenschaft and Technology, 41 : 385-390.

Li, N.; Sioutas, C.; Cho, A.; Schmitz, D.; Misra, C.; Sempf, J.; *et al* (2003). Ultrafine particulate pollutants induce oxidative stress and mitochondrial damage. Environ. Health Perspect, 111, 455–460.dio: 10.1289/ehp.6000

Li, R.; Jia, Z.; Trush, M.A. (2016). Defining ROS in biology and medicine. *React. Oxyg. Species* , *1*, 9.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. (2004). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev ;4(8):118-26.

Lomri. Abderrahim. (2008). Role of reactive oxygen species and superoxide dismutase in cartilage aging and pathology. Future Rheumatol, 3(4). 381-392.

Losada-Echeberría, M., Herranz-López, M., Micol, V., & Barrajón-Catalán, E. (2017). Polyphenols as Promising Drugs against Main Breast Cancer Signatures. Antioxidants, 6(4), 88.

M

Malhotra, J.D.; Kaufman, R.J. (2011). ER Stress and Its Functional Link to Mitochondria: Role in Cell Survival and Death. Cold Spring Harb. Perspect, 3, a004424.

Marc Le Vée. (2015). Thése de dctorat Régulation de l'expression fonctionnelle de transporteurs membranaires dans des cellules hépatocytaires et pulmonaires exposées aux extraits de particules diesel.DE L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1.

Márcio Carocho, Isabel C F R Ferreira (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology, 51, 19.

Marreiro, D., Cruz, K., Morais, J., Beserra, J., Severo, J., & de Oliveira, A. (2017). Zinc and oxidative stress: current mechanisms. Antioxidants 6:24.

Martin K.A., Hwa J. (2012). « Aldose Reductase, Oxidative Stress, and Diabetic Mellitus ». Frontiers in Pharmacology. 3.

Martinoutti, S., Ranzato, E. (2018). Honey, wound repair and regenerative medicine. Journal of functional biomaterials. 9(2) : 34.

MatÉs, J. M., Pérez-Gómez, C., & De Castro, I. N. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. Clinical Biochemistry, 32(8), 595–603.

Mato, I. S., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J. S., & Sancho, M. T. (2006). Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 1541- 1550.

Mazuryk, O., Stochel, G., & Brindell, M. (2020). Variations in Reactive Oxygen Species Generation by Urban Airborne Particulate Matter in Lung Epithelial Cells—Impact of Inorganic Fraction. Frontiers in Chemistry, 8.

Mesele, T. L. (2020). Review on physico-chemical properties of honey in Eastern Africa. Journal of Apicultural Research, 1–13.

Mittal, M.; Siddiqui, M.R.; Tran, K.; Reddy, S.P.; Malik, A.B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. Antioxid. Redox Signal, 20, 1126–1167.

Molan, P., Rhodes, T. (2015). Honey : A biologic wound dressing. HMP global learing network. 27(6) : 141-151.

Monnier, L., & Schlienger, J. L. (2018). Stress oxydant et alimentation. Manuel de nutrition pour le patient diabétique. Elsevier,15.

Mračević, S. D., Krstié, M., Lolié, A.,R ažić, S.,(2020). Comparative study of the chemical composition and biological potential of honey from different regions of Serbia. Microchemical Journal , 152, 104420.

Mukherjee, A.; Agrawal, M. (2017). World air particulate matter: Sources, distribution and health effects. Environ. Chem. Lett, 15, 283–309.

Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT - Food Science and Technology, 43: 992–999.

N

Nadia Dekdouk, Nicola Malafronte, Daniela Russo, Immacolata Faraone, Nunziatina De Tommasi, Souad Ameddah, *et al* (2015). Phenolic Compounds from Olea europaea L. Possess Antioxidant Activity and Inhibit Carbohydrate Metabolizing Enzymes In Vitro - Evidence Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2015, Article ID 684925, 9 pages.

Nascimento, K. S. do, Gasparotto Sattler, J. A., Lauer Macedo, L. F., Serna González, C. V., Pereira de Melo, I. L., da Silva Araújo, E., … de Almeida-Muradian, L. B. (2018). Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian Apis mellifera honeys. LWT, 91, 85–94.

Nguyen, H. T. L ., Panyoyai, N., kasapis, S., Pang, E ., Mantri, N.(2019). Honey and its role in relieving multiple facets of atherosclerosis. Nutrients.

Niu, P. Y., Niu, Q., Zhang, Q. L., Wang, L. P., He, S. C., Wu, T. C., … Boscolo, P. (2005). Aluminum Impairs Rat Neural Cell Mitochondria In Vitro. International Journal of Immunopathology and Pharmacology, 18(4), 683–689.

Nordin, A., Sainik, N, Q, A, V., Chowdhury, S. R., Bin-Saim, A., Idrus ; R. B. H. (2018). Physicochemical properties of stingless bee honey from around the globe : A comprehensive review. Journal of food coposition and anaysis, 73 : 91-102.

Nweze, A. J., Olovo, C. V., Nweze, E. I., John, O. O., & Paul, C. (2020). Therapeutic properties of honey. *Honey Anal. New Adv. Chall*, *332*, 1-21.

O

Oryan, A., Alemzadeh, E., & Moshiri, A. (2016). Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing : A narrative review and meta-analysis . Journal of tissue viability, 25(2), 98-118.

P

Paithankar, J. G., Saini, S., Dwivedi, S., Sharma, A., & Chowdhuri, D. K. (2020). Heavy metal associated health hazards: An interplay of oxidative stress and signal transduction. Chemosphere, 128350.

Pascual-Ahuir Amparo., Manzanares-Estreder Sara., Proft Markus. (2017). Pro- and Antioxidant Functions of the Peroxisome-Mitochondria Connection and Its Impact on Aging and Disease ; Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity, P : 17.

Patel, R., Rinker, L., Peng, J., Chilian, W. M. (2017). Reactive oxygen species : the good and the bad. Chapter metrics overview.

Pham-Huy, L.A., He, H. and Pham-Huy, C. (2008). Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. International Journal of Biomedical Science, 4(2), 93.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2014). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. Indian Journal of Clinical Biochemistry, 30(1), 11–26.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., Periyasma, L. (2015). Free radicals : properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian journal of clinical biochemistry. 30(1) : 11-26.

Phaniendra, A., Jestadi, D. B., Periyasma, L. (2015). Free radicals : properties, sources, targets, and their implication in various diseases. Indian journal of clinical biochemistry. 30(1) : 11-26.

Piotr, S. (2017). Antimicrobial activity of honey. Chapter Metrics Overview.

Pisoschi AM, Pop A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. Eur J Med Chem. 5;97:63.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., … Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, 1–13.

Polychniatou, V., & Tzia, C. (2018). Evaluation of surface-active and antioxidant effect of olive oil endogenous compounds on the stabilization of water-in-olive-oil nanoemulsions. Food Chemistry, 240, 1146–1153.

Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. Physiological Reviews, 88(4), 1243–1276.

Prodolliet, J., Hischenhuber, C.(1988). Food authentication by carbohydrate chromatography. Z Lebensm Unters Forsch, 207 :1–12.

Puther J.T. (2016). Antioxidants and cellular antioxidation mechanism in plants. South Indian Journal of Biological Sciences. 2(1): 14-17.

R

Rahman K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. Clinical Interventions in Aging. 2(2):225-226.

Rahman MM, Rahaman MS, Islam MR, Rahman F, Mithi FM, Alqahtani T, *et al* (2021).Role of Phenolic Compounds in Human Disease: Current Knowledge and Future Prospects. Molecules. 30;27(1):233.

Rahman, T. , Hosen, I. , Islam, M. and Shekhar, H. (2012). Oxidative stress and human health. Advances in Bioscience and Biotechnology, 3, 999.

Rai, Y., Anita, Kumari, N., Singh, S., Kalra, N., Soni, R., & Bhatt, A. N. (2020). Mild mitochondrial uncoupling protects from ionizing radiation induced cell death by attenuating oxidative stress and mitochondrial damage. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 148325.

Rajendran, P., Nandakumar, N., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadhas, E. N., Lakshminarasaiah, *et al* (2014). Antioxidants and human diseases. Clinica Chimica Acta, 436, 332–347.

Ranjbar, A., Pasalar, P., Sedighi, A., & Abdollahi, M. (2002). Induction of oxidative stress in paraquat formulating workers. Toxicology Letters, 131(3), 191–194.

Ranneh, Y., Akim, A. M., Hamid H. Ab., Khazaai, H., Fadel, A., Zakaria, Z. A., Albujja, M., *et al* (2021). Honey and its nutritional and anti-inflammatory value. BMC Complementary medicine and therapies. 1-17.

Rasheed O. Sule ,Liam Condon, and Aldrin V. Gomes.(2022). A Common Feature of Pesticides: Oxidative Stress—The Role of Oxidative Stress in Pesticide-Induced Toxicity.Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2022, Article ID 5563759, P 2.

Ratiu, I. A., Al-Suod, H., Bukowska, M., Ligor, M., & Buszewski, B. (2020). Correlation study of honey regarding their physicochemical properties and sugars and cyclitols content . Molecules, 25(1), 34.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cationdecolorizationassay. Free Radical Bio. Med. 26, 1231–1237.

Rosatella, A. A., Simeonov, S. P., Frade, R. F., Afonso, C. A. (2011). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform : biological properties , synthesis and synthetic applications. Green Chem 13 :754-793.

Rossant A. (2011). Le miel, un compose complexe aux proprietes surprenantes. These obtenir le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie. Universite de Limoges.

Royo, V.d.A.; Oliveira, D.A.d.; Veloso, P.H.F.; Sacramento, V.d.M.; Olimpio, E.L.A.; Souza, L.F.d.; *et al* (2022). Physicochemical Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Honeys Produced in Minas Gerais (Brazil). Antibiotics, 11, 1429.

S

Sanders, L. H., & Timothy Greenamyre, J. (2013). Oxidative damage to macromolecules in human Parkinson disease and the rotenone model. Free Radical Biology and Medicine, 62, 111–120.

Saxena, M., Saxena, J., Pradhan, A. (2012). Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 16(2), 131-132.

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Critical reviews in food science and nutrition, 45(4), 287-306.

Schell, K. R., Fernandes, K. E., Shanahan, E., Wilson, I., Blair, S. E., Carter, D. C., Cokcetin, N. N. (2022). The potential of honey as a prebiotic food to re-engineer the gut microbieme toward a healthy state. Frontiers in nutrition.9 : 957932.

Seifu, D., Assefa, F., Abay, S. M., (2012). Medicinal plants as antioxidants agents : Understanding their mecanism of action and therapeutique efficacy. Research Signpost, 97-145.

Shaban, N. Z., Ahmed Zahran, A. M., El-Rashidy, F. H., & Abdo Kodous, A. S. (2017). Protective role of hesperidin against γ-radiation-induced oxidative stress and apoptosis in rat testis. Journal of Biological Research-Thessaloniki, 24(1).

Shapla, U. M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M. I., Gan, S. H. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products : effects on bees and human health. Chemistry central Journal, 12(1) 1-18.

Sharma, J. N., Al-Omran, A., & Parvathy, S. S. (2007). Role of nitric oxide in inflammatory diseases. Inflammopharmacology, 15(6), 252–259.

Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. Journal of Botany, 2012, P11.

Siddiqui, K., Bawazeer, N., and Scaria Joy, S. (2014). Variation in macro and trace elements in progression of type 2 diabetes. Sci. World J. 2014, article ID 461591, p5-6.

Sifuentes-Franco, S., Pacheco-Moisés, F. P., Rodríguez-Carrizalez, A. D., and Miranda-Díaz, A. G. (2017). The role of oxidative stress, mitochondrial function, and autophagy in diabetic polyneuropathy. J. Diabetes Res. 2017, article ID 1673081, 15 pages.

Silva, P.M., Gauche, C., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C., Fett, R. (2015). Honey: Chemical composition, stability and authenticity, Food Chemistry.

Singleton V.L and Rossi J.A.J. (1965). Colorimetry of total phenolics withphosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.Amer. J. Enol. Viticult. 16:144-58.

Sorg, O. (2004). Oxidative stress : a theoretical model or a biological reality ? C. R. Biologies 327 (2004). 649-662.

Soumboudou, M., Dieng, S.M., Coly, N. F., Djiboune, A. R., Sy Papa, M., Diouf, L. A. D., *et al* (2022). Physiochemical properties of some honeys sold in different places in dakar. European jpurnal of biophysics, 10(2) : 16-20.

Stavropoulou, E., Leronymaki, E., Dimitroulia, E., Constantinids, T. C., Vrioni, G., Tsatsanis, C., Tsakris, A. (2022). Anti-inflammatory and antibacterial effects and mode of action of Greek arbutus, chestnut, and fir honey in mouse models of inflammation and sepsis. Microorganisms, 10(12), 2374.

Stechmiller, Joyce & Childress, Beverly & Porter, Tricia. (2004). Arginine Immunonutrition in Critically Ill Patients: A Clinical Dilemma. American journal of critical care : an official publication, American Association of Critical-Care Nurses. 13. 17-23.

Stelmach, I., Grzelewski, T., Bobrowska-Korzeniowska, M., Kopka, M., Majak, P., Jerzynska, J., *et al*. (2014). "The role of zinc, copper, plasma glutathione peroxidase enzyme, and vitamins in the development of allergic diseases in early childhood: The Polish mother and child cohort study", in: Allergy and asthma proceedings. (OceanSide Publications, Inc), 227–232.

Suescun, L., Vit, Patricia. (2008). Contrôle de calidad de la miel de abejas producida como propuesta para un proyecto de servicio comunitario obligatorio. Fuerza Farmacéutica . P9-12.

Szydlowska-Czerniaka A, Dianoczki C, Recseg K, Karlovits G,SzlykE. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils byferric-ion spectrophotometric methods. Talanta 2008;76:899-905.

T

Tafere, D.A. (2021). Chemical composition and uses of Honey : A Review. J Food Sci Nutr Res. 4 (3): 194-201.

Taiki Miyazawa, Gregor C. Burdeos, Mayuko Itaya, Kiyotaka Nakagawa ,Teruo Miyazawa. (2019). Vitamin E: regulatory redox interactions. IUBMB life, 71(4), p6.

Tashkandi, H. (2021). Honey in wound healing : An updated review. Journal Open Life Sciences.

V

Valeria Conti, Viviana Izzo, Graziamaria Corbi, Giusy Russomanno, Valentina Manzo, Federica De Lise, *et al* (2016). Antioxidant supplementation in the treatment of aging-associated diseases. Frontiers in pharmacology, 7, 24. p6.

Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.; Mazur, M.; Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2007, 39, p51.

Villalpando-Rodriguez, G. E., Gibson, S. B. (2020). Reactive oxygen species (ROS) regulates different types of cell death by acting as a rheostat. Molecular basis of redox signalling 2020.

Vranić, A., Petronijević, R., Dinović Stojanović, J., Korićanac, V., Babić Milijašević, J., Milijašević , M. (2017). Physicochemical properties of honey from serbia in the period 2014-2016. IOP Conf. Series : Earth and environmental Science 85 (2017) 012058.

W

Wallace, D.C. (2012). Mitochondria and cancer. Nat. Rev. Cancer 2012, 12, 685–698.

William R. (2013). Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants. Thèse de Doctorat de l'Université de Toulouse. P : 53.

Winterbourn, C. C., & Kettle, A. J. (2000). Biomarkers of myeloperoxidase-derived hypochlorous acid. Free Radical Biology and Medicine, 29(5), 403–409.

Won, S. A., Li, C., Kim, J., & Rhee, H. (2009). Immunological characterization of honey major protein and its application. Food Chemistry, 113, 1334–1338.

X

Xiong, Y., Uys, J. D., Tew, K. D., & Townsend, D. M. (2011). S-Glutathionylation: From Molecular Mechanisms to Health Outcomes. Antioxidants & Redox Signaling, 15(1), 233–270.

Y

Yarru, L. P., Settivari, R. S., Gowda, N. K. S., Antoniou, E., Ledoux, D. R., & Rottinghaus, G. E. (2009). Effects of turmeric (Curcuma longa) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant, and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. Poultry Science, 88(12), 2620–2627.

Ying Zhang, Yeon Jin Roh, Seong-Jeong Han, Iha Park , Hae Min Lee, Yong Sik Ok ,Byung Cheon Lee , *et al* (2020). Role of selenoproteins in redox regulation of signaling and the antioxidant system : A review. Antioxidants, 9(5), 4-5.

Youdim KA, McDonald J, Kalt W, Joseph JA. (2002). Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults (small star, filled). J Nutr Biochem. 13(5):283.

Z

Zarei, M., Fazlara, A., Tulabifard, N. (2019). Effect of thermal treatment on physicochemical and antioxidant properties of honey. Heliyon 5(2019) e01894.

Zhang, J., Wang, Y., Luo, N., Chen, Z., Wu, K., & Yin, G. (2015). Redox inactive metal ion triggered N-dealkylation by an iron catalyst with dioxygen activation: a lesson from lipoxygenases. Dalton Transactions, 44(21), 9847–9859.

Zorova, L.D.; Popkov, V.A.; Plotnikov, E.Y.; Silachev, D.N.; Pevzner, I.B.; Jankauskas, S.S.; *et al.* (2018). Mitochondrial membrane potential. Anal. Biochem. 2018, 552, 50–59.

Zou, S., Tao, H., Chang, Y. N. (2021). Characterization of antioxidant activity and analysis of phenolic acids and flavonoids in linden honey. Food science and technology.

ملحق

ملحق

ملحق1 : النشاط المضاد للأكسدة لجذر DPPH للعسل الخام والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي

	DPPH
Miel	-10.88±5.59
MeOH	25.61±1.95
H_2O	7.36±1.46

ملحق2: النشاط المضاد للأكسدة لعسل الغابة الخام والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي.

	FRAP
Miel	-13.45 ±3.95
MeOH	-3.28 ±1.51
H_2O	-12.22 ±4.71

ملحق3 : نشاط Phenanthroline لعسل الغابة الخام ومستخلصه الميثانولي و المائي

	Phenanthroline
Miel	7.46±2.35
MeOH	12.91±2.69
H_2O	13.8±3.38

ملحق4: قيم النشاط النشاط المضاد للأكسدة لجذر ABTSلكل من عسل الغابة الخام والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي.

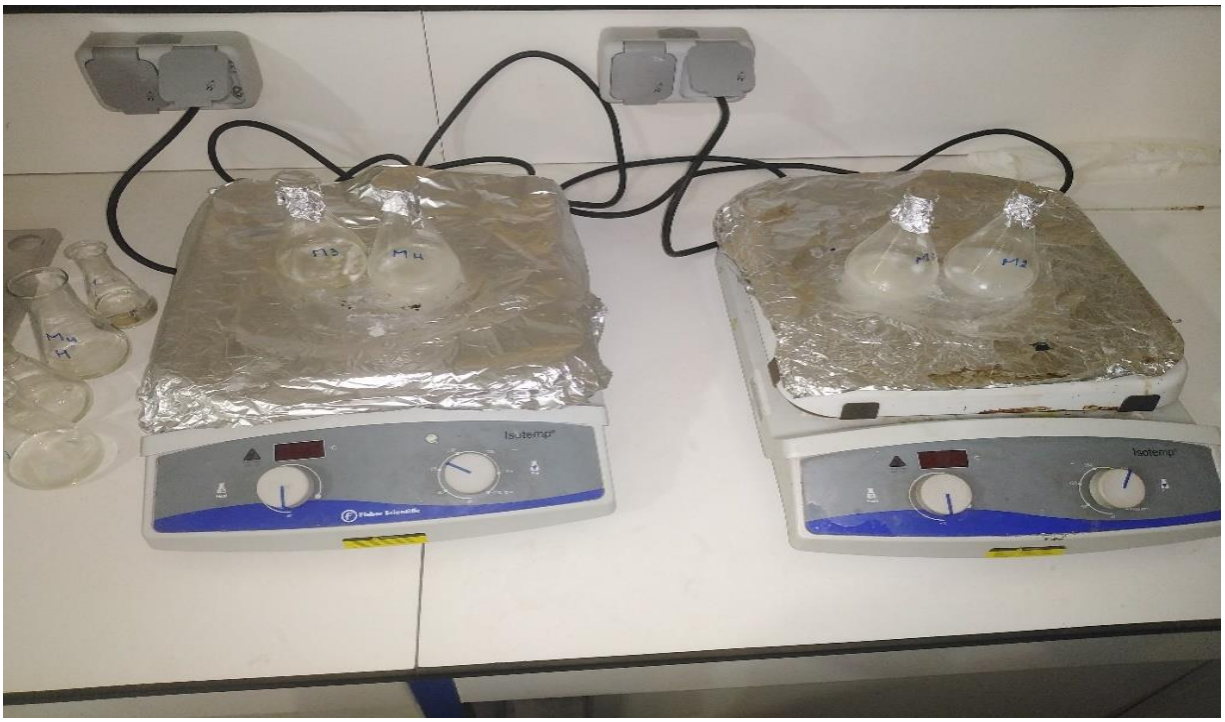
	ABTS
Miel	-15.84±0.32
MeOH	-26.35±3.77
H_2O	-18.49±0.37

ملحق5 : المحتوى الكلي للفينولات لعسل الغابة الخام و المستخلص المائي و المستخلص الميثانولي.

	TCA
Miel	50.47±29.55
MeOH	14.49±0.67
H_2O	16.25±6.57

ملحق6: حاضنة حرارية (étuve)

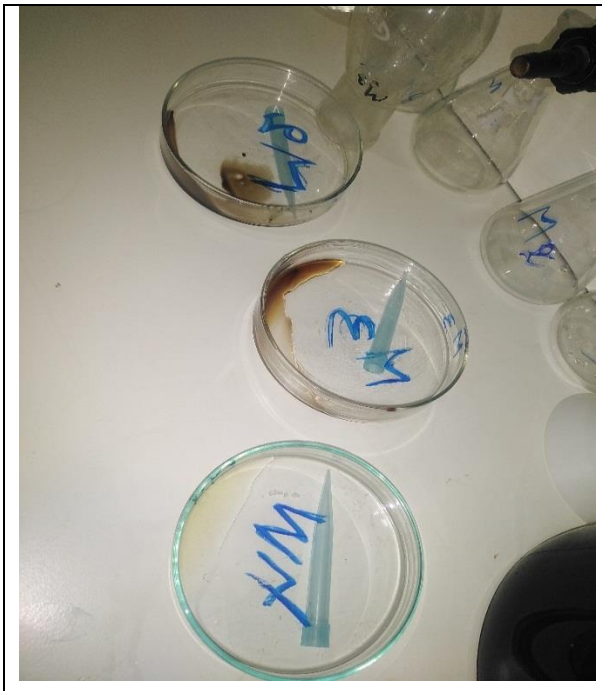
ملحق7: مبخر(rotavapor)



ملحق8: المحرك المغناطيسي

ملحق9: جهاز قراءة الصفيحة الدقيقة

ملحق10: حمام مائي

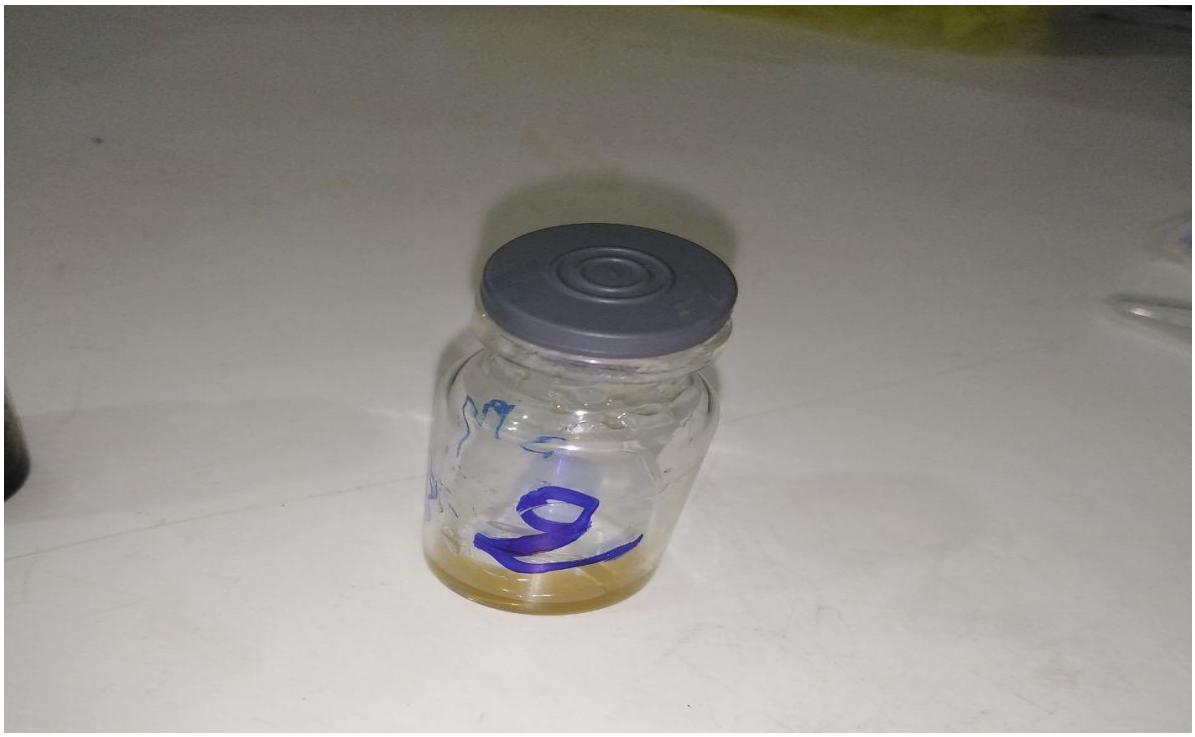


ملحق11: عملية الترشيح والتجفيف

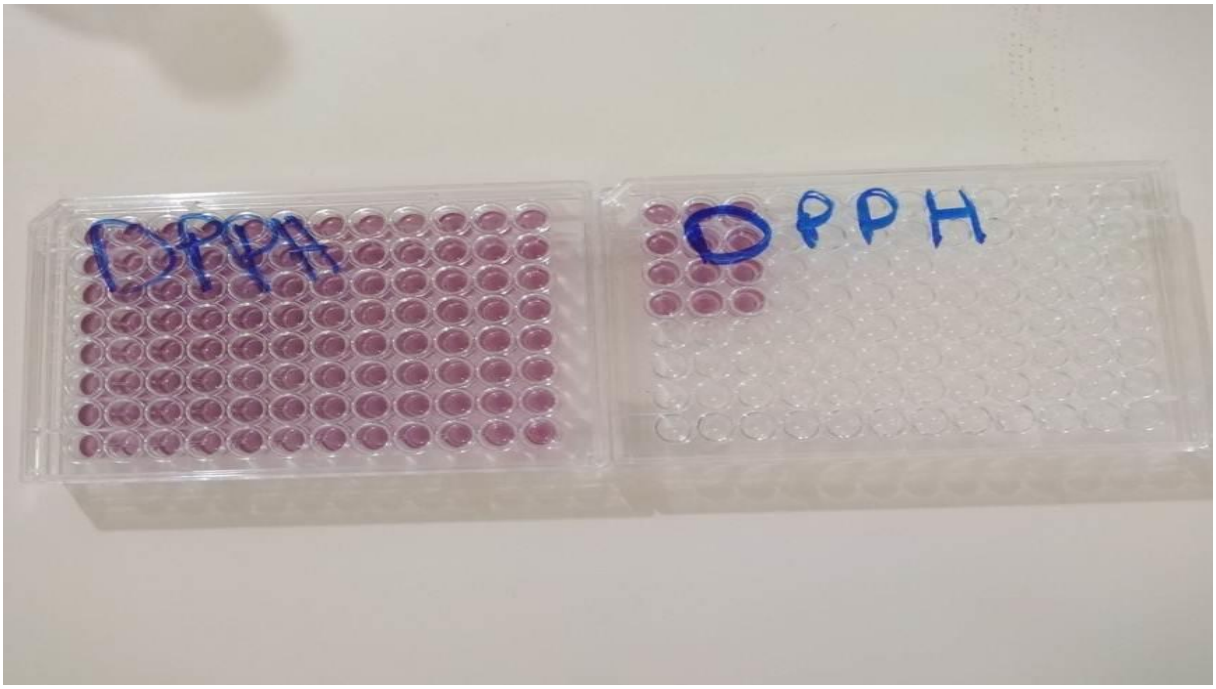
ملحق12: وزن المستخلصات

ملحق13: عينة عسل الغابة

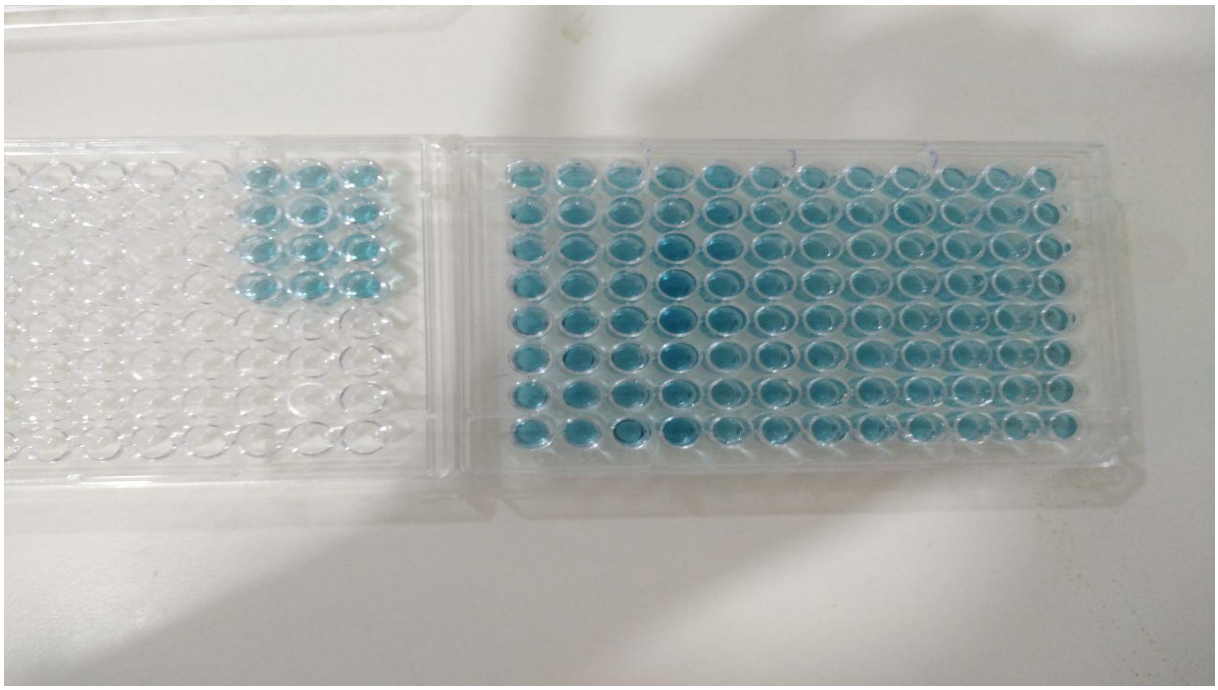
ملحق14: المستخلص الميثانولي لعسل الغابة



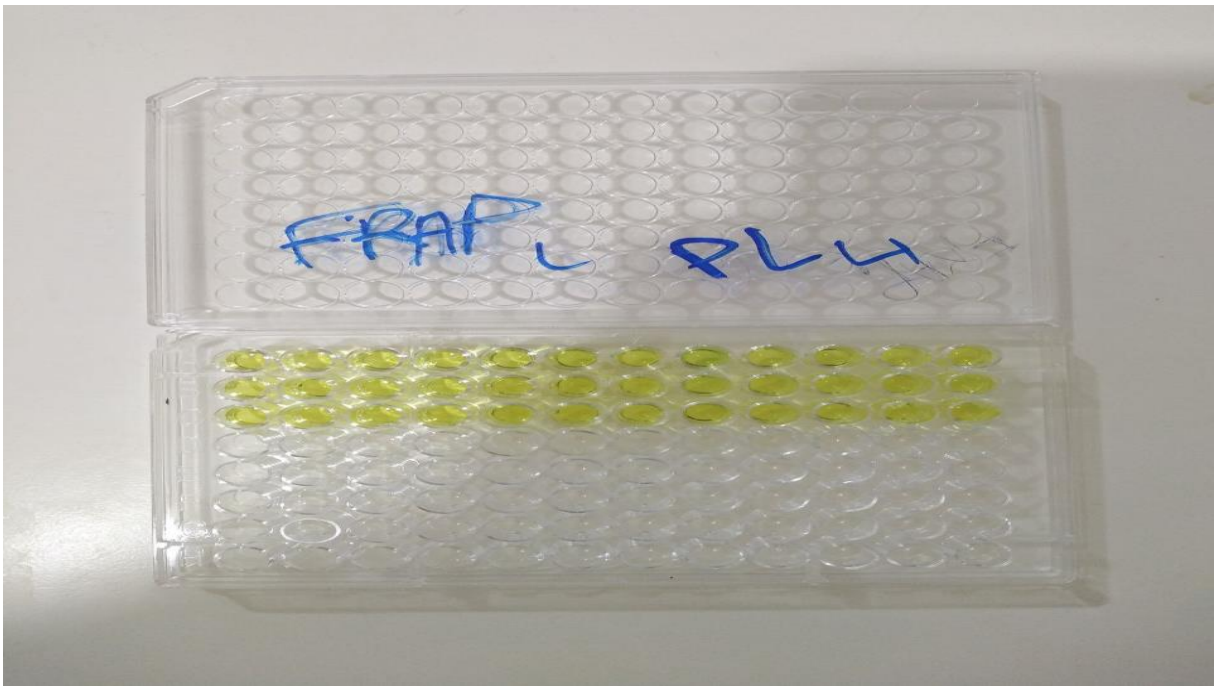
ملحق15: المستخلص المائي لعسل الغابة



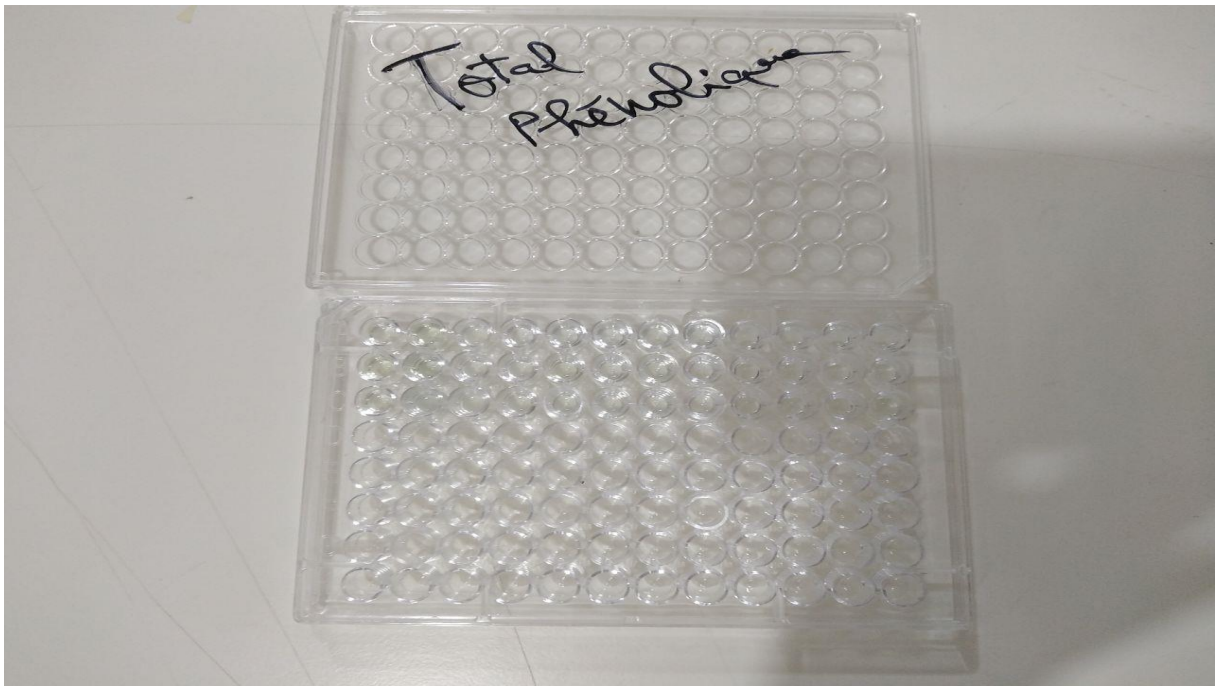
ملحق16: صفيحة اختبار DPPH



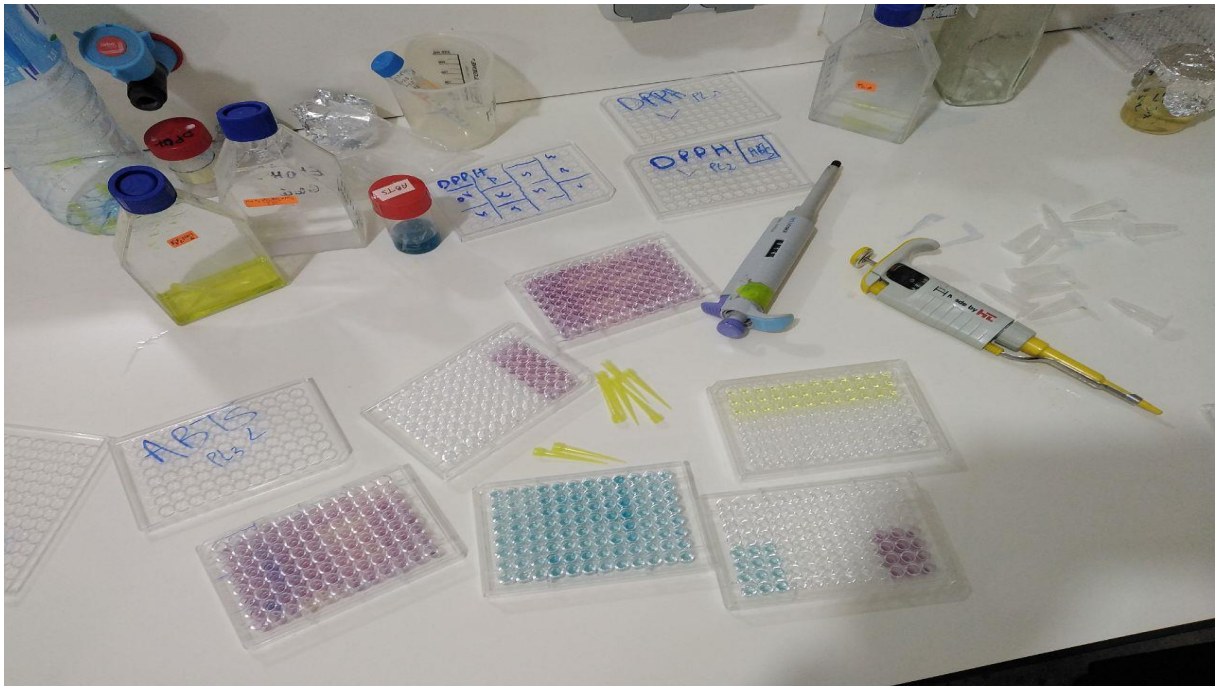
ملحق17: صفيحة اختبار ABTS



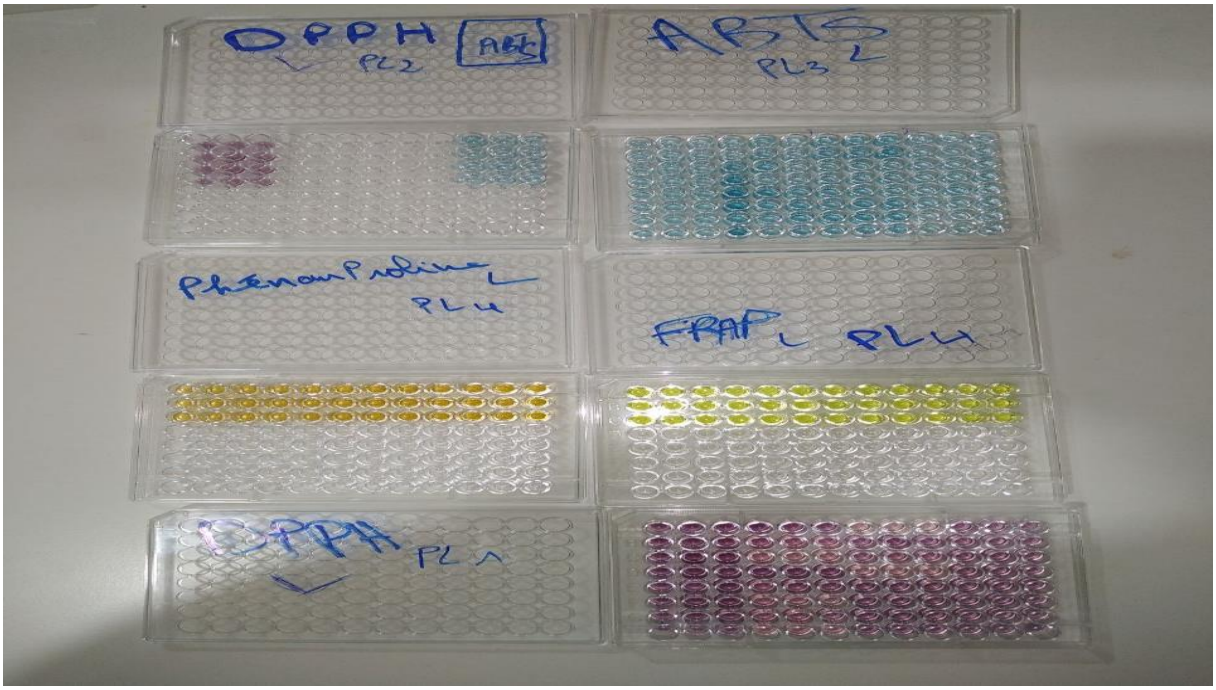
ملحق18: صفيحة اختبار FRAP



ملحق19: صفيحة اختبار المحتوى الكلي للفينولات



ملحق20: صفائح جميع اختبارات



ملخص

ملخص:

في العمل هذا، عينة من عسل الغابة متعدد الأزهار تم جمعها من منطقة أكفادو بولاية بجاية. تم تجهيز مستخلصين أحدهما ميثانولي والآخر مائي.

يشير التحليل الفيزيو-كيميائي إلى أن العسل الخام والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي تحتوي على مركبات بوليفينول تبلغ 33.77±1.01 GAE / g و14.49±0.67 GAE / g و16.25±6.57 GAE / g على التوالي. يظهر العسل والمستخلص الميثانولي والمستخلص المائي الذي تمت دراسة أنشطته المضادة للأكسدة تتراوح من 7.36 إلى 25.61 جم لاختبار DPPH، ومن 13.45- إلى 3.28 - لاختبار FRAP ومن 18.49- إلى 3.77- لاختبار ABTS ومن 7.46 إلى 13.8 لاختبار phenanthroline. يظهر المستخلص الميثانول تأثيرا مضادا للأكسدة بينما يشير المستخلص الماء إلى نشاط مضاد للأكسدة ضد Fe^{+2}. تؤكد هذه النتائج الدور المضاد للأكسدة لعسل الغابات وهذه المستخلصات.

Summary

In the present work, a sample of multifloral forest honey collected from the Akfadou region, Bejaia state. Two entrances have been prepared, one is methanoic, the other is watery.

Phytochemical analysis indicates that crude honey, methanoic extract and water extract have polyphenol contents of 33.77±1.01 GAE/g, 14.49±0.67 GAE/g and 16.25±6.57 GAE/g successively. The honey, methanolic extract and water extract studied show antioxidant activities ranging from 7.36 to 25.61 g for the DPPH test, and from 13.45- to 3.28- for the FRAP test and from 18.49- to 3.77 for the ABTS test and from 7.46 to 13.8 for the phenyl test. The methanolic extract shows a reducing antioxidant effect while the water extract signals antioxidant activity against Fe^{+2}. These results confirm the antioxidant role of forest honey and these extracts.

Résumé

Dans le présent travail, un échantillon de miel de forêt multifloral collecté de la région d'Akfadou, état de Bejaia. Deux entraits ont été préparés, l'un est méthanoïque, l'autre est aquatique.

L'analyse phyto-chimique signale que le miel brute, l'extrait méthanoïque et l'extrait hydrique présentent des teneurs en polyphénols de 33.77±1.01 GAE/g, 14.49±0.67 GAE/g et de 16.25±6.57 GAE/g successivement. Le miel, l'extrait methanolique et l'extrait hydrique étudiés présentent des activités antioxydantes qui varient de 7,36 à 25,61g pour le test de DPPH, et de 13,45- à 3,28- pour le test de FRAP et de 18.49- à 3.77 pour le test de ABTS et de 7.46 à 13.8 pour le test phenyl. L'extrait methanolique montre un effet antioxydant réducteur par contre l'extrait hydrique signale une activité antioxydante contre le Fe^{+2}. Ces résultats confirment le rôle antioxydant du miel de forêt et ces extraits.

السنة الجامعية: 2023/2022	**من اعداد:** ضبابعة لجين بوقطة شيماء بلعيادي ملاك

دراسة تأثير النشاط المضاد للأكسدة للعسل

مذكرة التخرج لنيل شهادة الماستر في علم السموم.

ملخص:

الهدف من دراستنا هو تقييم نشاط مضادات الأكسدة في عسل الغابة، المتحصل عليه من منطقة أكفادو ولاية بجاية، الذي تم حصاده سنة 2022، وتم حفظها في زجاجيات بعيدا عن الضو وبدرجة حرارة الغرفة.

في بداية هذه الدراسة تم الاعتماد على ثلاث مستخلصات لعسل الغابة، هذا بغرض إظهار وتقييم التأثير المضاد للأكسدة للعسل الخام، والمستخلص الميثانولي، والمستخلص المائي. وكذلك قياس كمية المحتوى الكلي للفينولات. وذلك من خلال طريقة التكافؤ، حيث تم التعبيرعن النتيجة بتكافؤ Trolox، تتمثل المركبات المرجعية التي تم استخدامها في دراسة النشاط البيولوجي (Trolox، حمض الغاليك). كانت نتائج اختبارات أنشطة مضادات الأكسدة DPPH، FRAP، Phenanthroline، ABTS كالتالي:

اختبار DPPH: سجل أعلى قيمة له في المستخلص الميثانولي (25,61 ± 1,95 µgTE/mg).

اختبار FRAP: لم يتم تسجيل أي نشاط في المستخلصات الثلاث.

اختبار Phenanthroline: سجل أعلى قيمة له في المستخلص المائي (13.8±3.38 µgTE/mg).

اختبار ABTS: لم يتم تسجيل أي نشاط في المستخلصات الثلاث.

وبالنسبة لتحديد محتوى البوليفينول بعسل الغابة الخام والمستخلص المائي والميثانولي فقد سجل أعلى لكمية الفينولات في عينة عسل الغابة الخام (33.77±1.01 µgGAE/mg).

وبالتالي سمحت نتائج هذه الدراسة بالتأكد من أن عسل الغابة يحتوي على نشاط مضاد للأكسدة، يرجع ذلك لمكوناته المتمثلة في المركبات الفينولية.

الكلمات المفتاحية: الإجهاد التأكسدي، مضادات الأكسدة، العسل، المركبات الفينولية، الفلافونويد.

مختبر الأبحاث: مخبر مراقبة الجودة، مخبر الكيمياء الحيوية، بمركز البحث في البيوتكنولوجيا قسنطينة.

رئيس اللجنة: البروفيسور مناد أحمد	أستاذ التعليم العالي	جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1.
المشرفة: الأستاذة دكدوك نادية	أستاذة محاضرة ب	جامعة مصطفى بن بولعيد باتنة 2.
الممتحنة: الأستاذة عثماني- مرابط غنية	أستاذة محاضرة أ	جامعة صالح بوبنيدر قسنطينة 3.