الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**République Algérienne Démocratique et Populair**

**وزارة التعليم العالي والبحث العلمي**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**


**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie** — **كلية علوم الطبيعة والحياة**

**Département de : Biologie Animal** — **قسم بيولوجيا الحيوان**

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

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master**

**مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر**

**ميدان** : علوم الطبيعة و الحياة

**الفرع** : علوم البيولوجيا

**التخصص** : علم السموم

**تحت عنوان**

---

# دراسة التأثير المضاد للأكسدة لعسل اللبينة أحادي الأزهار

---


**من اعداد:**

**بن قولي ذكرى** — **بوقرة رحمة** — **هرنون شروق**


**لجنة المناقشة:**

| | | |
|---|---|---|
| **رئيس اللجنة**: الأستاذ مناد أحمد | أستاذ التعليم العالي | جامعة الإخوة منتوري قسنطينة1 |
| **المشرفة**: الأستاذة دكدوك نادية | أستاذ محاضر (قسم ب) | جامعة شهيد مصطفى بن بولعيد باتنة2 |
| **الممتحن**: الأستاذة عتماني مرابط غنية | أستاذ محاضر (قسم أ) | جامعة صالح بوبنيدر قسنطينة 3. |

**السنة الجامعية 2023/2022**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ
دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴾(١١)

**الآية 11 سورة المجادلة**

صدق الله العظيمَ

# الشكر والتقدير

الشكر لله أولا وأخرا كما ينبغي لجلال وجهه وعظيم سلطانه على منحنا القوة والصبر للقيام بهذا العمل الذي يترجم ثمرة مجهود خمس سنوات في "الجامعة".

نود أن نشكر الدكتورة الفاضلة والقديرة دكدوك نادية أستاذة محاضرة بجامعة الشهيد مصطفى بن بولعيد باتنة 2 على جودة إشرافها الإستثنائي و صبرها و دقتها و توافرها أثناء إعدادنا لهذا البحث العلمي فجزاها الله عنا كل خير .

الشكر الجزيل إلى من حملوا أقدس رسالة في الحياة إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع أساتذتنا الأفاضل طوال الخمس سنوات بالجامعة .

نود أن نشكر بحرارة رئيس مختبر الكيمياء الحيوية في مركز أبحاث التكنولوجيا الحيوية CRBt بن سويسي شوقي لقبولنا في مختبره وتوجيهنا خلال فترة ممارستنا، وفريق البحث بأكمله في مختبر الكيمياء الحيوية و مراقبة الجودة في CRBt خاصة الأستاذة مغبون ابتسام ،و الدكتورة غالي ليندة .

نود أن نشكر السيد طلحي عبد الحميد والسيد المداوي مصطفى على مساعدتهما لنا للحصول على عينات العسل من تعاونية ولاية سطيف.

كما نتوجه بالشكر الخاص للأستاذة أمداح سعاد التي كانت دعما و سندا لنا في هذه المذكرة و طوال الثلاث السنوات الجامعية معها

و نود أن نتقدم بخالص الشكر إلى الرئيس : البروفسور مناد أحمد على الشرف الذي حظينا به لقبوله رئاسة لجنة التحكيم لتقييم هذا العمل و الدكتورة عثماني مرابط غنية أستاذ محاضر لقبولها فحص هذا العمل .

# الإهداء

إن أول الحمد لله سبحانه و تعالى, أن وفقني لإتمام هذا العمل .

أتقدم بجزيل الشكر و تمام امتناني إلى الأستاذة المشرفة الدكتورة "دكدوك نادية " على توجيهاتها في سبيل الارتقاء بهذا العمل.

و أبسط جزيل اعترافي و امتناني, بين يدي اللجنة العلمية الموقرة التي تشرف على تقويم هذا البحث, للرفع من قيمته و جعله على بصيرة.

إليكم جميعا أساتذتي , شكري و احترامي و تقديري

إلى اللذين ربياني صغيرا...

و أسبغا علي بركتهما كبيرا...

أمي حفظها الله و رعاها ...

أبي العزيز رمز النضال ...

و إلى كل أفراد عائلتي , أختاي تقوى سندي و فاطمة الزهراء , و أخي الصغير يحي عبد الصمد.

و إلى من قاسمني عناء و متعة انجاز هذا العمل زميلاتي شروق و رحمة .

إلى كل الزميلات اللواتي شاركتني الحياة الجامعية و التي لم يذكرهم قلمي لكن قلبي سيذكرهن دوما.

إلى كل من حمل لي ذرة ود ومحبة في قلبي، و إلى كل من ساهم في مساعدتي من قريب أو بعيد .

ذكرى

# الإهداء

«و آخر دعواهم ان الحمد لله رب العالمين »

الذي يسر البدايات و أكمل النهايات و بلغنا الغايات الحمد لله الذي ما تم جهد إلا بعونه و ما ختم سعي إلا بفضله الحمد لله على البلوغ ثم الحمد لله على التمام .تم بحمد الله و توفيقه تخرجي فاللهم اجعلها نهاية خير لبداية طريق أعظم وأهدي تخرجي :

إلى من كلله الله بالهية و الوقار ، من علمني العطاء بدون انتظار ، من احمل إسمه بكل إفتخار ، صاحب السيرة العطرة و الفكر المستنير، قدوتي الأولى و نبراسي الذي ينير دربي أبي العزيز " **مرواني** " أطال الله في عمرك.

إلى بسمة حياتي و سر وجودي ، الظل الذي أوي إليه في كل حين ، معنى الحب و الحنان و التفاني ، من لهج لسانها بالدعاء لي و كان سر نجاحي إلى أغلى الحبايب أمي الغالية " **سمية** " أطال الله في عمرك.

إلى من يذكرهم القلب قبل ان يكتبهم القلم، من قاسموني حلو الحياة و مرها تحت سقف واحد أختي و إخواني "**دعاء, عبدو, طه** ".

إلى أعز من سعتهم ذاكرتي و لم تسعهم مذكرتي .

إلى رفيقة الدرب "**سارة**" و كل من جمعتني بهم الجامعة و صديقات المشوار"**شروق و ذكرى**" .

إلى كل من اضاء بعلمه عقل غيره او هدى بالجواب الصحيح حيرة سائليه فاظهر بسماحته تواضع العلماء و برحابته سماحة العارفين .

إلى كل من يتكبد عناء قراءته سواء لتقييمه او لنقده او لزيادة علمه او لاشباع فضوله.

**رحمة.**

# الإهداء

من نطق بكلمة التوحيد لسانه وصدقها قلبه، إلى معلمنا الأعظم وقدوتنا الأكبر المصلح الجليل المبعوث رحمة للعالمين سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم.

أتقدم بالشكر أولا إلى الأستاذة الفاضلة دكدوك نادية على إشرافها على هذا العمل

إلى الذين أوصى لله بهما إحسانا وقال":وقضى ربك ألا تعبدوا إلا إياه و بالوالدين إحسانا"

إلى الوجه البسام،القلب الحنون ،إلى التي كانت ولا زالت لي سندا ورمزا للعطاء والإخلاص، إلى من كلله الله بالهيبة والوقار ومن احمل اسمه بكل افتخار ،العزيزين : "فوزية"،"محمد" حفظهما المولى عز وجل وأطال في عمريهما

إلى من ترعرعت معهن ونمى غصني بينهن ،شقيقاتي الأعزاء:"هناء،بثينة،شبيلة،ضحى وألاء "

الى كل الصديقات ،إلى زميلات الدراسة و شريكات هذا العمل" ذكرى" ، "رحمة"

إلى كل أهلي و من تذكرهم قلبي و نسيهم قلمي اهديهم ثمرة عملي المتواضع وأتمنى التوفيق لهم.

**شروق .**

# الفهرس

| فهرس المحتويات | الصفحة |
|---|---|
| شكر وتقدير | |
| إهداء | |
| قائمة المحتويات | |
| قائمة الجداول | |
| قائمة المختصرات | |
| مقدمة | 1 |
| **الجانب النظري** | |
| **الفصل الأول: عموميات عن العسل** | |
| I-1- تعريف العسل | 5 |
| I -2-نبذة تاريخية عن العسل | 5 |
| I -3- أنواع العسل | 6 |
| I -3-1- أصل النبات | 6 |
| I -3-2- الأصل الجغرافي | 7 |
| I -4- تركيب العسل | 8 |
| I -4-1المكونات الأساسية | 9 |
| I -4-2-المكونات الثانوية | 10 |
| I -5- خصائص العسل | 16 |
| I -5-1-الخصائص الفيزيائية والكيميائية | 16 |
| I -6-النشاط البيولوجي للعسل | 17 |
| I -6-1-النشاط المضادة للميكروبات | 17 |
| I -6-2-خاصية نشاط موت الخلايا المبرمج *للعسل* | 18 |
| I -6-3-خاصية النشاط المضاد للالتهاب و المناعة | 19 |

| | |
|---|---|
| I -7-الاستعمالات الطبية للعسل | 20 |
| **الفصل الثاني: الاجهاد التأكسدي و مضادات الأكسدة** | |
| II -1-الإجهاد التأكسدي | 23 |
| II -1-1-تعريف الإجهاد التأكسدي | 23 |
| II- 1- 1- 1- الجذور الحرة | 23 |
| II -1-2-المؤشرات البيولوجية للتوتر التأكسدي | 28 |
| II -1-3-تاثيرالإجهاد التأكسدي على ظهور الأمراض | 31 |
| II -2- مضادات الأكسدة | 33 |
| II -2-1-تعريف مضادات الأكسدة | 33 |
| II -2-2- أنواع مضادات الأكسدة | 33 |
| II -2-2-1- مضادات الأكسدة الإنزيمية | 33 |
| II -2-2-2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية | 38 |
| II -2-3- آلية عمل مضادات الأكسدة | 40 |
| II -3-تأثير العسل المضاد للأكسدة | 42 |
| II -3-1-النشاط المضاد للأكسدة للعسل | 42 |
| II -3-2-آليات التأثير | 42 |
| **الجانب التطبيقي** | |
| **الفصل الثالث: المواد و الطرق المستعملة** | |
| III -1-المواد | 45 |
| III -1-1- جمع مادة العسل | 45 |
| III -1-2- المواد الكاشفة | 45 |
| III-1-3-الأجهزة | 46 |
| III -2- الطرق | 46 |

| | |
|---|---|
| III -2-1- تحضير المستخلصات | 46 |
| III -3- دراسة النشاط البيولوجي | 49 |
| III -3-1- إختبار الأنشطة المضادة للأكسدة | 49 |
| III -3-1-1-إختبارنشاط إزالة الجذور الحرة DPPH | 49 |
| III -3-1-2-نشاط الكسح الكاتيوني الجذري $ABTS^{\bullet+}$ | 50 |
| III -3-1-3-إختبار FRAP | 51 |
| III -3-1-4-إختبار $Fe^{2+}$- phenanthroline | 52 |
| III -3-2-دراسة النشاط إنزيمي | 53 |
| III -3-3-تحديد مجموع البوليفينول والفلافونيدات | 54 |
| III -3-3-1-تقدير المحتوى الكلي للفينولات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي TPC | 54 |
| III -3-3-2-تقدير المحتوى الكلي للفلافونويدات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي TFC | 55 |
| **الفصل الرابع: النتائج و المناقشة** | |
| IV-1-حساب المردودية | 58 |
| IV -2- الأنشطة البيولوجية | 58 |
| IV -2-1-الأنشطة المضادة للأكسدة | 58 |
| IV-2-2- الأنشطة الإنزيمية | 63 |
| IV-2-3- تحديد مجموع البوليفينول والفلافونيدات | 65 |
| خاتمة | 69 |
| المراجع | |
| ملاحق | |
| ملخص | |

# قائمة الأشكال


| الرقم | الشكل | الصفحة |
|---|---|---|
| 1 | نحل العسل | 5 |
| 2 | "Man of Bicorp" لوحة صخرية من العصر الحجري القديم تُظهر مجموعة عسل من عش بري | 6 |
| 3 | مشهد لتربية النحل في مقبرة بمصر | 6 |
| 4 | مقطع طولي يوضح الجهاز الهضمي والإفرازي للنحل | 6 |
| 5 | المكونات الرئيسة للعسل | 8 |
| 6 | أنواع الكربوهيدرات | 10 |
| 7 | معادلة حمض الجلوكونيك | 10 |
| 8 | الأحماض الفينولية المنتشرة بالعسل | 13 |
| 9 | بنية الفلافونويد المنتشرةبالعسل | 14 |
| 10 | تحفيز Glucoseoxidaseعلى إنتاج بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$) | 15 |
| 11 | بناء HMF من سكر سداسي | 15 |
| 12 | تأثير العسل على مسار موت الخلايا المبرمج | 19 |
| 13 | آلية عمل تأثير مضادات الالتهابات للعسل | 19 |
| 14 | تثبيط العسل في التفاعلات المختلفة في عملية الالتهاب | 20 |
| 15 | المصادر الداخلية للجذور الحرة | 25 |
| 16 | إنتاج الميتوكوندرياROS | 26 |
| 17 | المصادر الخارجية للجذور الحرة | 27 |
| 18 | الضرر التأكسدي الناجم عن الإجهاد التأكسدي | 28 |
| 19 | آلية بيروكسيد الدهون | 29 |
| 20 | أكسدة البروتين | 30 |
| 21 | إنتاج ونشر ROS في وجود (A) أو غياب (B) منالMPOعندما يصاب الفرد ببكتيريا السالمونيلا | 31 |
| 22 | توازن المؤكسدات / مضادات الأكسدة في النظم البيولوجية | 33 |
| 23 | الإنزيمات المضادة للأكسدة | 34 |

| | | |
|---|---|---|
| 24 | خطوات تفاعل الكاتلاز | 35 |
| 25 | نشاط الكسح الجذري لـ SOD و CAT و GSH Px | 36 |
| 26 | أنشطة oxidoreductase لنظام thioredoxin | 37 |
| 27 | دور الجلوتاثيون (GSH) في الدورة التحفيزية (GSHPx) ، (GR) ، (GOx) | 38 |
| 28 | البنية الكيميائية للفيتامين cاوحمض الاسكوربيك | 38 |
| 29 | البنية الكيميائية للفيتامينE | 39 |
| 30 | بنية مركبCoQ10 | 40 |
| 31 | آليات النشاط المضاد للأكسدة لمركبات الفينول | 40 |
| 32 | آلية الحماية لمضادات للأكسدة | 41 |
| 33 | جميع الآليات الممكنة المشاركة في التأثير المضادات الأكسدة للعسل | 43 |
| 34 | المادة الجافة للمستخلص المائي | 46 |
| 35 | مراحل استخلاص المستخلص المائي لعسل اللبينة | 47 |
| 36 | المستخلص الميثانولي | 48 |
| 37 | مراحل استخلاص المستخلص المائي والميثانولي لعسل اللبينة | 48 |
| 38 | تفاعل DPPH | 50 |
| 39 | تشكيل وحبس $ABTS^{\bullet+}$ جذري بواسطة H• مانح مضاد للأكسدة | 51 |
| 40 | آلية التفاعل لاختبار FRAP | 52 |
| 41 | تشكيل مركب $Fe^{+2}$–phenanthroline | 53 |
| 42 | آلية التفاعل لاختبار Folin–Ciocalteu. | 55 |
| 43 | تفاعل تكوين مركب الفلافونويد – كلوريد الألومنيوم (AlCl3) | 55 |
| 44 | منحنى معايرة Trolox لـ DPPH | 59 |
| 45 | نشاط العسل ومستخلصاته المضاد لأكسدة جذرDPPH | 59 |
| 46 | منحنى معايرة Trolox لـ ABTS | 60 |
| 47 | كسح العسل ومستخلصاته لجذر ABTS | 60 |
| 48 | منحنى معايرة Trolox لـ FRAP | 61 |
| 49 | تأثير العسل ومستخلصاته على حديد Frap | 61 |

| | | |
|---|---|---|
| 50 | منحنى معايرة Trolox لـ Phenanthroline | 62 |
| 51 | نتائج اختبار Phenanthroline لمستخلصات مختلفة للعسل | 63 |
| 52 | معايرة Acarbose لـ Alpha amylase | 64 |
| 53 | نتائج اختبار Alpha amylase | 64 |
| 54 | منحنى معايرة Acide gallique لـ TPC | 65 |
| 55 | تقدير المحتوى الكلي للفينولات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي | 65 |
| 56 | منحنى معايرة quercetine لـ TFC | 66 |
| 57 | تقدير المحتوى الكلي للفلافونيدات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي | 67 |


## قائمة الجداول


| الرقم | الجدول | الصفحة |
|---|---|---|
| 1 | خصائص بعض عسل الزهور وعسل المن | 7 |
| 02 | متوسط مكونات العسل | 9 |
| 03 | أكثر المركبات الفينولية شيوعًا التي تم تحديدها في العسل | 12 |
| 04 | الآليات المحتملة للنشاط المضاد للميكروبات من العسل. | 17 |
| 05 | الاستعمالات الطبية للعسل و آليات عملها. | 20 |
| 06 | الجذور الحرة الرئيسية وتركيبها الكيميائي | 23 |
| 07 | المصادر الخارجية للجذور الحرة | 27 |
| 08 | الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسديو آليةعملها | 32 |
| 09 | الأنواع المختلفة لجلوتاثيون بيروكسيديز (GPx) | 36 |
| 10 | خطوط الدفاع المختلفة بمضادات الأكسدة | 41 |
| 11 | أصل ومميزات عسل اللبينة. | 45 |
| 12 | الكواشف المستخدمة في الأنشطة البيولوجية المختلفة. | 45 |
| 13 | التركيزات المختلفة للتخفيفات للمستخلصات مقارنة بالتركيز الأولي. | 49 |

| | | |
|---|---|---|
| **14** | التركيزات المختلفة للتخفيفات للمستخلصات مقارنة بالتركيز الأولي | **53** |
| **15** | قيم مردود الاستخلاص | **58** |

# قائمة المختصرات

**% :Pourcentage**

**%INH : pourcentage d'inhibition**

**· Q- : semiquinone**

**4-HNE : 4-hydroxy-2-nonenal**

**ABTS : Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)**

**ADP: adénosine-diphosphate**

**$Al^{3+}$ : aluminum cations**

**aw :activity of water**

**BHT : Butylated Hydroxytoluene**

**BHA :Beta hydroxy acid**

**BALB: Bagg Albino**

**BAX :protéine Bcl-2–associated X**

**BCL2: lymphome à cellules B / B-celllymphoma 2**

**CML:leucémie myéloïde chronique**

**Co : Coenzyme Q10**

**CoQ10H2 :ubiquinol-10**

**COX-2: CycloOXygénase 2**

**Cys: Cystéine**

**Cyt P 450 : Cytochrome P 450**

**DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle**

**EOA : espèces actives de l'oxygène**

**FAD :flavin adenine dinucleotide**

**$FADH_2$: reduced Flavin adenine dinucleotide**

**FCR : Folin-Ciocalteu réactif**

**$Fe^{IV}O$ : porphyrin**

**FRAP : Pouvoir antioxydant réducteur d'ions ferriques**

**GLUT4 : Glucose transporter type 4**

**GOx : glutathioneoxidase**

**GPx: Glutathionperoxidase**

**GR : Glutathion réductase**

**GSH: Glutathione**

**GSHPx : Glutathion peroxydase**

**GSSG : disulfure de glutathion**

**$H_2O_2$ : Peroxide d'hydrogène**

**$HO_2$ : Hydroperoxyle**

**HOCI : acide hypochloreux**

**IL-1β : interleukine 1 bêta**

**IL-6 : interleukine 6**

**INOS : induciblenitricoxidesynthase**

**LDL: Low-density lipoproteins**

**MABK : Mitogen-activated protein kinases**

**MDA : Malon dialdehyde**

**Met : Méthionine**

**MMP-9 : métallopeptidase matricielle 9**

**MPO : Myéloperoxydase**

**NF-B : nuclear factor-kappa B**

**NO• :Monoxyded'azote**

**NOS : Radical oxyde nitrique synthase**

**$O2^{\bullet-}$ : Radical superoxide**

**$OH^{\bullet}$ : Radical hydroxyle**

**$ONOO^-$ :Peroxynitrite**

**P13K : Phosphatidylinositol-3 kinase**

**p53 : protein**

**PARP: Poly ADP Ribose Polymerase**

**PI3K : Phosphatidylinositol 3-OH kinase**

**PKB :Protéine kinase B**

**PUFA : acide gras polyinsaturé**

**PG :Gallate de propyle**

**QH : ubiquinone**

**$QH_2$ : Ubiquinol**

**RNS :reactive nitrogen species**

**$RO^{\bullet}$ : Radical alcoxyle**

**$ROO^{\bullet}$ : Radical peroxyle**

**ROS: Reactive oxygen species**

**SN :substantianigra**

**SOD : Superoxide dismutase**

**TCA : Acide trichloracétique**

**TCF : T-cell factor**

**TFC : Total Flavonoid Content**

**TGF-β: Transforming growth factor beta**

**TNF- : tumor necrosis factor α**

**TPC : Total Phenolic Content**

# مقدمة

يُعرَّف الإجهاد التأكسدي بأنه إختلال التوازن بين إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) ونشاط مضادات الأكسدة.ويرجع ذلك الى عدد من الأسباب منها التدخين **(Lobo *et al.*, 2010 )**، والملوثات البيئية **(Aranda-Rivera *et al.*, 2022)**والإستعمال الطائش لبعض العقاقير كالبراسيتامول إضافة إلى إختلال توازن النظام الغذائي مما يؤدي إلى زيادة إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية داخل العضوية (**Haleng *et al.*, 2007**).

تتوفر العضوية على العديد من الآليات لمواجهة الإجهاد التأكسدي وذلك بتدخل مضادات الأكسدة ، تنقسم هذه الأخيرة إلى مضادات أكسدة إنزيمية و غير إنزيمية . تعتبر الإنزيمات المضادة للأكسدة مهمة كجزء من آلية الدفاع الخلوي ضد توليد الجذور الحرة ،و منع وإصلاح الضرر الجزيئي الناتج عنها **(Lee et Park,2021).** بالنسبة لمضادات الأكسدة الغير إنزيمية نذكر منها vitamin C و الذي يلعب دورًا مهمًا كمرجع للجذور الحرة وكعامل مساعد للعديد من التفاعلات الإنزيمية **(Duarte *et al.*, 2021)** ، وكذا vitamin E الذي يحمي مكونات الخلايا الرئيسية عن طريق تقليل الجذور الحرة وكسر تفاعل بيروكسيد الدهون المتسلسل **( Duarte *et al.*, 2021).**

إن إنخفاض الكفاءة الإنزيمية المضادة للأكسدة بسبب عوز في مضادات الأكسدة اللاإنزيمية ذات المصدر الغذائي ، يستوجب إستعمال عقاقير ذات الصنع الصيدلاني التي لها القدرة على إنتاج بعض التأثيرات الجانبية والتحريض على السمية الكبدية من خلال تنشيط بعض المسالك الأيضية التي يتدخل فيها السيتوكروم P450 **(wahlang *et al.*, 2015)**، وللحفاظ على وسط آمن وذلك على المستوى الجزيئي والخلوي وجب البحث عن مصادر طبيعية تضم كما ونوعا من مضادات الأكسدة الضرورية للحفاظ على كفاءة النظام المضاد للأكسدة الداخل خلوي **(swiatek *et al.*, 2023)**.

لقد كشفت الأبحاث عن توفر الكثير من النباتات على مواد نشطة مضادة للأكسدة إذ يحتوي الشاي على عدد من المركبات الفينولية منها(EGCG) epigallocatechin-3-gallate،epigallocatechin ، epicatechin-3-gallate،epicatechin ، gallo catechins و gallocatechin gallate **(Khan et Mukhtar, 2019)**، والتي لها تأثيرات إيجابية ضد العديد من الأمراض ، مثل الأمراض القلبية الوعائية، والسمنة ،والسكري، وأمراض الكبد،والسرطان(**Cao *et al.*,2019**).

كما أوضحت الأبحاث ان أوراق الزيتون وزيت الزيتون وثمار الزيتون غنية بالمركبات الفينولية منها oleuropein و Hydroxytyrosol ذات النشاط المضاد للأكسدة **(Dekdouk *et al.*, 2015).**

بينت العديد من الدراسات أهمية العسل نظرا لقيمته الغذائية والصيدلانية**(Ranneh *et al.*, 2021 )**، يعتبر العسل منتج طبيعي ينتج من قبل النحل من نوع *Apis mellifera* باستعمال رحيق الزهور وكذلك المن ،يستعمل العسل في الطب والصيدلة لعلاج الجروح والأمراض المختلفة و وفقًا لأساسيات الطب الصيني ، فإن العسل له تأثيرات متوازنة وحلوة وغير سامة، يدخل الرئة،والطحال ،والأمعاء الغليظة، ويرطب الرئة، يخفف الآلام ويقضي على السموم. يعالج العسل السعال الناتج عن جفاف الرئة،و الإمساك نتيجة جفاف الأمعاء،وآلام في المعدة ،واحتقان الأنف العميق المصدر ، وتقرحات الفم ،و الحروق **( Arawwawala *et* Hewageegana, 2017).**

يتميز العسل بخصائص فيزيائية وكيميائية عدة وتختلف بإختلاف أنواع نحل العسل والمنشأ الجغرافي **(khan *et al* .,2018)**، نذكر منها التوصيل الكهربائي بحيث يتميز العسل بموصلية متغيرة حسب أصله الزهري**(Lequet, 2010)**.بالإضافة إلى الحموضة بحيث تعتمد حموضة العسل على كمية الأحماض العضوية

واللاكتونات وتكوينه المعدني، وتعتبر الحموضة معيار جودة مهم(**kaoudji *et al* .,2020**).و زد على ذلك معامل الانكسار الذي يتناسب مع رطوبة العسل(**Belhaj,2015**).

يتوفر العسل على العديد من المكونات منها اللاعضوية كالماء ،والأملاح المعدنية (**khan *et al* .,2018**)، والمواد العضوية منها الكربوهيدرات ، البروتينات أو المواد النيتروجينية ، الأحماض العضوية ، اللاكتونات ، الفيتامينات ، الدهون ، (**Bogdanov, 1996**) ،و تختلف كمية ونوعية هذه المكونات من عسل إلى آخر وذلك بسبب إختلاف الأصل النباتي و الموقع الجغرافي و إفرازات النحل (**Nolan *et al* .,2019**) ينتج عن تنوع هذه المركبات لون ،وطعم ،ولزوجة ،وأنشطة علاجية مختلفة لكل عسل(**Ranneh *et al*.,2021** ). يعتمد النشاط المضاد للعسل على المركبات الفلافونويدية ،والأحماض الفينولية، والإنزيمات ،والفيتامينات ،والمعادن مثل النحاس والحديد (**Gül et Pehlivan,2018**).

إن تطور تقنيات البحث فيما يخص الدراسات الفيتوكيميائية كشفت عن وجود مركبات فينولية بالعسل أهمها Caffeic acid ، و Sinapic acid ، و Gallic acid ، و Ferulic acid.....الخ (**Wali *et al*.,2020**).

هذه المركبات الفينولية لها القدرة على تأمين النشاط المضاد للأكسدة الطبيعية وذلك وفق آليات عدة منها تعطيل الجذور الحرة و ذلك عبر آلية نقل ذرة الهيدروجين (HAT) وآليات نقل الإلكترون الفردي(SET )، في آلية (HAT) يتفاعل مضاد الأكسدة مع الجذور الحرة عن طريق نقل ذرة الهيدروجين إليه من خلال تمزق متجانس لرابطة O-H. وتنص آلية (SET) على التبرع بإلكترون إلى النقطة الراديكالية. كما يمكن للمركبات الفينولية الحد من الأكسدة عن طريق عملية إزالة معدن ثقيل من أيونات المعادن(**Leopoldini *et al*.,2011** )، وقد تحفز بعض المركبات الفينولية إنتاج الإنزيمات المضادة للأكسدة (**Yan *et al*.,2020**).

ونظرا لدورالعسل البيولوجي المضاد للأكسدة ارتأينا انتقاء عسل اللبينة لمنطقة غرداية المعروف بقدراته المضادة للإلتهابات والمضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة بالإضافة إلى قدرته على تعزيز إلتئام الجروح . (**Boutoub *et al* .,2021**)

يهدف بحثنا إلى دراسة تأثير النشاط المضاد للأكسدة لعسل اللبينة أحادي الأزهار

ينقسم البحث إلى :

دراسة نظرية يضم الفصل الاول كل ما يتعلق بالعسل معلومات عامة للعسل تكوينه تعريفه( الأصل التركيب الكيميائي... ) وخصائصه الفيزيائية ,الكيميائية والبيولوجية و الفصل الثاني كل ما يتعلق بالاجهاد التاكسدي و مضادات الاكسدة و تاثير العسل المضاد للأكسدة .

دراسة تطبيقية لإنجاز الإختبارات المختلفة لمضادات الأكسدة

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

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

-إختبارFRAP 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**)

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

# الفصل الأول

# عموميات حول العسل

# I - عموميات عن العسل

## I - 1- تعريف العسل

العسل مادة بيولوجية حلوة وعالية اللزوجة ومعقدة ينتجها نحل العسل *Apis mellifera* **(Boateng *et al.*,2022 )**. يصنع النحل العسل،بعد أن يتغذى على رحيق الأزهار أو عن طريق إمتصاص إفرازات الزهرة، حيث تسمح أعضاء الجهاز الهضمي لنحل العسل بامتصاص الطعام ،و ترتبط بعض الغدد بالجهازالهضمي لتوفير وظائف محيطية مثل إنتاج العناصر الغذائية أو دعم امتصاص الطعام **(Dade, 1977 )(الشكل1).**

**شكل 1:** نحل العسل*Apis mellifera* **Hadley(2019,)**

يتم خلط المواد التي تم جمعها مع مركبات محددة أخرى من نحل العسل ثم يتم ترسيبها بواسطة النحل في قرص العسل الشمعي وتترك لتنضج بمرورالوقت**(Almasaudi , 2021)**

## I - 2- نبذة تاريخية عن العسل

العسل هو أحد أكثر المنتجات الطبيعية تقديرًا التي تم تقديمها للبشرية منذ العصور القديمة، ظهرت الأدلة من لوحات العصر الحجري أن علاج المرض بمنتج النحل مثل العسل نشأ منذ 8000 عام قبل الميلاد ، و في المخطوطات وألواح وكتب قديمة- الألواح الطينية السومرية (6200 قبل الميلاد)، والبرديات المصرية (1900-1250 قبل الميلاد) ، والفيدا "الكتاب المقدس الهندوسي"(5000 سنة قبل الميلاد )، القرآن الكريم، وأبقراط (460-357 قبل الميلاد) توضح أن العسل كان يستخدم على نطاق واسع كدواء .تم إستخدامه للعديد من الأمراض بما في ذلك أمراض العيون ،و الربو،والتهابات الحلق،والسل،والعطش،والفواق، و التعب،و الدوخة، و إلتهاب الكبد،و الإمساك،والأكزيما،وشفاء التقرحات والجروح في الطب التقليدي **(Samarghandian *et al.*, 2017).**

هناك أدلة على أن الإنسان يعرف منذ فترة طويلة أن العسل مصدر غذاء ثمين، وهذا ما تأكده الرسوم الصخرية المبكرة على جدران الكهوف في إفريقيا وشرق إسبانيا أشخاصًا يجمعون العسل من الأشجار أو الشقوق الصخرية بينما يطير

النحل حولهم. تم إكتشاف لوحة صخرية تسمى "رجل بيكورب" "Man of Bicorp"تظهر في (**الشكل 2**) في عام 1921 في Cueva de la Arana (كهف العنكبوت) في فالنسيا ، بإسبانيا. تصور اللوحة شكلاً بشريًا بالقرب من تجويف توجد به خلية نحل، يلتقط أقراص عسل، بينما يوجد بالقرب منه بعض النحل. يُعتقد أن اللوحة عمرها أكثر من 15000 عام وتعود إلى نهاية العصر الحجري القديم. تم العثور على فن صخري من الكهوف الأخرى، والذي يظهر شخصيات محاطة بالنحل دون أن تلسع(**Rachel,2008**).**الشكل3:**يمثل مشهد تربية النحل في مقبرة بمصر **(Hammad, 2018).**

**شكل2:** "Man of Bicorp" لوحة صخرية من العصر الحجري القديم تُظهر مجموعة عسل من عش بري**(Rachel, 2008)**

**شكل3:**مشهد لتربية النحل في مقبرة بمصر **(Hammad, 2018)**

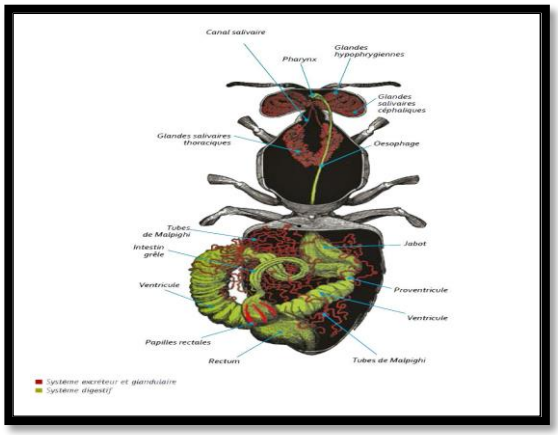
## I - 3- أنواع العسل

يقسم العسل إلى فئتين متميزتين وذلك وفقًا لأصل النبات والأصل الجغرافي

### I - 3- 1 - أصل النبات

**أ - الرحيق**

هو عبارة عن إفرازات حلوة لزجة إلى حد ما ،يحتوي على حوالي 90٪ من السكريات ، وأكثرها شيوعًا هي السكروز والجلوكوز والفركتوز.يحتوي الرحيق أيضًا على أحماض عضوية منها فوماريك ، وسكسينيك ، ومماليك ، وحمض أكساليك ،و البروتينات ،و الإنزيمات ، والأحماض الأمينة الحرة منها أحماض الجلوتاميك والأسبارتيك ، والميثيونين، والسيرين ، والتيروزين ، والمركبات غير العضوية (مثل الفوسفات). قد يحتوي بعض الرحيق على مركبات زيتية أو قلويدات أو مواد مبيدة للجراثيم . يوفر كل نوع نباتي الرحيق بخصائصه التي تعطي العسل نكهته ورائحته، يتم إنتاج هذا الرحيق عن طريق الغدد الرحيقية **(Bonté *et* Desmoulière., 2013)** (**الشكل4**) .




**شكل 4:** مقطع طولي يوضح الجهاز الهضمي والإفرازي للنحل **(Winston, 1991)**

يتم تصنيف عسل الرحيق إلى عسل أحادي الأزهار ومتعدد الأزهار :

- **عسل أحادي الزهرة**

ينتج عسل أحادي الزهرة من أصل نباتي واحد ويسمى وفقًا للنبات**(Barbara, 2009).**

- **عسل متعدد الأزهار**

العسل متعدد الأزهار هو الأكثر شيوعًا ويأتي من عدة مصادر نباتية. يفضل النحل الرحيق الذي يحتوي على أعلى تركيز من السكر**(Barbara, 2009).**

**ب- المن**

المن هو سائل سميك ولزج و أكثر كثافة من الرحيق،غني بالنيتروجين والأحماض العضوية والمعادن والسكريات المعقدة. يتم حصاده بواسطة النحل كمكمل أو بديل للرحيق وينتج عسلًا داكنًا نوعًا ما، أقل رطوبة من عسل الرحيق **( Bonté *et* Desmoulière, 2013)**

## I - 3- 2 - حسب الأصل الجغرافي

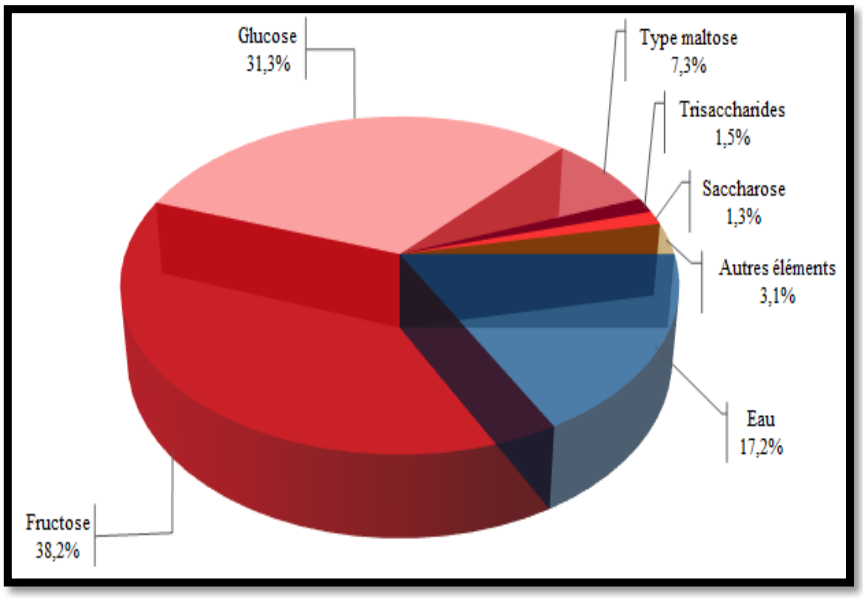
يمكن تسمية العسل باسم المنطقة الجغرافية أو الطبوغرافية ، بشرط أن يتم إنتاجه حصريًا في المنطقة المحددة. إكتسبت بعض أنواع العسل متعدد الأزهار سمعة خاصة مرتبطة بأصلها الجغرافي ، سواء كانت منطقة صغيرة أو مقاطعة أو قارة**(Huchet *et al.*,1996)** **(الجدول1)**.

**جدول 1**: خصائص بعض عسل الزهور وعسل المن **(Bogdanov *et al.*, 1999)**

| عسل الزهور | الأصل الرئيسي | اللون |
|---|---|---|
| Miel d’acacias | وسط وجنوب أوروبا و الصين | مائي إلى أصفر فاتح |
| Miel de rhododendrons | أوروبا | فاتح |
| Miel de châtaignier | أوروبا | بني محمر |
| Miel de bruyère | غرب وشمال أوروبا | أحمر بني داكن أصفر |
| Miel de bruyère | غرب وشمال أوروبا | أحمر بني داكن أصفر |
| Miel de lavande | حوض البحر الأبيض المتوسط | فاتح |
| Miel de tilleul | أوروبا , الصين | أصفر ناعم إلى أصفر غامق |
| Miel de dents-de-lion | أوروبا | اصفر فاتح إلى اصفر غامق |
| Miel de fleurs d’oranger | حوض البحر الأبيض المتوسط ، المكسيك ، أستراليا ، الولايات المتحدة الأمريكية | أصفر فاتح إلى أصفر برتقالي |
| Miel de colza | أوروبا أمريكا الشمالية | فاتح مائل للأبيض |
| Miel de romarin | حوض البحر الأبيض المتوسط | فاتح |
| Miel de fleurs de tournes | أوروبا | أصفر ذهبي |
| Eucalyptus | حوض البحر الأبيض المتوسط ،أمريكا | بني أصفر |
| Miel (miel de sapin) de conifères (sapin blanc, rouge, de pin) | أوروبا الشرقية، منطقة المناخ المعتدل | التنوب الأبيض: بني غامق إلى أخضر أسود على حافة الزجاج، يسلط الضوء على البني الأخضر العسل من الصنوبريات الأخرى: بني أو أحمر |
| Miels de conifères et de feuillusالعسل من الأشجار الصنوبرية والورقية | جميع أنحاء العالم | البني المحمر |

## I - 4- تركيب العسل

من خلال الاستقراء نصل إلى التركيب، يعتبر العسل منتج معقد للغاية إذ ينتج عن مراحل متعددة من التوليف التي تؤثر على تركيبه يتكون العسل من الماء بنسبة (17٪) ،وكربوهيدرات (79.5٪): الفركتوز (38.2٪)، غلوكوز (31.3٪)، المالتوز (7.3٪)، السكريات الثلاثية (1.5٪)،سكروز(1.3٪)،وعناصر متنوعة (3.1٪) **(الشكل 5).(Koechler ,2015)**




**شكل5 :** المكونات الرئيسة للعسل**( Amigou, 2016)**

في الوقت نفسه، قد تتدخل بعض العوامل كالأنواع النباتية ، ومصدر النحل ، وطبيعة التربة والظروف المناخية ... إلخ على زهرة العلف مما سيمنح للعسل طابعا فريدا، لذلك من المستحيل العثور على نوعين إثنين متطابقين تمامًا. **(Darrigol,2007)** يتوفر العسل على عناصر ذات قيمة غذائية **(الجدول 2 )**

**جدول 2 : متوسط مكونات العسل ( Najafi *et* Eteraf-Oskouei,2013 )**

| العسل (القيمالغذائيةلكل 100 جرام) | |
|---|---|
| **العنصر** | **المتوسط** |
| كربوهيدرات | 82.4 جم |
| الفركتوز | 38.5 جم |
| الجلوكوز | 31 جم |
| السكروز | 1 جم |
| سكريات أخرى | 11.7 جم |
| الألياف الغذائية | 0.2 جرام |
| الدهون | 0 جم |
| بروتين | 0.3 جم |
| ماء | 17.1 جم |
| ريبوفلافين (فيتامين B2) | 0.038 ملجم |
| النياسين (فيتامينب B3) | 0.121 ملجم |
| حمض البانتوثنيك (فيتامين B5) | 0.068 ملجم |
| بيريدوكسين (فيتامين B6) | 0.024 ملجم |
| حمض الفوليك (فيتامين B9) | 0.002 ملجم |
| فيتامينc | 0.5 ملجم |
| كالسيوم | 6 ملجم |
| حديد | 0.42 ملجم |
| مغنيسيوم | 2 ملغ |
| الفوسفور | 4 ملغ |
| بوتاسيوم | 52 ملجم |
| الصوديوم | 4 ملجم |
| زنك | 1.22ملجم |

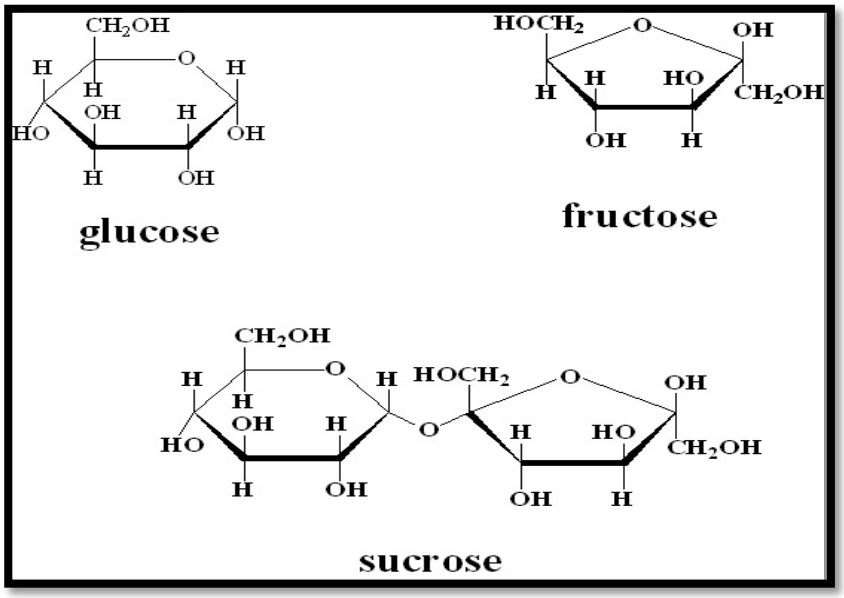
**I-1-4-المكونات الأساسية**

**I-1-1-4-الماء**

يبلـغ متوسـط محتـوى المـاء 17.2٪ إذ يحـافظ علـى مسـتوى رطوبـة العسـل وجودتـه ويمنـع تخمـره . (**Huchet *et al* .,1996**)

**I-4-1-2-الكربوهيدرات**

تمثل الكربوهيدرات ما يعادل 95 إلى 99٪ من المادة الجافة،وتختلف النسبة من عسل إلى آخر ونميز السكريات الأحادية: كالفركتوز أكثر السكريات إنتشارا بنسبة 38٪ ، وسكر الجلوكوز المقدر بنسبة (31٪) الناتج من التحلل المائي للسكروز بواسطة إنزيم (invertase enzyme) والسكريات الثنائية كسكر المالتوز المقدر بنسبة( 7.3٪) والسكروز المقدر بنسبة(1.3٪)**(Rossant, 2011)** **(الشكل6).**

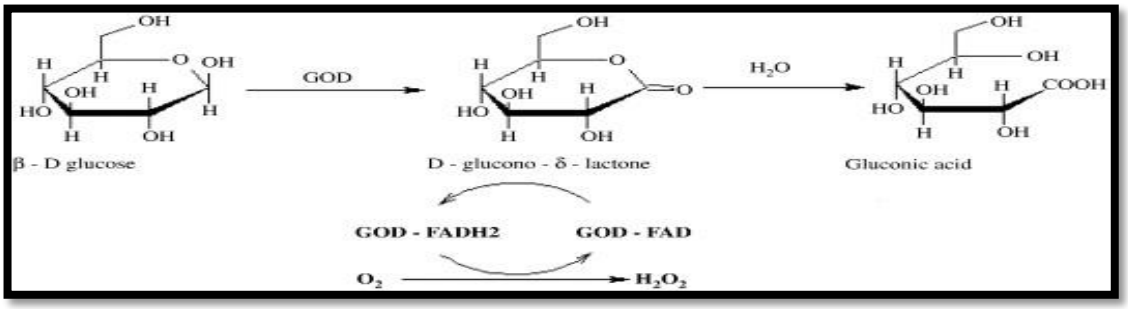



**شكل6 :** أنواع الكربوهيدرات**(Bogdanov *et al.*,2004)**

## I - 4- 2 - المكونات الثانوية

### I - 4- 2 – 1 - الأحماض العضوية

نميز العديد من الأحماض العضوية منها حمض الأسيتيك ، وحمض البنزويك ، وحمض الستريك ، وحمض الماليك ، وحمض السكسينيك . ويعتبر حمض الجلوكونيك المركب الرئيسي الذي ينتج من تفكيك الجلوكوز بفضل إنزيم (glucose oxidase) الذي تفرزه النحل **.** كما يتوفر العسل على حوالي عشرين حمضًا آخر ، حيث تكسب هذه الأحماض درجة حموضة حمضية للعسل.تنتج الأحماض العضوية إثر مجموعة تحولات يقوم بها النحل على العسل أومباشرة من الرحيق**(Schwwitzer, 2005)** **(الشكل 7).**




**شكل 7:** معادلة حمض الجلوكونيك **(Bankar *et al.*,2009)**

**I - 4- 2 – 2 - البروتينات**

يتوفر العسل على 26 نوعا من الأحماض الأمينية تمثل نسبة 1٪ ، ويعتبر البرولين هو المساهم الرئيسي بنسبة 50-85٪ من إجمالي الأحماض الأمينية وتختلف نسب الأحماض الأمينية بإختلاف الأصل النباتي للعسل (الرحيق أو المن) حيث تعتبر حبوب اللقاح هي المصدر الرئيسي للأحماض الأمينية للعسل( **Hermosı´n *et al.*, 2003** ).

**I-4-2-3- المعادن**

يحتوي العسل على كميات منخفضة جدا من المعادن مصنفة كعناصر رئيسة كالبوتاسيوم ،الكلور ، الكبريت، وعناصر ثانوية كالنحاس،الكروم ،الرصاص ،القصدير و الفضة **(Wali *et al.*,2020).**

**I - 4- 2 - 4 - الفيتامينات**

يحتوي العسل على فيتامينات منها القابلة للذوبان في الماء أكثر انتشارا من الفيتامينات القابلة للذوبان في الدهون**(Wali *et al* .,2020)**.

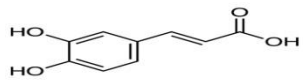
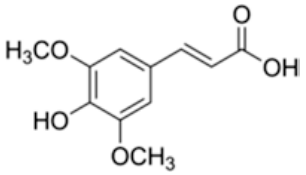
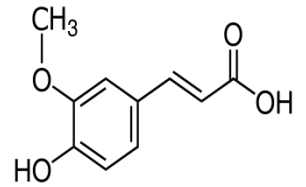
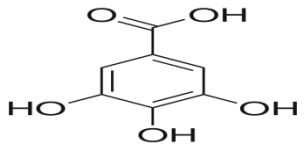
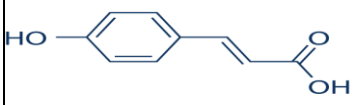
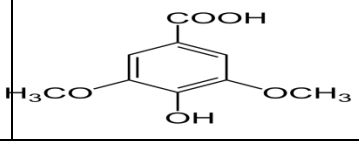
**I - 4- 2 – 5 - الإنزيمات**

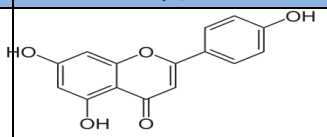
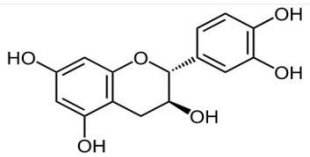
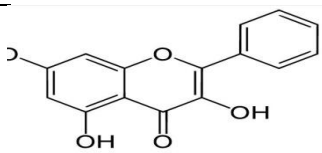
تصدر الإنزيمات الرئيسية للعسل إما من الرحيق أو من الإفرازات اللعابية للنحلة ، أهمها إنزيم gluco-invertase المسؤولة عن التحلل المائي للسكريات (alpha bêta amylases )التي تسمح بتحلل النشاء، وأيضا إنزيم catalase،و phosphatase، والإنزيمات المحمضة، وإنزيم oxydase glucose الذي يحول الجلوكوز إلى حمض الجلوكونيك **(Bonté *et* Desmoulière, 2013).**

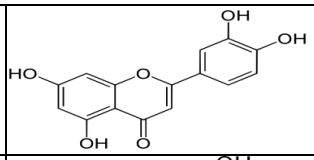
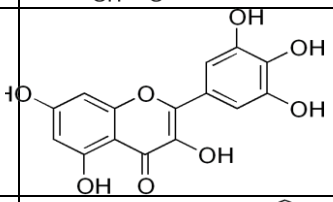
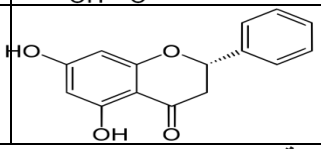
**I - 4- 2 - 6 - المركبات الفينولية**

يتميز العسل بغناه بمركبات الفلافونويد والأحماض الفينولية،والتي تكسبه نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة نظرًا لوجود هذه المركبات**(Wali *et al.*,2020)(الجدول3)**

**جدول3**: أكثر المركبات الفينولية شيوعًا التي تم تحديدها في العسل( **Rather *et al.*,2020** )

| حمض الفينول | البنية | الأهمية |
|---|---|---|
| Caffeic acid |  | - منع الإجهاد التأكسدي في الفئران التي كانت محملة بالحديد بشكل زائد<br>- تقليل بيروكسيد الدهون، ويزيد من توكوفيرول (مستويات فيتامينE في البلازما) |
| Sinapic acid |  | - مثبط Acetylcholinesterase، عامل مضاد للأكسدة محتمل ، ومضاد للطفرات عن طريق تثبيط التسرطن وتحريض السيتوكينات الالتهابية. |
| Ferulic acid |  | - الحث على إمتصاص الجلوكوز عن طريق زيادة التعبير عن نسخ P13K و GLUT4 عبر مسارات إشارات تعتمد علىP13K . |
| Gallic acid |  | - الحماية من السمية الخلوية البكتيرية ، ويعرض نشاطًا مضادًا للميكروبات ، ويمنع الإجهاد التأكسدي ، ويحفز موت الخلايا المبرمج ، ويظهر تأثيرًا وقائيًا للقلب ، الكبد و للمعدة ، ويحفز تأثيرات مضادة لفرط سكر الدم ، وتأثيرات بيروكسيدية مضادة للدهون ، ويحفز أنشطة مضادة للالتهابات. |
| *p*-Coumaric acid |  | - حماية القلب ، تأثيرات مضادات الأكسدة على أكسدة الكوليسترول الضار. |
| Syringic acid |  | - الوقاية من أمراض الكلى، ومضادة للسكري، وقائية للقلب، ومضادة للسرطان، و للميكروبات، ومضادات الأكسدة، للالتهابات و للتسمم. |

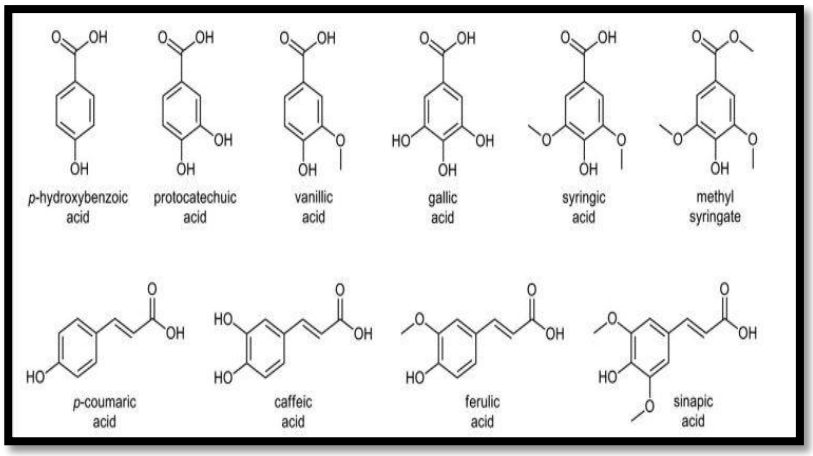
| الفلافونويد | البنية | الأهمية |
|---|---|---|
| Apigenin |  | - منع إفراز الوسطاء المسببة للإلتهاب، ويحفز تأثيرات مضادة للسرطان ومعدلة للمناعة.<br>- الحماية من توسع الأوعية المعتمد على البطانة في الشريان الأورطي. |
| Catechin |  | - الحماية من موت الخلايا العصبية الناجم عن نقص التروية. |
| Galangin |  | - التحريض على موت الخلايا المبرمج للنشاط المضاد للأورام، يرفع من النشاط السام للخلايا، يمنع تدمير العظام وتكوين الخلايا العظمية. |

| | | |
|---|---|---|
| Luteolin |  | - التأثير ضد مرض السكري من خلال عدة آليات لخفض مستويات السكر في الدم. |
| Myricetin |  | - التقليل من ROS وتوليد الجذور الحرة بعد تورم الخلايا المصابة بنقص التروية. |
| Pinocembrin |  | - منع تصلب الشرايين، ويحسن ضعف الذاكرة ،ويحفز موت الخلايا المبرمج ،ويقلل من عدم إنتظام ضربات القلب ،ويثبط الوسائط الإلتهابية، ويخفف من السمية الكلوية |

**أ. الأحماض الفينولية**

تصنف أحماض الفينول على أنها مشتقات من أحماض سينناميكو البنزويك يوضح **(الشكل8)** تراكيبب مشتقات الأحماض الفينولية الموجودة في العسل. من بين مشتقات الهيدروكسيل حمض البنزويك،الأكثر شيوعًا هي أحماض p-hydroxybenzoic، protocatechuic، vanillic، gallicوsyringic. مشتقات الهيدروكسي الأكثر تمثيلاً لحمض سيناميك في العسل هي أحماض p-coumaric، caffeic، ferulic وsinapic **(Gašić *et al.*, 2017).**

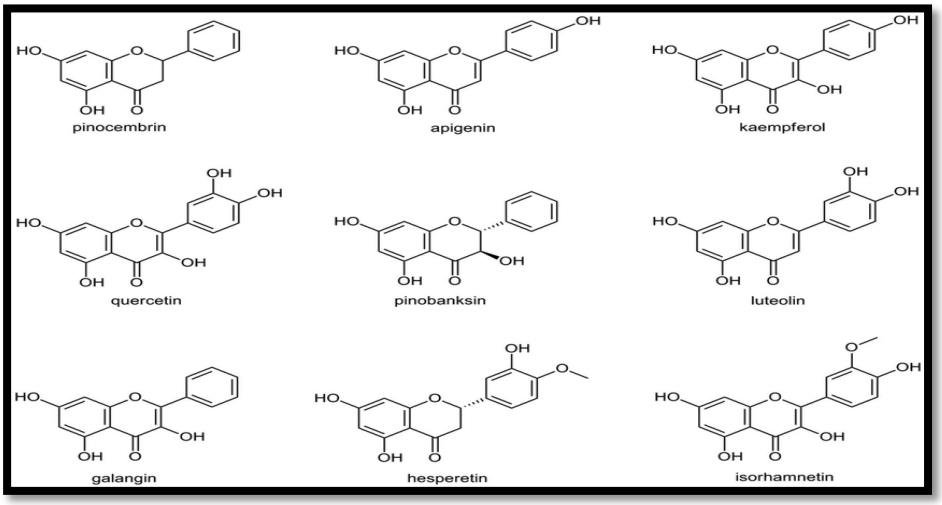
تحتوي الأحماض الفينولية على حلقة فينولية ووظيفة حمض كربوكسيل عضوي واحد على الأقل ؛ يمكن تقسيمها وفقًا لتركيبها: C6-C3 ، C6-C2 وهيكل (C6-C1). عادة ، ترتبط معظم هذه المركبات بالمكونات الهيكلية للنبات ، ولكن أيضًا إلى أنواع أخرى من الجزيئات العضوية مثل الجلوكوز أو السكريات الأخرى أو مركبات الفلافونويد**(Cianciosi *et al.*, 2018).**




**شكل8:**الأحماض الفينولية المنتشرة بالعسل**( Gašić *et al.*,2017)**

**ب. الفلافونويد**

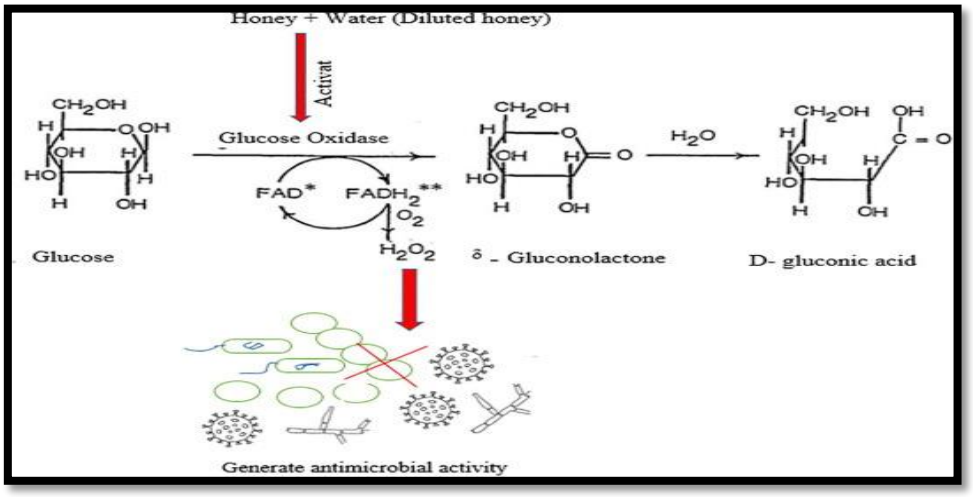
تمثل مركبات الفلافونويد (من الكلمة اللاتينية flavus ، وتعني الأصفر) واحدة من أكبر مجموعات المركبات الحلقية غير المتجانسة الطبيعية مع الأكسجين. توجد في النباتات في صورحرة ولكن يمكن أيضًا أن ترتبط بمكونات السكر في شكل جليكوسيدات مختلفة. مركبات الفلافونويد قابلة للذوبان في الماء وتوجد بطبيعتها في الكثير من الأغذية كالعسل، وتتمثل مركبات الفلافونويد الأكثر إنتشارا بالعسل فيapigenin، pinocembrin، kaempferol، quercetin، pinobanksin، luteolin galangin، hesperetin و isorhamnetin **(الشكل 9)**. ويعتبر صمغ النحل مصدر عدد كبير من مركبات الفلافونويد، مثل مركب pinobanksin، pinocembrin و chrysin **(*et al.*,2017Gašić)**.




**شكل 9:**بنية الفلافونويد المنتشرةبالعسل( ***et al.*,2017Gašić**)

**I - 4- 2 -7- بيروكسيد الهيدروجين**

يعتبر بيروكسيد الهيدروجين المركب الرئيسي المسؤول عن التأثير المضاد للبكتيريا في العسل.يتم إنتاج بيروكسيد الهيدروجين في العسل بشكل أساسي أثناء أكسدة الجلوكوز المحفز بواسطة إنزيم النحل (Glucose oxidase) هذا الأخير يتم إدخاله في العسل أثناء جمع النحل للرحيق. يوجد هذا الإنزيم في جميع أنواع العسل ولكن قد يختلف تركيزه من عسل إلى آخر وذلك حسب العمر والحالة الصحية للنحل الراعي بالإضافة إلى ثراء وتنوع النظام الغذائي للعلف **(Brudzynski *et al.*,2011)(الشكل10)**.

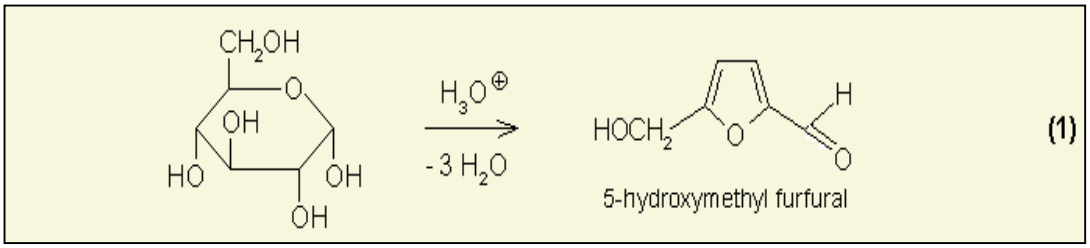


**شكل10**:تحفيز Glucoseoxidaseعلى إنتاج بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$)**(Almasaudi,2020)**

## I -4- 2 -8- Hydroxymethylfurfuraldehyde(HMF)

يكشف مركب (هيدروكسي ميثيل فورفورال) في العسل عن قدم عينة العسل،حيث كلما إنخفض محتواه كان العسل أفضل. ويزداد تركيزه مع تخزين العسل وتسخينه لفترة طويلة. يتوفر العسل الطـازج على كميات ضـئيلة من (هيدروكسـي ميثيل فورفورال)*(***Huchet *et al.*,1996**)(**الشكل11**).

(1) 




**شكل11**:بناء HMF من سكر سداسي**( Bogdanov , 2004 )**

### I - 4- 3 - مكونات أخرى

#### أ- المواد العطرية

عبارة عن خليط من الكحوليات ، والكيتونات ، والألدهيدات إذ تمنح هذه الجزيئات العطرية العسل كل من النكهة والرائحة. **(Apimondia ,2001 ).**

#### ب- الأصباغ

تشـمل الأصـباغ كـل مـن الكاروتينـات أو الفلافونويـد. الفلافونويـد هـي جـزء مـن مجموعـة البـوليفين و تعطـي هـذه المركبات لونًا مميزًا للعسل**(Couquet *et al* ., 2013).**

## I - 5- خصائص العسل

### I - 5- 1 - الخصائص الفيزيائية والكيميائية

#### أ- التوصيل الكهربائي

تمثل الموصلية الكهربائية قدرة الجسم على السماح بمرور التيار الكهربائي، يتم التعبير عنه في سيمنز لكل سنتيمتر (S / سم). يتميزالعسل بموصلية متغيرة حسب أصله الزهري ، بشكل عام ،ينتج عسل المن تيارًا أفضل بكثير من عسل الزهور(**Lequet, 2010**).

#### ب- الحموضة

يتميز العسل بدرجة حموضة وذلك لتوفره على الأحماض العضوية، وبعض الأحماض الحرة والبعض الآخر تجتمع في شكل لاكتونات .وتعتبر إفرازات اللعاب للنحلة المصدر الرئيسي لبعض هذه الأحماض ويشكل حمض الجلوكونيك الحمض الرئيسي إذ يشتق من الجلوكوز ويرافق تكوينه إطلاق بيروكسيد الهيدروجين. تعتمد حموضة العسل على كمية الأحماض العضوية و اللاكتونات وتكوينه المعدني.وتعتبر الحموضة هي معيار جودة مهم يستخدم للكشف عن التخمر غير المرغوب فيه وفقًا للدستور الغذائي،الذي ينص على أن لا تتجاوز الحموضة الحرة للعسل 50 ميجا بكسل من الحمض لكل 1000 جرام (**kaoudji.*et al* .,2020**) .

#### ج- معامل الانكسار

يتناسب مع رطوبة العسل، تُستخدم هذه الخاصية أيضًا لقياس المحتوى المائي للعسل(**Belhaj,2015**)،غالبية العسل لديه معامل يقدرما بين 1.4915و 1.5041 ومحتوى مائي يتراوح مابين13 ٪ إلى 18٪ لأنه كلما زاد معامل انكسار العسل زاد محتواه المائي **(Nair, 2014).**

#### د- الأس الهيدروجيني

جهد الهيدروجين، أو مؤشر «سورنسن»، هو مقياس للمعامل الذي يميز حموضة أو أساس العينة ، يمثل تركيز أيونات $H^+$ في المحلول(**kaoudji *et al* .,2020**)،يتراوح الأس الهيدروجيني مابين 3.39 و 4.19. تتوافق هذه القيم مع توصيات الدستور الغذائي (2001). يكشف الرقم الهيدروجيني الشديد عن التدهور الكيميائي الحيوي بعد سوء ظروف الحصاد العسل أو التخزين **(Belhaj, 2015).**

#### ه- لون العسل

يتميز العسل بعدد من الألوان والروائح والنكهات ويعزى ذلك إلى مصدره الجغرافي والنباتي. أثناء الحصاد يمكن أن يأخذ العسل لونا ذهبيًا مثل عسل الشوك ،أو لونا برتقاليا وأصفرا مع صبغات حمراء مثل عسل الزعتر،لونا أصفر شاحب أخضر قزحي مثل عسل الأكاسيا أو حتى لونا داكن وشبه أسود مثل عسل شجرة الفراولة. وتعتمد نكهة العسل على أصل الأزهار و تكون حمضية أثناء التذوق(**Marcet, 2017**) .

**و- النكهة**

يرتبط طعم ورائحة العسل بالأصل النباتي، ويخلو العسل من أي طعم أو رائحة غريبة كالدخان، وكذا رائحة التخمر **(Lequet , 2010).**

## I - 6- النشاط البيولوجي للعسل

### I - 6- 1- النشاط المضاد للميكروبات

أظهرت العديد من الدراسات أن العسل يظهر نشاطًا مضادًا للبكتيريا ،حيث يمنع العسل نمو الميكروبات والفطريات. تم توثيق نشاط العسل المضاد للبكتيريا وخاصة على العصيات إيجابية الجرام على نطاق واسع. يرجع تأثير العسل المضاد للميكروبات إلى مواد مختلفة بشكل أساسي إلى نسبة تركيبته العالية من السكر و أصله النباتي،يمكن دراسة العديد من الفرضيات المرتبطة بآلية العمل**(Irlande, 2010)،(Balas, 2015).**

ويعتبر تفاعل أكسدة الجلوكوز الإنزيمي أحد العوامل الرئيسية للنشاط المضاد للميكروبات للعسل **(Samarghandian *et al.*, 2017) (الجدول 4).**

**جدول4:**الآليات المحتملة للنشاط المضاد للميكروبات من العسل

| العامل | آلية التأثير | المرجع |
|---|---|---|
| **انخفاض نشاط الماء** | - النشاط المائي المنخفض في العسل يتراوح بين 0.562 و 0.62 يعني انه يحتوي على القليل من الماء لدعم نمو الكائنات الدقيقة . | **(Albaridi , 2019)** |
| **نسبة عالية من السكر** | - العسل النقي غير المخفف يثبط نمو البكتيريا بسبب محتواه العالي من السكر ، فيحدث التنافذ الغشائي على الخلايا البكتيرية، مما يؤدي إلى تدفق الماء منها و تقلصها بسبب الجفاف فتفقد قدرتها على البقاء على قيد الحياة . | **(Almasaudi,2020)** |
| **الحموضة** | - الكائنات الحية الدقيقة تنمو عند درجة حموضة متعادلة، حموضة العسل تتراوح بين pH 3.2 و pH 4.5 ، و هي ناتجة عن وجود بعض الأحماض العضوية وخاصة حمض الجلوكونيك. | **(Almasaudi,2020)** |

| | | |
|---|---|---|
| **بيروكسيد الهيدروجين** | - عندما يتم تخفيف العسل، يتم تنشيط (Glucose oxidase)مما يسمح له بالعمل على الجلوكوز الداخلي لإنتاج بيروكسيد الهيدروجين. | **(Albaridi , 2019)** |
| **الغير بيروكسيدية** | - في وجود catalase أي غياب بيروكسيد الهيدروجين يحتفظ العسل بعمله المضاد للبكتيريا. | **(Hossain *et al.*,2022)** |

## I - 6- 2 - خاصية نشاط موت الخلايا المبرمج للعسل

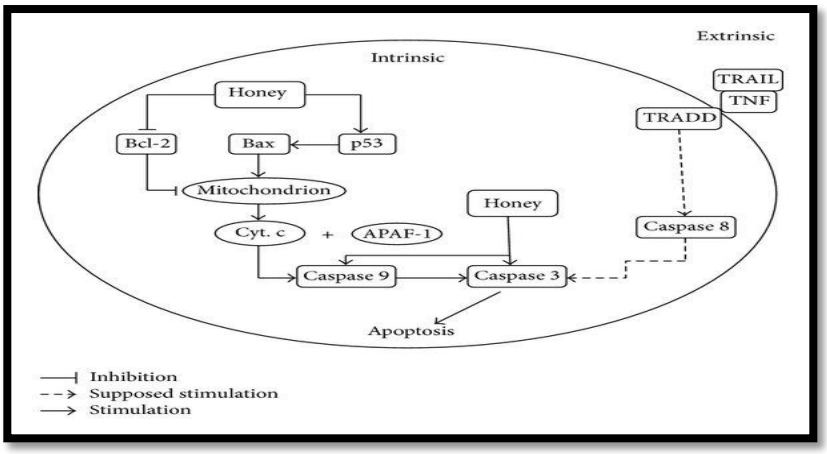
تمت الإشارة إلى أن العسل له القدرة على منع تكاثر الخلايا ، والحث على موت الخلايا المبرمج ، وتعديل تقدم دورة الخلية ، والتسبب في إزالة استقطاب غشاء الميتوكوندريا في عدة أنواع من السرطان مثل خلايا سرطان الجلد ، الخلايا الظاهرية السرطانية الغدية ، وخلايا سرطان عنق الرحم ، و خلايا سرطان بطانة الرحم إلخ ... **(Samarghandian *et al.*,2017).**

### أ- آلية عمل موت الخلايا المبرمج

العسل مسؤول عن موت الخلايا المبرمج من خلال إزالة الإستقطاب من غشاء الميتوكوندريا عن طريق تغيير التعبير عن البروتينات المؤيدة والمضادة لموت الخلايا المبرمج في الخلايا الورمية. العسل الذي يحتوي على المزيد من المكونات الفينولية يزيد من تفكك(ADP-ribose) بوليميريز (PARP) وتنشيط caspase-3 في خلايا أورام القولون البشرية. يتسبب في زيادة تنظيم البروتينات proapoptotic ( Bax، caspase-3، p53) وتقليل تنظيم عامل Bcl2 المضاد للاستماتة**( Mushtaq *et al.*,2020).**

يُظهر عسل مانوكا عن طريق الحقن في الوريد تأثير موت الخلايا المبرمج من خلال مشاركة caspase-9 الذي يتسبب بعد ذلك في تنشيط caspase-3، وتنشيط PARP ، وتفتيت الحمض النووي ، وعدم التعبير عن عامل Bcl2 في الخلايا الورمية**( Mushtaq *et al.*,2020).**

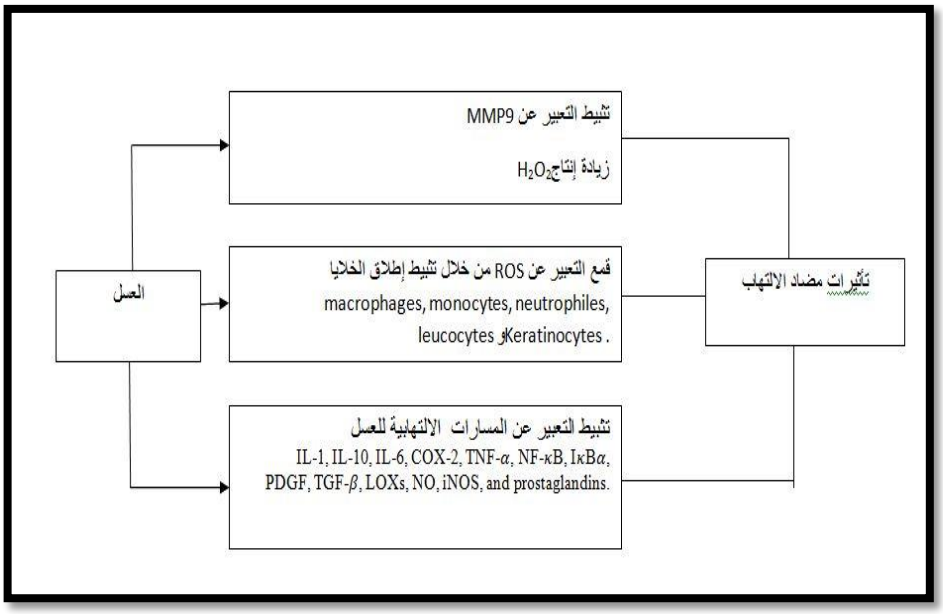
يقلل وجود Quercetin في العسل من نشاط النسخ وإشارات β-catenin / Tcf بالخلايا في SW480 ، كما يُظهر تثبيط PI3K-Akt / PKB بواسطة Quercetin الموجود في العسل أيضًا تأثيرًا مضادًا للسرطان**( Mushtaq *et al.*,2020 ) (الشكل12)**




**شكل12:** تأثير العسل على مسار موت الخلايا المبرمج **(Ahmed *et* Othman, 2013)**

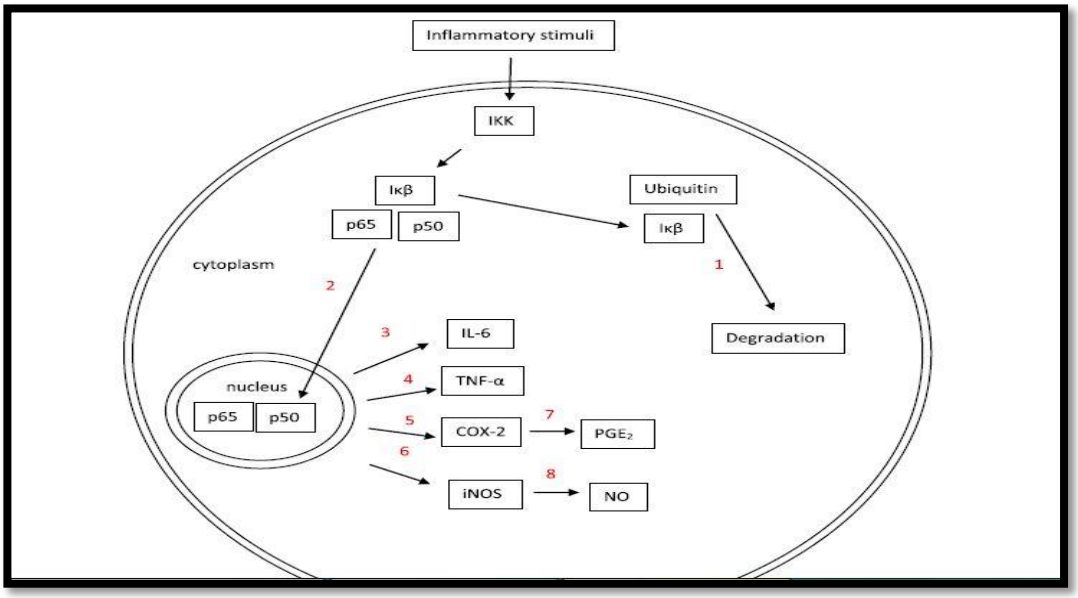
### I - 6- 3- خاصية النشاط المضاد للإلتهاب و المناعة

يمنع الإلتهاب المزمن الشفاء عن طريق إتلاف الأنسجة. يقلل العسل من الإستجابة الإلتهابية في النماذج الحيوانية ، ومزارع الخلايا ،والتجارب السريرية. ويعزى لنشاط المضاد للالتهاب إلى المركبات الفينولية والفلافونويد وذلك من خلال قمع الأنشطة المؤيدة للالتهابات لإنزيمات الأكسدة (COX-2) و / أو (iNOS). تمت الإشارة إلى أن العسل ومكوناته تشارك في تنظيم البروتينات بما في ذلك iNOS و ornithine decarboxylase و tyrosine kinase و COX-2. تم اكتشاف أن أنواع مختلفة من العسل تؤثر على إنتاج عامل نخر الأورام ألفا (TNF-α)،وعامل إلتهاب الأنسجة بيتا (IL-1β)،وانتاج IL-6. هذه السيتوكينات تعتبرمن الجزيئات الإلتهابية التي تلعب دورًا في إستجابة الجهاز المناعي، يزيد العسل من تنشيط الخلايا اللمفاوية التائية والبائية ، والأجسام المضادة ، وéosinophiles ، و neutrophiles ، وmonocytes ، وتوليد الخلايا القاتلة الطبيعية أثناء الإستجابات المناعية الأولية والثانوية في زراعة الأنسجة **(Samarghandian *et al.*, 2017)(الشكل13).**




**شكل13**: آلية عمل تأثير مضادات الالتهابات للعسل **(Ahmed et *al.*,2017)**

العسل عامل معدل للمناعة له دور مزدوج كمضاد للإلتهابات من خلال تقليل تنظيم عوامل النسخ الالتهابي (NF-BوMAPK) و / أو قمع إنتاج السيتوكينات المؤيدة للالتهابات،ومحفز إنتاج الوسائط الإلتهابية مثلprostaglandinE2 (PGE2)وانزيمات(COX-2)**(الشكل14).( Ranneh *et al.*, 2021)**




**شكل 14:**تثبيط العسل في التفاعلات المختلفة في عملية الالتهاب**(Ranneh *et al.*, 2021)**

## I - 7- الإستعمالات الطبية للعسل

العسل هو أحد أكثر المنتجات الطبيعية تقديرًا التي تم تقديمها للبشرية منذ العصور القديمة. لا يستخدم العسل كمنتج غذائي فحسب ، بل يستخدم أيضًا في الطب التقليدي وكعلاج بديل للحالات السريرية التي تتراوح من التئام الجروح إلى علاج السرطان**(Samarghandian *et al.*, 2017) (الجدول5).**

**جدول5 :** الإستعمالات الطبية للعسل و آليات عملها

| الاستعمال الطبي | الآلية | المرجع |
|---|---|---|
| **إلتئام الجروح** | - نمو الخلايا الليفية والخلايا الظهارية التي تشارك في عملية إصلاح الأنسجة.<br>- تطوير الأوعية الدموية في الأنسجة الندبية<br>- إنتاج الكولاجين من خلال تنشيطه. | **(Descottes, 2009)**<br>**(Couquet, 2013)** |
| **علاج الإسهال** | - تأثير مبيد للجراثيم ضد العديد من الميكروبات المسببة للأمراض المعوية مثل الإشريكية القولونية المسببة للأمراض ، والسالمونيلا. | **(Nweze *et al.*, 2019)** |

| | | |
|---|---|---|
| **علاج أمراض الجهاز الهضمي** | - مثبط قوي للعامل المسبب للقرحة والالتهاب.<br>- المحافظة على الجراثيم المعوية الصحية عند تناوله عن طريق الفم.<br>- التقليل من مخاطر تلف الأمعاء و الإصابة بسرطان الأمعاء. | **(Jeffrey et Echazarreta. ,1996)**<br>**(Nicolas, 2020)** |
| **علاج مرض السكري والبنكرياس** | -تعزز حالة مضادات الأكسدة الكلية (SAP) ، اختزال الجلوتاثيون (GR) ، CAT، (GST)Glutathion S-transferase وأنشطة إنزيم (GPx).<br>-التقليل من مستويات الدهون لكل أكسدة واستعادة نشاط(SOD ) على الكلى. | **(Mushtaq *et al*,2020)** |
| **علاج أمراض القلب والأوعية الدموية** | - تحسين توسع الأوعية التاجية.<br>- تقليل قدرة تجلط الصفائح الدموية في الدم.<br>- تثبيط البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة من الأكسدة. | **(ÙSamarghandian *et al.*,2017)** |
| **التأثير على الكبد** | -إعادة أنشطة CAT و GPx و SOD الكبدي في كبد الفئران.<br>-تقليل الضرر الكبدي في ذكور الفئران BALB / c المعالجة بترايكلورفون. | **(Mushtaq*et al.*,2020)** |

# الفصل الثاني

## الإجهاد التأكسدي و مضادات الأكسدة

## II- تعريف الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة

### II- 1- الإجهاد التأكسدي

#### II- 1-1- تعريف الإجهاد التأكسدي

الإجهاد التأكسدي هو ظاهرة غير طبيعية تحدث داخل خلايا أو أنسجة عندما يتجاوز إنتاج جذور الأكسجين قدرتها المضادة للأكسدة .تؤدي زيادة الجذور الحرة إلى إتلاف الجزيئات الكبيرة الأساسية للخلية ،فائض الجذور الحرة التي لا تحيدها الدفاعات ضار جدًا للجزيئات الكبيرة الأساسية لخلايا ، مما يؤدي إلى حدوث حالات شاذة في التعبير عن الجينات ومستقبلات الأغشية ، تكاثر الخلايا أو موتها ، إضطرابات المناعة ، الطفرات ، ورواسب البروتين أو الدهون في الأنسجة**( Favier, 2006).**

#### II- 1- 1- 1- الجذور الحرة

هي ذرات أو مجموعات ذرات بها عدد غير زوجي من الإلكترونات ، ذات نصف عمر قصير و هي مواد شديدة التفاعل يمكن أن تؤدي إلى تفاعلات متسلسلة ، تسمح بتشكل جذور حرة. تشمل أنواع الجذور الحرة أنواع الأكسيجين التفاعلية (ROS) و أنواع النتروجين التفاعلي (NOS)، تمثل ROS أهم فئة تم إنشاؤها في الأنظمة الحية **(Wu *et al.*, 2013) (الجدول6).**

**جدول6:** الجذور الحرة الرئيسية وتركيبها الكيميائي**( Fontaine, 2007)**

| Symbole | Nom | Concentration | Demi-vie (37 °C) |
|---|---|---|---|
| $^{\bullet}O_2^-$ | Radical superoxyde | $10^{-12}$ à $10^{-11}$ M | Enzymatique* |
| $^{\bullet}OH$ | Radical hydroxyle | – | $10^{-9}$ s |
| $^{\bullet}NO$ | Monoxyde d'azote | – | 1 à 10 s |
| $^{\bullet}H_2O_2$ | Peroxyde d'hydrogène | $10^{-9}$ à $10^{-7}$ M | Enzymatique* |
| $^{\bullet}ONOO^-$ | Peroxynitrite | $10^{-9}$ à $10^{-7}$ M | 0,05 à 1 s |

#### II- 1- 1- 2-أنواع الجذور الحرة

**أ- فوق الأكسيد Anion Superoxide**

هو أكثر أنواع ROS إنتشارًا والذي يتكون من العملية الأنزيمية وتفاعل الأكسدة الذاتية وبواسطة تفاعلات تنقل الإلكترون غير الأنزيمية التي يتم فيها نقل الإلكترون إلى الأكسجين الجزيئي.غالبا ما ينتج داخل الميتوكوندريا ويكون تفاعله مع الجزيئات الحيوية منخفضًا. تشمل الإنزيمات التي يمكن أن تنتج الأكسيد الفائقxanthine oxidase، lipooxygenase، cyclooxygenase، وNADPH oxidase. يمكن أن يوجد في شكلين مثل $O_2^{-\bullet}$ أو جذور الهيدروبيروكسيل ($HO_2$) عند درجة حموضة منخفضة يعتبر جذر الهيدروبيروكسيل هو الشكل الأكثر أهمية ويمكن أن يدخل بسهولة إلى طبقة ثنائية الفسفوليبيد أكثر من الشكل المشحون($O_2^{-\bullet}$). تحت درجة الحموضة الفسيولوجية، فإن الشكل الأكثر حدوثًا هو الأكسيد الفائق. يمكن أن

يعمل كعامل إختزال ويقلل من مركبات الحديد مثل cytochrome-c و ferric-ethylene diaminetetraacetic acid (Fe $^{+}$ -EDTA) ،حيث يتم تقليل $Fe^{+3}$ إلى $Fe^{+2}$ و يمكن أن يعمل أيضًا كعامل مؤكسد ويؤكسد حمض الأسكوربيكوتوكوفيرول **(Phaniendra *et al* .,2015).**

$$O_2 + e^- \longrightarrow O\bullet^-_2$$

$$O_2 + Fe^{+2} \rightarrow Fe^{+3} + O\cdot^-_2 \text{(أكسدة تلقائية)}$$

يتفاعل جذريا لأكسيد الفائق مع جذري آخر للأكسيد الفائق في تفاعل تفكك، حيث يتأكسد أحد الجذور إلى أكسجين و يتحول الآخر إلى بيروكسيد الهيدروجين**(Phaniendra *et al* .,2015).**

$$O_2 + O\bullet^-_2 + 2H_2O \xrightarrow{Cu,Zn,Mn-SOD} H_2O_2 + O_2$$

**ب- جذور الهيدروكسيل (OH •)**

يتم إنتاج جذور الهيدروكسيل في الموقع إما عن طريق أكسدة الماء أو أيونات الهيدروكسيد،أو بإستخدام مجموعة من طرق الأكسدة المختلفة، وهي$O_3$ / $H_2O_2$ ،UV ،ultrasonication ،$Fe^{2+}$.

$$H_2O \rightarrow OH\bullet + H^+ + e^-$$

$$OH^- \rightarrow OH\bullet + e^-$$

جذور الهيدروكسيل هي من الأنواع شديدة التفاعل، تهاجم معظم الجزيئات العضوية وهي شديدة التأكسد في الطبيعة نظرا لإمكانات الأكسدة التي تتميز بها،وكذا نظرًا لطبيعتها غير الإنتقائية **(Kaur *et al.*,2019).**

**ج- بيروكسيد الهيدروجين**

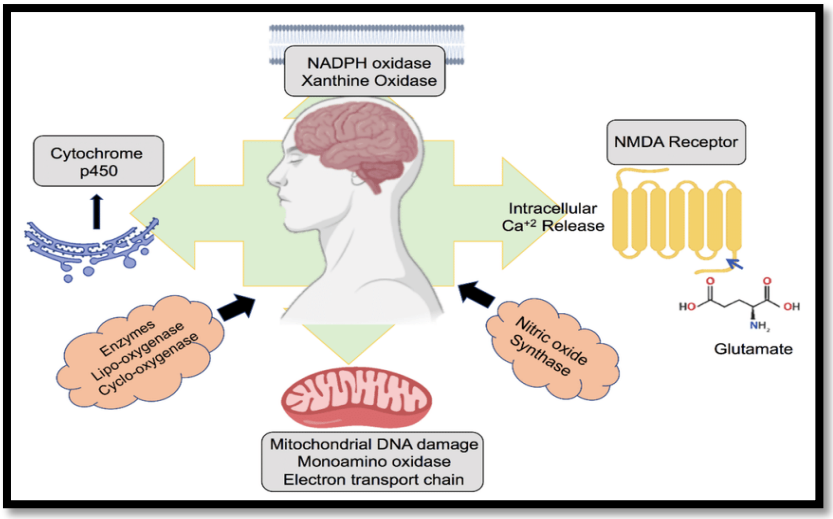
($H_2O_2$) هو عامل مؤكسد يتسبب في تلف الخلايا عند التركيزات الغير مناسبة ويؤدي إلى التوقف في تقدم دورة الخلية ، مما يتسبب في موت الخلية**(Heo*et al.*,2020).** يتولد بيروكسيد الهيدروجين في العديد من العمليات البيولوجية ويُعتبر المرسال الرئيسي لإشارات الأكسدة والاختزال. على الرغم من كونه مادة مؤكسدة قوية ، إلا أن حواجز الطاقة عالية التنشيط تجعله غير متفاعل مع معظم الجزيئات البيولوجية . يتفاعل بشكل مباشر مع الثيول ذو الوزن الجزيئي المنخفض وبقايا السيستين في معظم البروتينات ، يكون التفاعل بطيئًا.وتعتبر المراكز المعدنية الانتقالية ، والبروتينات السلينية ، وبروتينات الثيول منها catalase، glutathione peroxidases و peroxiredoxins **(,2013) Winterbourn**.

**أحادي أكسيد النيتروجين(Nitric oxide (NO**

يعتبر أحادي أكسيد النيتروجين جزيء جذري حر صغير قابل للنفاذ عبر الدهون، يتم تصنيعه بواسطة NO synthase (NOS) وينتشر من موقع التوليف الخاص به إلى أهداف في الخلايا المحيطة. تسمى عملية الربط التساهمي لأكسيد النيتروجين بأهداف البروتين S-nitrosylation، يعتمد أكسيد النيتروجين على صغر حجمه وتفاعله وقابليته للانتشار أكثر من أي جزيء بيولوجي آخر لممارسة آثاره البيولوجية. يلعب NO أدوارًا مهمة في الوظيفة الطبيعية بالإضافة إلى الخلل الوظيفي للدماغ، حيث يظهر بشكل متناقض خصائص واقية من الخلايا وكذلك خصائص سامة للخلايا في سياقات مختلفة **(Giovinazzo *et al.*,2014).**

## II- 1- 1- 3- مصادر الجذور الحرة

نميز مصدرين للجذور الحرة احدهما داخلي اذ تنتج من عمليات التمثيل الغذائي بالميتوكوندريا أو من مصادر خارجية كالتعرض للأشعة السينية و الأوزون، تدخين السجائر ، ملوثات الهواء و المواد الكيميائية الصناعية تشمل التفاعلات الإنزيمية التي تعمل كمصدر للجذور الحرة ، تلك المشاركة في السلسلة التنفسية ، في البلعمة، في تخليق prostaglandins و في نظامCytP-450ويمكن أيضا تكوين الجذور الحرة في التفاعلات غير الإنزيمية للأكسيجين مع المركبات العضوية**(Lobo *et al.*,2010 )(الشكل 15).**



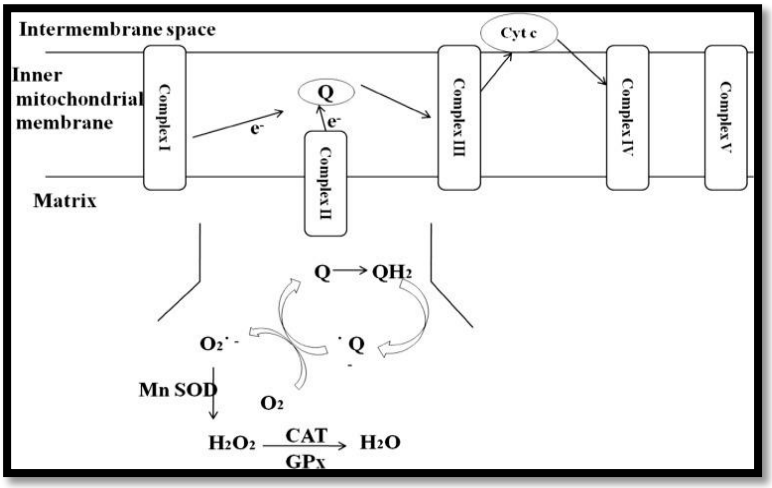

**شكل 15:** المصادر الداخلية للجذور الحرة**( Mitra *et al.*,2020)**

### أ- المصادر الداخلية للجذور الحرة

#### أ- 1- الميتوكوندريا

تُشتق معظم أنواع الأكسجين التفاعلية داخل الخلايا من الميتوكوندريا **(الشكل16)**. يتم إنتاج جذورالأكسيد الفائق في موقعين رئيسيين في سلسلة نقل الإلكترون، وهما المركبI( NADH) dehydrogenase والمركب III(ubiquinone cytochrome c reductase) . ينتج عن نقل الإلكترونات من المركب I أو IIإلى الإنزيم المساعدQ أوubiquinone(Q) تكوين شكل مختزل من الإنزيم المساعد Q (QH2). يجدد الشكل المختزلQH2 الإنزيم المساعدQ عبرأنيون semiquinoneالوسيط غيرالمستقر (Q ·)

في دورة Q. وينقل المركب المتشكل · Q- على الفور الإلكترونات إلى الأكسجين الجزيئي مما يؤدي إلى تكوين جذري الأكسيد الفائق **(Phaniendra *et al* .,2015).**




**شكل 16:**إنتاج الميتوكوندرياROS **(Phaniendra *et al* .,2015)**

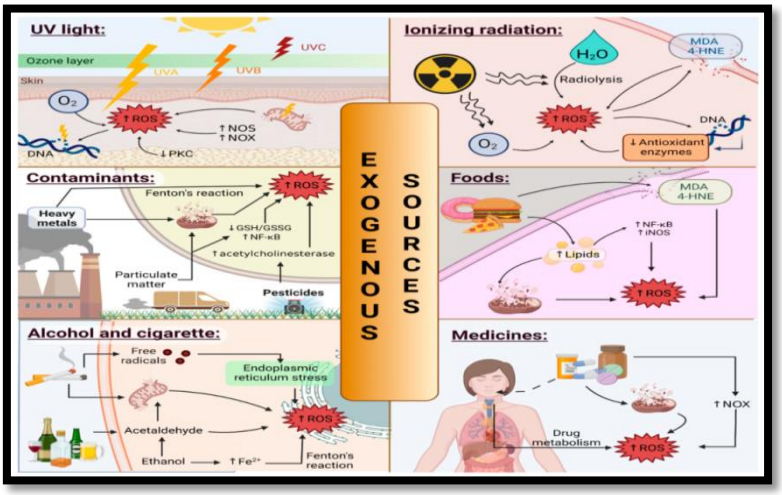
**أ -2 Peroxisome -**

تشارك البيروكسيسومات في العديد من المسارات الأيضية الهامة منها أكسدة الأحماض الدهنية β و α ، واستقلاب الأحماض الأمينية والجليوكسيلات ، وتخليق المركبات الدهنية ، ومعظم الإنزيمات التي تحفز هذه العمليات تنتج أنواع الأكسجين التفاعلية أثناء نشاطها.

تحتوي البيروكسيسومات أيضًا على xanthine oxidase والصيغة المحفزة من nitric oxide synthase ، والتي تنتج $O_2^{-}$• و NO• ، على التوالي. والتي تتفاعل بسرعة مع تشكيل ONOO و $H_2O_2$ مما يؤدي إلى ظهور جذور OH• عبر تفاعل Fenton ، كما تحتوي البيروكسيسومات ، بالإضافة إلى catalase، على إنزيمات أخرى مضادة للأكسدة(**Dimeo *et al.*,2016**).

## ب- المصادر الخارجية للجذور الحرة

قد تساهم العوامل البيئية كالتعرض لدخان السجائر ، والأشعة فوق البنفسجية ،و أيونات المعادن الثقيلة ، والأوزون ،و المواد المسببة للحساسية ،و الأدوية أو السموم ،و الملوثات ، أو المبيدات الحشرية ، في زيادة إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية في الخلايا**(الشكل17 ).**




**شكل 17:**المصادر الخارجية للجذور الحرة **(Aranda-Rivera *et al.*, 2022)**

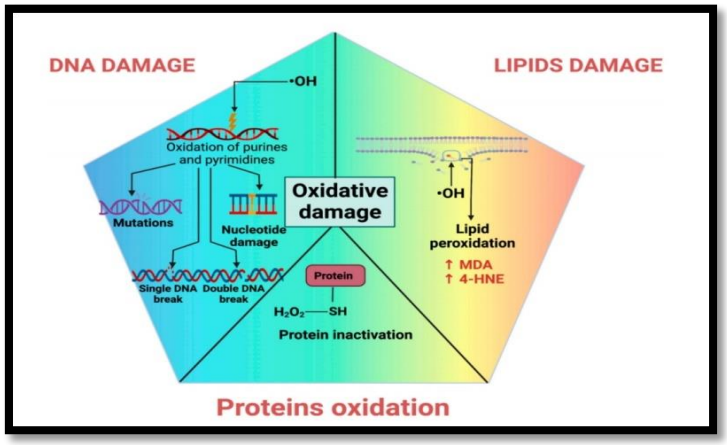
وتتعدد آليات انتاج الجذور الحرة بإختلاف المصادر الخارجية **(الجدول07).**

**جدول07:**المصادر الخارجية للجذور الحرة

| المصدر | آلية التحول | نوع الجذر | المرجع |
|---|---|---|---|
| الأشعة فوق البنفسجية (UVA) | حدوث تفاعلات مؤكسدة عن طريق تحفيز الريبوفلافين والبورفيرين و NADPH-oxydase. | إنتاج 8-oxo-guanine وانخفاض مستوى الجلوتاثيون(GSH) داخل الخلايا . | **(Sharifi-Rad *et al* .,2019)** |
| الرصاص | تحفيز بيروكسيد الدهون. | زيادة تركيز الجلوتاثيون بيروكسيديز في أنسجة المخ . | |
| الحديد والنحاس والكادميوم | تحفيز الجذور الحرة عن طريق تفاعلات من نوع Fenton أو Haber-Weiss و أيضًا عن طريق تفاعلات مباشرة بين أيونات المعادن والمركبات الخلوية ذات التأثيرات المماثلة. | إنتاج جذور من نوع ثيول. | |
| الإشعاع المؤين | تحويل جذور الهيدروكسيل والأكسيدات الفائقة والجذور العضوية. | إنتاج هيدروكسيدات عضوية وبيروكسيد الهيدروجين. | |

## II- 1- 2- المؤشرات البيولوجية للتوترالتأكسدي :

تم اعتبار أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) والجذور الحرة الأخرى أحد العوامل الوسيطة المهمة ،أن السمية الجينية تحفز الإفراط في إنتاج نواتج ROS ، مما يؤدي إلى نخر وإصابة خلوية من خلال مسارات مختلفة، بما في ذلك أكسدة البروتين ، بيروكسيد الدهون ، وتلف الحمض النووي وبالإضافة إلى ذلك ، فإن فائض توليد الجذور الحرة يعزز تنشيط إجهاد الأنسجة النيتروجينية **(Laaroussi *et al.*,2021)** **(الشكل 18).**



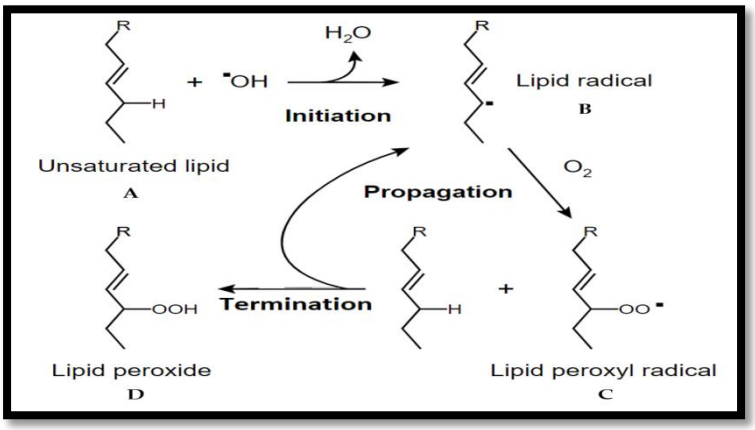

**شكل 18:** الضرر التأكسدي الناجم عن الإجهاد التأكسدي**(Laaroussi *et al.*,2021)**

### II- 1- 2- 1- أكسدة الحمض النووي

يتفاعل OH• مع الحمض النووي عن طريق إضافة الروابط المزدوجة لقواعد DNA البيورين (adenine, guanine) أو البيريميدين (cytosine, thymine) ومن خلال استخلاص ذرة الهيدروجين من مجموعة الميثيل للقاعدة الازوتية thymine وكل من روابط CH في السكر deoxyribonucleotidesويمكن أن تؤدي المنتجات المتولدة من هذه التفاعلات إلى إصابات متسلسلة ، أو ربط الحمض النووي بالبروتينات ، أو المواقع المتجمعة من المعروف أن OH• يؤكسد بشكل مفضل قاعدة guanine للحمض النووي ، مكونًا بشكل أساسي (8-OHdG) 8-hydroxy-2 -deoxyguanosine. يؤثر على آليات مثل الاستنساخ و الترجمة تتلف deoxyribonucleotides التي تتكون منها الحمض النووي بسبب الإجهاد التأكسدي، مما يؤدي إلى ظهور (ROS) . ويعتبر جذرOH • المسؤول عن الضرر المباشر للأحماض النووية ، وهو شديد التفاعل حيث لوحظ تلف الحمض النووي في العديد من الأمراض مثل أمراض القلب والأوعية الدموية ، والإلتهاب ، أو الأمراض العصبية التنكسية ، والشيخوخة الطبيعية ، أو التعرض للأدوية والملوثات البيئية .لذلك ، كثيرًا ما تم ربط الضرر التأكسدي بالحمض النووي كعامل مهم للآفات الطفرية في تطور السرطان **. (Aranda-Rivera *et al.*,2022)**

## II- 1- 2- 2- بيروكسيد الدهون

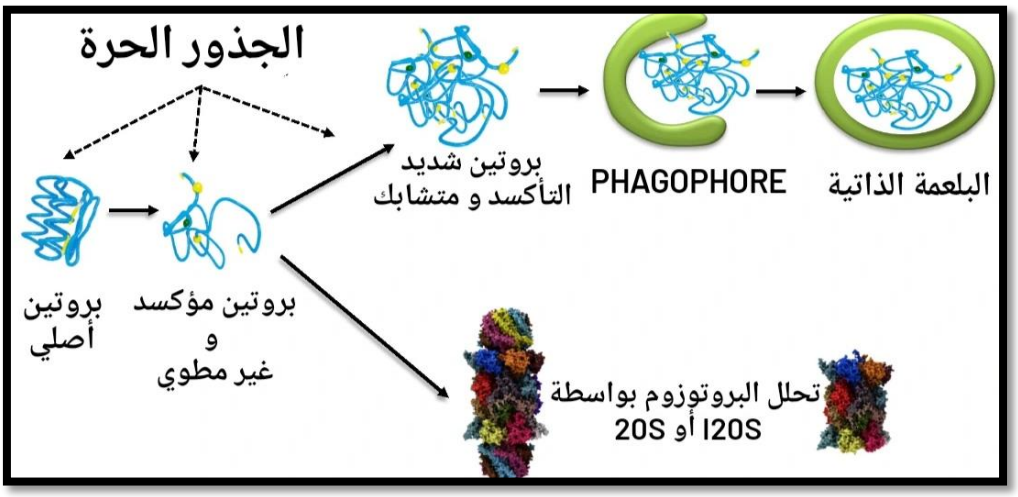
ينتج بيروكسيد الدهون من المواد المؤكسدة مثل (RONS ) التي تهاجم الدهون غير المشبعة ، مما يتسبب في تكوين منتجات أكسدة الدهون و التي تشتمل على (4-HNE)4-hydroxy-2-nonenal و MDA و oxylipins و isoprostanes و oxysterols . هذه المنتجات شديدة التفاعل وتتفاعل مع الجزيئات الحيوية مثل الحمض النووي والبروتينات أو الدهون الأخرى ، مما يؤدي إلى تأثيرات بيولوجية عديدة . (4-HNE ) هو أحد منتجات أكسدة الدهون الرئيسية الناتجة عن مسارات الأكسدة الأنزيمية وغير الأنزيمية من الفسفوليبيدات المؤكسدة التي تحتوي على سلاسل الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة (PUFA) سلاسل HNE. n-6 يمكن أن يزيد من تكوين ROS والإلتهابات ، تغيير إشارات الخلية، ويسبب تلف الخلايا و الموت المبرمج . منتج آخر من بيروكسيد الدهون هو MDA ، والذي قد ينتج كنتيجة لأكسجة حمض Arachidonic enzymatic أو كمنتج نهائي لأكسدة الأحماض الدهنية n-3 وn-6 و هو جزيء شديد التفاعل ، لذا فهو نموذجي لمنتجات الربط المتقاطع لتشكيل أو تغيير بنية الخلايا ووظيفتها واستجابتها .بالإضافة إلى MDA و ( HNE4) ، فإن oxylipins عبارة عن مستقلبات دهنية نشطة بيولوجيًا مشتقة من خلال الأكسدة التلقائية لPUFS، و أكسدة الإنزيمات الحلقية ، و lipoxygenase ، و cytochrome P450، و15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase، و إنزيمات epoxide hydrolase القابلة للذوبان .قد تظهر Oxylipins تأثيرات إيجابية وسلبية .تتضمن هذه المنتجات الإلتهاب ، والإستجابة للألم ، وإلتصاق الخلايا ، وموت الخلايا المبرمج ، وتكوين الأوعية الدموية ، وتخثر الدم ، ونفاذية الأوعية الدموية **(Aranda-Rivera *et al* .,2022) (الشكل19).**




**شكل19** : آلية بيروكسيد الدهون : (A)الدهون غير المشبعة.(B) الدهون الجذرية (C) الجذور الدهنية بيروكسيل(D) . بيروكسيد الدهون.(**González-Minero *et al*.,2020**)

### II- 1- 2- 3- أكسدة البروتين

يتم أكسدة البروتينات على مستوى مجاميع السلفهيدريل (-SH) للبروتينات على مستوى الأحماض الأمينية بالكبريت ، مثل Cys وMet .تحدث التفاعلات الجذرية مع البروتينات أولاعن طريق إستخراج ذرة الهيدروجين في مواضع مجاورة لمجموعات عدم تموضع الإلكترون مثل:( SH–)، ومجموعات الهيدروكسي (في السيرين و ثريونين) ، الكربوكسيل والأميد (في حمض الأسبارتيك ، حمض الجلوتاميك ، الأسباراجين ، الجلوتامين) ، ومجموعة الغوانيدين في الأرجينين ؛ ثانيا إستخراج الإلكترون من المواقع الغنية بالإلكترون . وأخيرا إضافة إلى المراكز الغنية بالإلكترون، ينتج عن أكسدة البروتين تعديلات ما بعد الترجمة التي تغير تكوين الأحماض الأمينية والبروتينات وهيكلها وشحنها وكرهها للماء / قابلية الماء.تمنع هذه التعديلات وظائفها ، مثل النشاط الأنزيمي ، وتحدث تغييرات توافقية ،تزيد البروتينات المؤكسدة أيضًا من خطر الإصابة بأمراض الإنتكاس العصبي أو أمراض القلب والأوعية الدموية أو الرئة**(Aranda-Rivera *et al.*,2022)(الشكل20).**



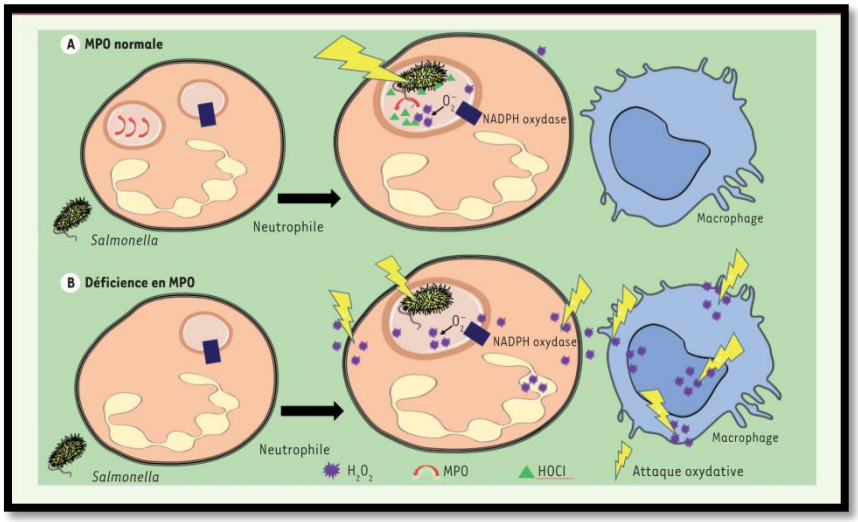

**شكل20:**أكسدة البروتين**(Höhn *et al* .,2013)**

### II- 1- 2- Glucose-4

يتأكسد الجلوكوز في وجود الحديد ، مما يؤدي إلى توليد أنواع الأكسجين المنشط(EOA)، ولكن أيضًا إنتاج شكل ألدهيد من الجلوكوز ، يرتبط هذا الجزيء بسرعة بالبروتينات التي تظهر فيها بقايا (CML) هذه المجموعة تلتقط النحاس بسهولة ، مما يتسبب في حدوث إثارة تفاعلات من نوع فنتون مع إنتاج الجذور الحرة و يؤدي هذا إلى زيادة بيروكسيد الدهون .هذه الآلية تفسر لماذا غالبًا ما يرتبط مرض السكري بمضاعفات القلب والأوعية الدموية**( Haleng *et al.*,2007).**

## II- 1- 2- 5- Myéloperoxydation

يقوم إنزيم myeloperoxidase (MPO) ، بتحويل $H_2O_2$ إلى -HOCl، $O_2$•، $H_2O_2$ و HOCl تشكل أنواع الأكسجين التفاعلية.(ROS) هذه مسؤولة عن الإجهاد التأكسدي وتسمح بتدمير العامل الممرض، لكن هذا الإجهاد التأكسدي يمكن أن يؤدي أيضًا إلى حالة مرضية إذا كان نظام إزالة السموم مشبعًا ، لأن أنواع الأكسجين التفاعلية هذه يمكن أن تسبب أضرارًا جانبية في الأنسجة المحيطة وتسبب الالتهاب عندما يصاب الفرد ببكتيريا السالمونيلا ، فإن النوى متعددة الأشكال تبتلع العامل الممرض .مما يؤدي الإندماج مع الحبيبات الليزوزومية الموجودة في الخلية والتي تحتوي على MPO و NADPH oxidase إلى تكوين الجسيم البلعمي .يسمح NADPH oxidase المرتبط بغشاء الأخير بتحويل الأكسجين إلى أيون فوق أكسيد ($O_2$•-) ؛ والتي سيتم تحويلها إلى بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$).(A) في الأفراد الذين لديهم مستويات طبيعية من MPO ، يتم تحويل $H_2O_2$ إلى HOCl ويظل الهجوم التأكسدي بواسطة ROS موضعيًا،(B) في الأفراد الذين يعانون من نقص MPO أو بدونه ، لا يتم تحويل H2O2 إلى HOCl وينتشر خارج neutrophile إلى البالعة ، مما يسبب الإجهاد التأكسدي في مواقع الإصابة**(Poret *et al*.,2017) (الشكل 21).**






**شكل 21**:إنتاج ونشر ROS في وجود (A) أو غياب MPO(B) منال عندما يصاب الفرد ببكتيريا السالمونيلا**(Poret *et al*.,2017)**

### II- 1- 3- تأثير الإجهاد التأكسدي على ظهور الأمراض

يشترك الإجهاد التأكسدي في آليات موت الخلايا في الأمراض التنكسية العصبية"مرض الزهايمر"، و يعد مرض باركنسون مجهول السبب والتصلب الجانبي الضموري من أكثر هذه الحالات شيوعًا وفي هذه الحالات الثلاث ، تكون علامات الإجهاد التأكسدي غير طبيعية في مرض الزهايمر ، يلعب الإجهاد التأكسدي دورًا في كل من الفرضية المسببة المرتبطة ببروتين béta-amyloïde أو في الفرضية الإلتهابية أو الإضطرابات العصبية لاستقلاب الكالسيوم و / أو وظائف الميتوكوندريا **(Desport *et* Couratier ,2002)(الجدول 8).**

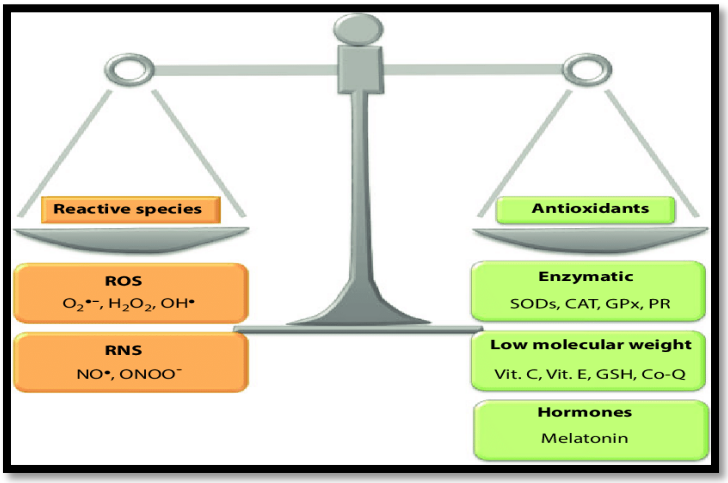
**جدول8:** الأمراض المرتبطة بالإجهاد التأكسدي و آلية عملها

| المرض | الآلية | المرجع |
|---|---|---|
| مرض السكري | -يرتبط ROS بحالة مرض السكري.<br>- يضعف فرط سكر الدم المزمن وظيفة خلايا بيتا وحساسية الأنسولين ، وهي ظاهرة تُعرف باسم سمية الجلوكوز.<br>- إن سمية الجلوكوز تساهم في إختلال وظيفي للخلية بيتا من خلال الإجهاد التأكسدي ، نتيجة لزيادة إنتاج الميتوكوندريا لـ ROS الذي يتبع عملية التمثيل الغذائي المفرط للجلوكوز.<br>-خلايا البنكرياس معرضة بشكل كبير للإجهاد التأكسدي لأن لها تعبيرات منخفضة جدًا وأنشطة الإنزيمات المضادة للأكسدة. | **(kabamba *et al* .,2014)** |
| أمراض القلب | في حالة حدوث خلل وظيفي ، تُفرز البطانة المتغيرة EOA و NO بكمية عالية بشكل غير طبيعي .ثم يفقد NO خصائصه الفزيولوجية و يصبح شديد السمية من خلال تفاعله الفوري مع OAEs وتشكيل peroxynitrites فتضيق الأوعية.<br>- إن ضعف بطانة الأوعية الدموية يعد الخطوة الأولى في عملية تصلب الشرايين.<br>- تؤدي AOEs التي تنتجها البطانة المصابة إلى أكسدة(LDL). | **(Defraigne *et* Pincemail , 2002)** |
| مرض الزهايمر | - يشير الإرتفاع داخل الدماغ لmalondialdéhyde إلى أكسدة الدهون ، ويشير إرتفاع 8-OH-2-deoxyguanosine وheme-oxidase إلى آفات مؤكسدة في الحمض النووي . | **( Desport *et* Couratier ,2002)** |
| مرض باركيد سون | - تنتكس خلايا بارس مضغوطة من المادة السوداء (SN) ، المرتبطة بوجود اجسام Lewy<br>- ينطوي موت الخلايا العصبية الدوبامينية على الإجهاد مؤكسد على أن الخلايا العصبية الدوبامينية لكميات كبيرة من الجذور الحرة المؤكسجة .<br>- تعد SN واحدة من أغنى مناطق الدماغ بالحديد ، والتي يمكن أن تعزز تكوين الجذور الحرة من $H_2O_2$بواسطة تفاعل Fenton . | **( Desport *et* Couratier ,2002)** |

## II- 2 - مضادات الأكسدة

### II- 2- 1- تعريف مضادات الأكسدة

تعرف مضادات الأكسدة هي كل مادة أو مركب يزيل الجذور الحرة للأكسجين أو يثبط عملية الأكسدة في الخلية **(Alzoghaibi, 2013)**.يضم جسم الإنسان مجموعة متنوعة من مضادات الأكسدة التي تعمل على موازنة تأثير المواد المؤكسدة**(Birben *et al.*,2012)** ويمكن أن يفقد هذا التوازن بسبب الإفراط في إنتاج الجذور الحرة أو عدم كفاية تناول العناصر الغذائية التي تحتوي على جزيئات مضادة للأكسدة **(Alzoghaibi, 2013)(الشكل22).**

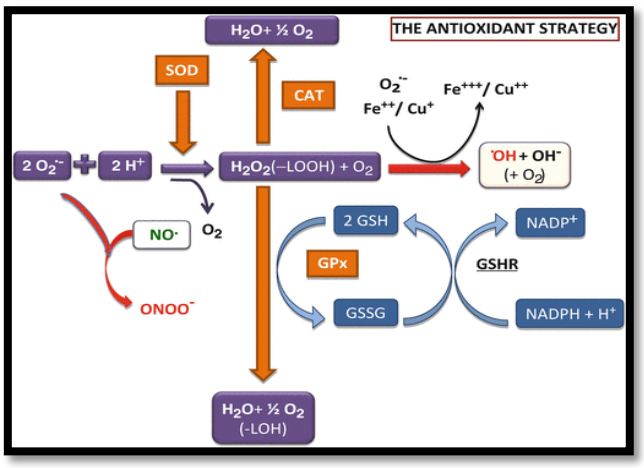



**شكل 22:**توازن المؤكسدات / مضادات الأكسدة في النظم البيولوجية**(Cortijo *et al.*,2017)**

### II- 2- 2- أنواع مضادات الأكسدة

#### II- 2- 2- 1- مضادات الأكسدة الإنزيمية

تعتبر الإنزيمات المضادة للأكسدة مهمة كجزء من آلية الدفاع الخلوي ضد توليد الجذور الحرة وفي منع وإصلاح الضرر الجزيئي الناتج عن الجذور الحرة. إن الإنزيمات المضادة للأكسدة ضرورية للحفاظ على توازن و تعديل توازن الأكسدة والاختزال**(Lee *et* Park ,2021)(الشكل23).**




**شكل 23:** الإنزيمات المضادة للأكسدة **( Sáez *et* Están-Capell, 2014)**

**أ- Superoxide Dismutase (SOD)**

ينتشر إنزيم ديسموتاز الفائق بشكل عام في الجسم اذ يحفز تفكيك الأكسيد الفائق ($O_2^{\bullet -}$) ، و كمنتج ثانوي لهذا التفاعل يتم إنتاج بيروكسيد الهيدروجين$H_2O_2$ ، ويصاحب هذا التفاعل تفاعلات الأكسدة والإختزال للأيونات المعدنية الموجودة في المواقع النشطة لـ SOD. في الثدييات يضم إنزيم SOD ثلاثة صورمتشابهة خلوية(Cu / Zn-SOD) $SOD_1$، المتواجد بالميتوكوندريا و (Mn-SOD) $SOD_2$ ، الخارج الخلوي (Cu / Zn-SOD) $SOD_3$. تختلف هذه الصورعن بعضها البعض باختلاف هياكلها البروتينية الرباعية، ومواقعها الكروموسومية، ومتطلباتها من العوامل المساعدة المعدنية ، وتوزيعاتها الجينية وتوزيعها الخلوي**(Eddaikra *et* Eddaikra,2020) .**

تتضمن الآلية الجزيئية لـ SOD نقل الإلكترون من الأكسيد الفائق إلى أيون معدني في الموقع النشط للإنزيم. ينتج عن هذا تكوين بيروكسيد الهيدروجين والأكسجين الجزيئي ، وهما أقل تفاعلًا وإتلافًا للخلايا من جذور الأكسيد الفائق**(McCord *et* Fridovich,1996).**

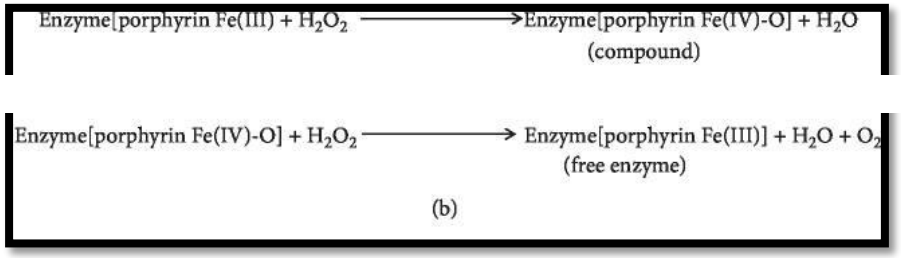
$$SOD\text{-}(Ox) + O_2^{\circ -} \longrightarrow SOD\text{-}(Red) + O_2$$
$$SOD\text{-}(Red) + O_2^{\circ -} + 2H^+ \longrightarrow SOD\text{-}(Ox) + H_2O_2$$
$$O_2^{\circ -} + O_2^{\circ -} + 2H^+ \longrightarrow O_2 + H_2O_2$$

**ب- إنزيم Catalase**

يعد إنزيم catalase أحد أهم إنزيمات مضادات الأكسدة، إنه موجود في جميع الكائنات الحية الهوائية تقريبًا **(Nandi *et al.*, 2019 )**.يعمل كمحفز لتحويل بيروكسيد الهيدروجين إلى أكسجين وماء. يبطل تأثير بيروكسيد الهيدروجين الموجود داخل الخلايا **(Sathiya Jeeva *et al.*, 2015).**

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

catalase البشري هو إنزيم مضاد للأكسدة داخلي المنشأ يبلغ حوالي 60 كيلودالتون، يأخذ هيكل البروتين الخاص به شكل رباعي يتكون من مجمع من 4 وحدات فرعية متطابقة، تحتوي كل منها على 527 من بقايا الأحماض الأمينية ومجموعة الهيم مع $Fe^{+3}$ **(Eddaikra *et* Eddaikra, 2020)** تتضمن الخطوة الأولى في آلية التفاعل تكوين مركب وسيط مميز طيفيًا**(الشكل24 (a))** وهوأحد أنواع الأوكسجين التساهمية ($Fe^{IV}O$) الذي يحتوي على جذر porphyrin π-cation،من خلال إختزال جزيء واحد من بيروكسيد الهيدروجين في تفاعل الخطوة الثانية **(الشكل 24 (b))**، يتم إختزال المركب I من خلال تفاعلات الأكسدة والاختزال بنقل إلكترونين من متبرع إلكتروني (الجزيء الثاني من بيروكسيد الهيدروجين) لإنتاج الإنزيم الحر والأكسجين والماء**( Nandi *et al.*, 2019 )(الشكل 24).**



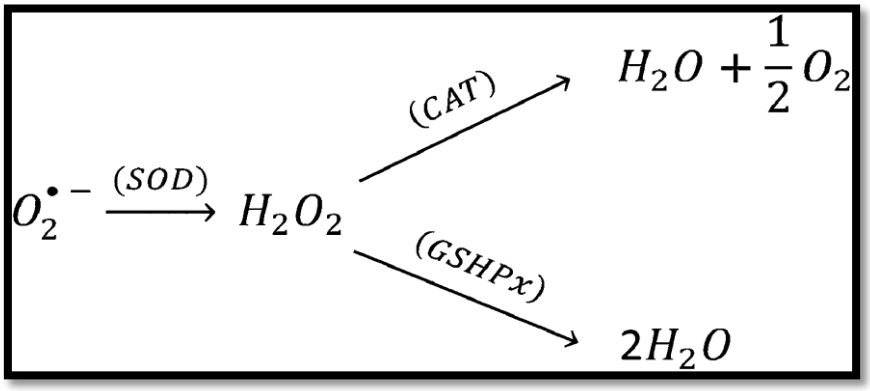

**شكل 24:**خطوات تفاعل الكاتلاز: (a) الخطوة الأولى؛ (b) الخطوة الثانية
**( Nandi *et al* ., 2019)**

**ج- Glutathione Peroxidase (GPx)**

إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيديز (GPx) مضاد للأكسدة يحفز اختزال بيروكسيد الهيدروجين ($H_2O_2$) والبيروكسيدات العضوية ، مثل بيروكسيدات الدهون ، باستخدام الجلوتاثيون (GSH) كعامل مختزل. تولد هذه العملية الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) ، والذي يتم اختزاله مرة أخرى إلى GSH عن طريق اختزال الجلوتاثيون (GR) باستخدام (NADPH) كعامل مساعد. يعد GPx مهمًا لحماية الخلايا من التلف التأكسدي ، خاصة في الميتوكوندريا ، التي تنتج الكثير من أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) أثناء التنفس الخلوي **(Arthur, 2000)(الشكل 25)(الجدول 9).**

**جدول 9 :** الأنواع المختلفة لجلوتاثيون بيروكسيديز (GPx)

| GPx | مواقع التواجد | الوظيفة |
|---|---|---|
| GPx-1 | معظم الأنسجة | - مستقلب لبيروكسيد الهيدروجين ومجموعة من البيروكسيدات العضوية ، بما في ذلك الكوليسترول وبيروكسيدات الأحماض الدهنية طويلة السلسلة .<br>- المشاركة في حماية الخلايا من التلف التأكسدي الناجم عن $H_2O_2$ وبيروكسيدات الدهون. |
| GPx-2 | الجهاز الهضمي | المشاركة في حماية الخلايا من البيروكسيدات الغذائية. |
| GPx-3 | السائل خارج الخلوي | المساعدة في حماية الخلايا من الأكسدة التي تسببها البيروكسيدات المنتشرة. |
| GPx-4 | الميتوكوندريا | مستقلبphospholipide hydroperoxides،مما يجعله مهمًا لحماية أغشية الخلايا من التلف التأكسدي. |



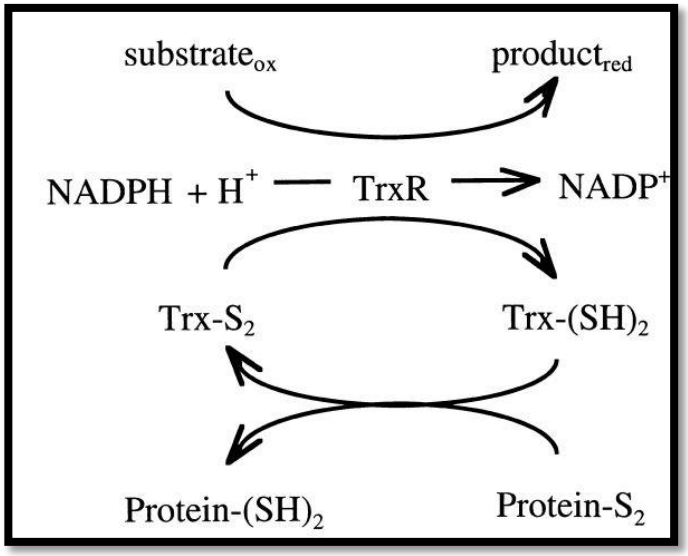

**شكل 25:** نشاط الكسح الجذري لـ SOD و CAT و GSH Px
**( Balasaheb Nimse *et* Pal,2015)**

**د- Thioredoxin**

Thioredoxins عبارة عن بولي بيبتيد تبلغ كتلته الجزيئية حوالي 12 كيلو دالتون موجودة في كل من حقيقيات النوى وبدائيات النوى وموزعة على نطاق واسع في خلايا الثدييات. يلعب نظام thioredoxin دورًا مهمًا في تنظيم العديد من الوظائف الخلوية مثل تكاثر الخلايا والتمايز. تعمل Thioredoxins كمانحين للإلكترون لعدد من الإنزيمات،مثل إختزال ribonucleotide، وإختزال methionine sulfoxide، وperoxiredoxins . في الحالة المختزلة ، تحتويThioredoxins على مجموعتين من السلفهيدريل (-SH) والتي تخضع للأكسدة وتشكل جسر ثنائي كبريت مختلط (-S-S-). يتفاعل Trx مع البروتينات المستهدفة لتشكيل جسر ثنائي كبريت مختلط أثناء أكسدة نفسها. لدى الانسان، يتوزع الشكل الرئيسي Trx1بالعصارة الخلوية بينما ينتشر Trx2 بالميتوكوندريا. يحدث الإشعاع على إنتقال Trx1 من السيتوبلازم إلى النواة و يشارك Trx1في S-nitrosylation القابل للإنعكاس لبقايا السيستين في البروتينات المستهدفة وبالتالي يساهم في الإستجابة لأكسيد النيتريك داخل الخلايا **( Sáez *et* Están-Capell, 2014).**

**هـ- Thioredoxin Reductase**

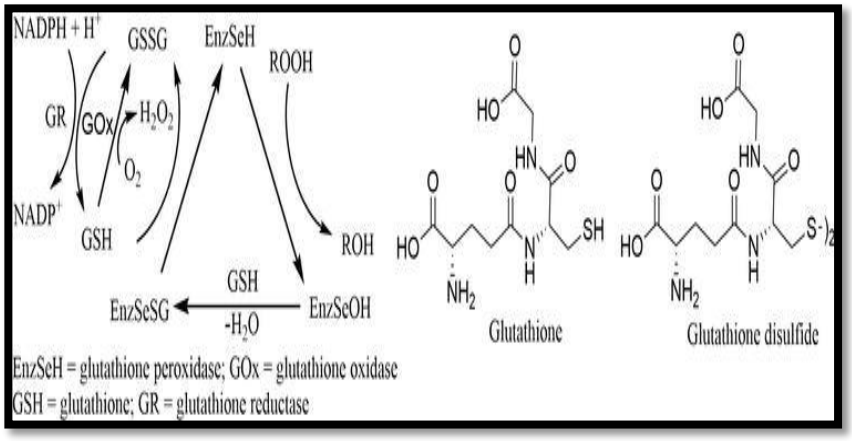
إن إنزيم Thioredoxin reductase هو إنزيم يحفز تقليل Thioredoxin عن طريق إستخدام NADPH كمتبرع إلكتروني**(Arnér *et* Holmgren, 2000)**.وهو إنزيم مهم مضاد للأكسدة يشارك في تقليل Thioredoxin المؤكسد إلى شكله المختزل، وبالتالي الحفاظ على توازن الأكسدة والاختزال في الخلايا. يلعب TrxR دورًا مهمًا في العمليات الخلوية المختلفة ، بما في ذلك تخليق وإصلاح الحمض النووي ، ونمو الخلايا وتمايزها ، وتنظيم موت الخلايا المبرمج. TrxR هو بروتين يحتوي على عنصر selenium بموقعه النشط، يعتبر Selenium ضروري لنشاط TrxR ،وقد ارتبط نقصه بزيادة الإجهاد التأكسدي وأمراض مختلفة **(Arnér ,2009)(الشكل 26).**




**شكل 26:** أنشطة oxidoreductase لنظامthioredoxin **(Arnér *et* Holmgren, 2000)**

**و- Glutathione peroxidase (GSHPx)**

عبارة عن إنزيم يحتوي على السيلينيوم يتوسط في الاختزال التحفيزي للبيروكسيدات باستخدام GSH كمختزل، الإنزيم عبارة عن رباعي الشكل يتميز ببقايا سيلينوسيستين في كل وحدة فرعية .إن كيمياء اختزال الأكسدة لمجموعة سيلينول الوظيفية الموجودة في كل selenocysteine هي المسؤولة عن نشاط GSHPx ، والدورة التحفيزية موضحة في( **الشكل 27**). في الخطوة الأولى ، تتأكسد المجموعة الوظيفية للسيلينول (EnzSeH) بواسطة البيروكسيد إلى حمض السيلينيك المقابل (EnzSeOH). يتفاعل حمض الثيوفيليك مع GSH لتوليد وسيط كبريتيد السيلينيل (EnzSeSG) والذي يكون شديد التفاعل وعرضة للإزاحة المحبة للنواة عند ذرة الكبريت. إن الهجوم بواسطة جزيء ثان من GSH عند ذرة الكبريت يجدد السيلينول الأصلي ويزيل الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) كمنتج ثانوي ويتم إعادة تدوير الأخير إلى GSH في عملية إختزال تعتمد على NADPH بوساطة إختزال الجلوتاثيون(GSH) .(GR) هو أيضًا ركيزة للجلوتاثيون أوكسيديز (GOx) الذي يحفز تقليل الأكسجين إلى بيروكسيدالهيدروجين وGSSG **(Moussa *et al.*,2019)( الشكل 27).**

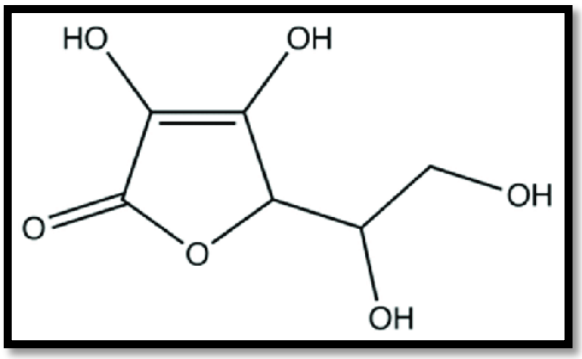


**شكل 27:**دور الجلوتاثيون (GSH) في الدورة التحفيزية (GSHPx) ، (GR) ، (GOx)
**(Moussa *et al*.,2019)**

## II- 2- 2- 2- مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

### أ- Vitamin-C

فيتامين C (حمض الأسكوربيك) القابل للذوبان في الماء يمكن العثور عليه في شكله المختزل أو المؤكسد **(Almeida *et al*.,2022)**، ويلعب دورًا مهمًا طارد للجذور الحرة وكعامل مساعد للعديد من تفاعلات الإنزيمات ، بما في ذلك تخليقcatecholamine. يأتي تأثيره كمضاد للأكسدة كمختزل غير إنزيمي لـ($O_2^{\bullet-}$)، (HO •)، (RO•)، (ROO •)، وجذور أخرى**(Duarte *et al*., 2021)(الشكل 28).**



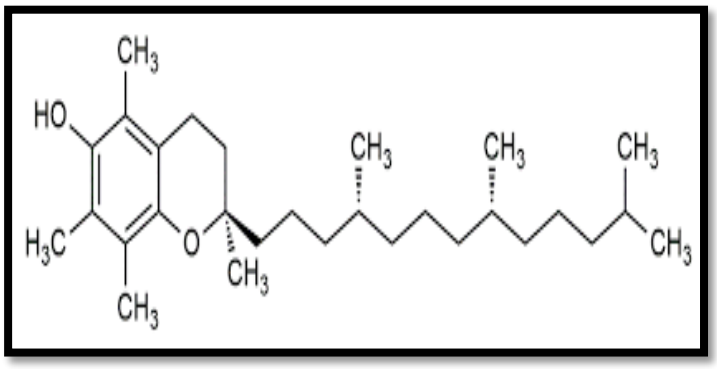



**شكل28 :**البنية الكيميائية للفيتامين cاوحمض الاسكوربيك**(Jovic*et al* .,2020)**

### ب- Vitamin-E

ان فيتامينE قد يحمي مكونات الخلايا الرئيسية عن طريق تقليل الجذور الحرة وكسر تفاعل بيروكسيد الدهون المتسلسل. وبالتالي ، فإن أغشية الخلايا محمية عن طريق إصلاح واستبدال الدهون**(Duarte *et al*., 2021)** ،هو مادة رئيسية قابلة للذوبان في الدهون، مع نشاط مضاد للأكسدة يقضي على جذور البيروكسيل عن طريق

التبرع بالهيدروجين من المجموعة الفينولية على حلقة الكرومانول وينهي أكسدة الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة**(Moussa *et al* .,2019)** **(الشكل 29)**




**شكل29 :**البنية الكيميائية للفيتامينE**(Garg *et* Lee ,2022)**

**ج- الجلوتاثيون**

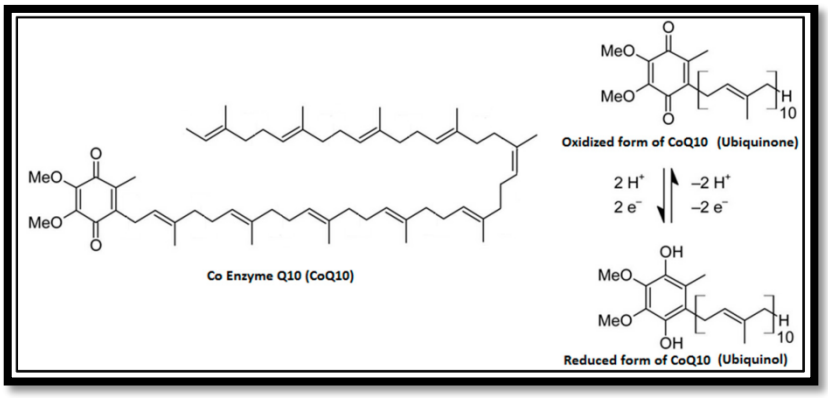
يوجد الجلوتاثيون (GSH) في جميع الخلايا النباتية والحيوانية ويتكون من ثلاثة أحماض أمينية: الجلايسين والسيستين وحمض الجلوتاميك. يتم تصنيعه بشكل أساسي في الكبد ويوجد في العديد من أشكال الأكسدة والاختزال ، من بينها الجلوتاثيون المختزل السائد. GSH هو أحد مضادات الأكسدة القابلة للذوبان في الماء الموجود بتركيزات خلوية عالية في النواة والميتوكوندريا والسيتوبلازم، GSH يشارك في عدة خطوط دفاع ضد ROS. أولاً ، يعتمد نشاط مضادات الأكسدة لـ GSH على مجموعة الثيول (-SH) ، وهي شديدة التفاعل ويمكنها التبرع بالإلكترونات لتحييد ROS. يقلل GSH من أنواع الأكسجين التفاعلية أثناء التفاعلات الأنزيمية وغير الأنزيمية، يقوم بتجديد مضادات الأكسدة المؤكسدة الأخرى مثل فيتامين C وفيتامين Eويشارك في إصلاح الدهون التالفة في عمليات الأكسدة وفي الحفاظ على شقوق البروتينات السلفهيدريل في الشكل المختزل. يعمل GSH جنبًا إلى جنب مع ثلاث مجموعات من الإنزيمات للحفاظ على بيئة مختزلة داخل الخلايا ومكافحة التكوين المفرط لـ ROS الضارة. هذه الإنزيمات هي Glutathione peroxidase (GSHPx)، Glutathione reductase (GR) و Glutathione oxidase (GOx) **(Moussa *et al* ,2019)**.

**د- CoQ10**

يعتبر أيضًا أحد مضادات الأكسدة القوية القابلة للذوبان في الدهون، يوجد CoQ10 في جميع أغشية الخلايا ويتم تصنيعه حيوياً في جميع الأنسجة من سلائفه ، شكله المختزل (ubiquinol) هو الأكثر انتشارًا في جسم الإنسان ،وهو عامل مضاد للأكسدة نشط .

يتم تحويل CoQ10 إلى شكل مختزل من الإنزيم المساعد($CoQ10H_2$ Q10) مع الإلكترونات التي توفرها تفاعلات الأكسدة والاختزال الأخرى في الميتوكوندريا ، تحدث دورة الأكسدة والاختزال CoQ10 في أغشية الخلايا ، والتي تشارك فيها إنزيمات اختزال الأكسدة المختلفة مثل(NQO1)،NAD(P) ، (CytB5) ( **Sifuentes-Franco *et al.*, 2022**). لقد ثبت أنCoQ10،في صورته المختزلة، يثبط بيروكسيد الدهون في غشاء الخلية ويقلل من أكسدة الدهون المنتشرة،كما أنه يمنع أكسدة البروتين الدهني منخفض

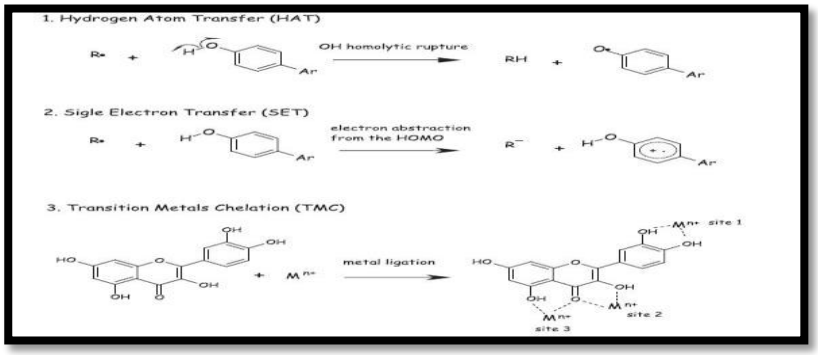
الكثافة أكثر من جزيئات مضادات الأكسدة الأخرى، مثل α-tocopherol أوβ-carotene **(الشكل 30)( Martelli *et al.*, 2020).**




**شكل 30:** بنية مركبCoQ10 **(Martelli *et al.*, 2020)**

**هـ ـ مركبات الفينول**

مركبات الفينول من مضادات الأكسدة القوية التي تكمل وتضيف إلى وظائف الفيتامينات والإنزيمات المضادة للأكسدة كدفاع ضد الإجهاد التأكسدي الناجم عن أنواع الأكسجين التفاعلية الزائدة (ROS) ، وهي أكثر مضادات الأكسدة وفرة في النظام الغذائي. المصادر الغذائية الرئيسية لهذه المركبات هي الفواكه والمشروبات المشتقة من النباتات مثل عصائر الفاكهة والشاي والقهوة والنبيذ الأحمر. تقدم هذه المركبات آليات مختلفة لممارسة خصائصها المضادة للأكسدة ، مثل إزالة الجذور الحرة ، وتحسين الدفاعات الأنزيمية الذاتية ، وتقليل أكسدة الدهون**(Andrade *et* Fasolo,2014)(الشكل31).**




**شكل31:** آليات النشاط المضاد للأكسدة لمركبات الفينول **(Leopoldini *et al.*,2011)**

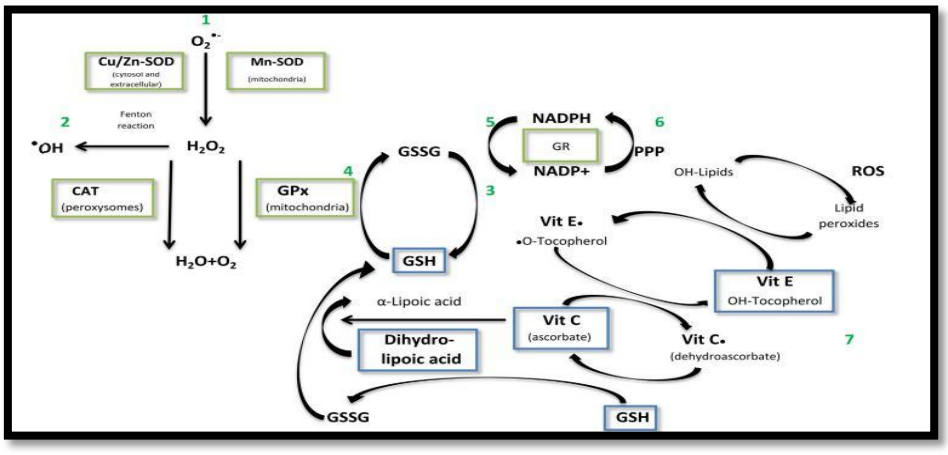
### II- 2- 3- آلية عمل مضادات الأكسدة

يؤدي تعرض الخلايا والأنسجة والمصفوفة خارج الخلية للتأثيرات الضارة للجذور الحرة إلى سلسلة من التفاعلات ويحث على تنشيط آليات دفاع داخلية متعددة ، والتي توفر القضاء على الجذور الحرة ومشتقاتها بناءً على طريقة عملها(**Chodakowska *et al.*,2018**)(**الشكل 32**).

تعمل جزيئات مضادات الأكسدة التي تشكل شبكة الدفاع المضادة للأكسدة في الأنظمة الحية على مستويات مختلفة و قد تكون هذه المستويات وقائية جذرية، ونبش جذري وإصلاح الضرر الناجم عن الجذور. على أساس خط الدفاع، يمكن تصنيف مضادات الأكسدة على أنها مضادات الأكسدة الدفاعية للخط الأول، و للخط الثاني، و للخط الثالث،و للخط الرابع للدفاع (**Ighodaro *et* Akinloye, 2018**)(**الجدول 10**).

**جدول 10:** خطوط الدفاع المختلفة بمضادات الأكسدة(**Ighodaro *et* Akinloye, 2018**)

| خطوط الدفاع | آلية عمل مضادات الأكسدة |
|---|---|
| خط الدفاع الأول | منع تكوين الجذورالحرة في الخلايا بواسطة مضادات الأكسدة الإنزيمية مع مشاركة مواد غيرأنزيمية تنتمي إلى مضادات الأكسدة الوقائية. |
| خط الدفاع الثاني | تامين مضادات الأكسدة غير الإنزيمية تعطيل الجذور والمؤكسدات بسرعة. |
| خط الدفاع الثالث | يشمل مضادات الأكسدة الأنزيمية التي تقوم بإصلاح الأضرار الناجمة عنROSو الجذور الحرة. |
| خط الدفاع الرابع | الإشارة المتولدة من الجذور الحرة المتكونة تؤدي إلى تكوين ونقل مضاد أكسدة مناسب إلى الموقع الصحيح. |




**شكل32:** آلية الحماية لمضادات للأكسدة (**Chodakowska *et al.*,2018**)

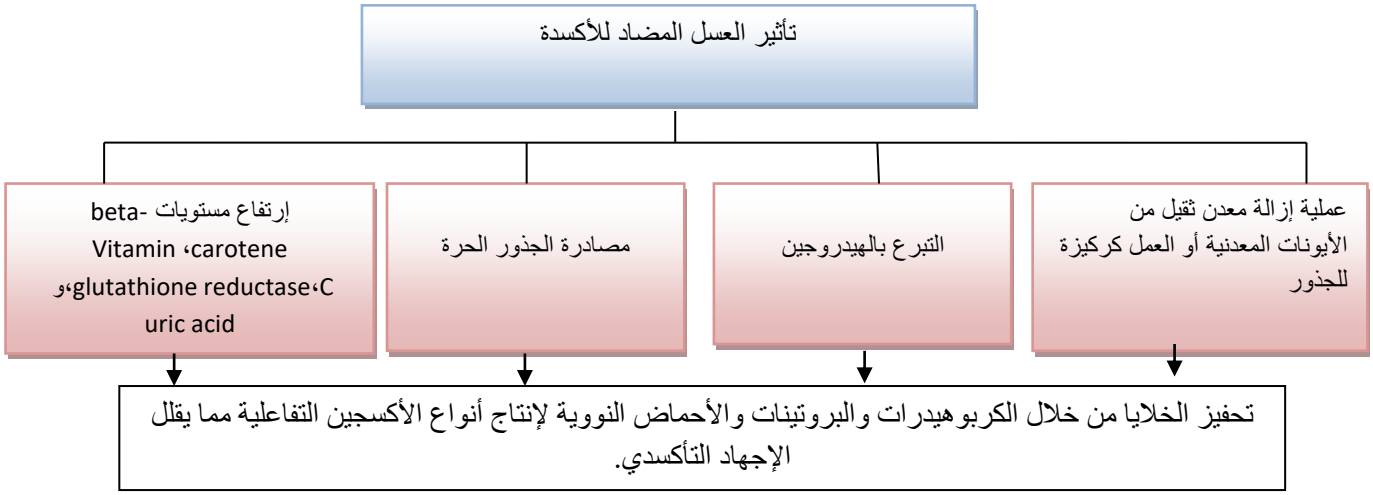
## II- 3- تأثير العسل المضاد للاكسدة

### II- 3- 1-النشاط المضاد للاكسدة للعسل

يعمل العسل كمصدر لمضادات الأكسدة الطبيعية ، والتي تلعب دورًا مهمًا في الحفاظ على الغذاء وصحة الإنسان من خلال مكافحة الأضرار التي تسببها العوامل المؤكسدة **(Dżugan *et al*.,2018)**. من مكونات العسل المسؤولة عن خصائص الأكسدة والاختزال هي الفلافونويد والأحماض الفينولية والإنزيمات والفيتامينات والمعادن مثل النحاس والحديد **(Gül *et* Pehlivan,2018)**.بالرغم من أن وظيفة مضادات الأكسدة الطبيعية في جسم الإنسان لم يتم فهمها تمامًا ، إلا أن التحقيقات أوضحت وظيفة في تأثيرات العسل الطبيعي الشيخوخة ومعالجة المكونات شديدة التفاعل مع الأكسجين والتي تسمى الجذور الحرة (ROS) ، تتفاعل هذه المكونات مع الدهون ومكونات البروتين في أغشية الخلايا والإنزيمات وكذلك الحمض النووي وقد تؤدي هذه التفاعلات الضارة إلى أمراض مختلفة. لحسن الحظ ، فإن مضادات الأكسدة تعترض الجذور الحرة قبل أن تتسبب في ضرر **(Samarghandian *et al* ., 2017)**.يحتوي العسل الطبيعي على العديد من مركبات الفلافونويد (مثل: apigenin, pinocembrin, kaempferol, quercetin galangin chrysin و hesperetin ) ، والأحماض الفينولية (مثل: ellagic, caffeic, p-coumaric و ferulic acids ) ، وحمض الأسكوربيك ، والتوكوفيرول ، والكتالاز ، والسوبروكسيد ، الجلوتاثيون المنخفض ومنتجات تفاعل ميلارد والببتيدات . تعمل معظم المركبات المذكورة أعلاه معًا لتوفير تأثير مضاد للأكسدة تآزريًا **( Eteraf-Oskouei *et* Najafi , 2013 )**.

### II- 3- 2- آليات التأثير

تم إثبات مركبات الفلافونويد الموجودة في العسل على أنها مواد فعالة جدًا في جمع الأكسجين التفاعلي (ROS) وأنواع النيتروجين التفاعلي (RNS) لمواجهة الأضرار التأكسدية التي تحدثها هذه الجزيئات .الأحماض الفينولية والفلافونويدات مسؤولة عن نشاط مضادات الأكسدة الراسخ للعسل، بصرف النظر عن هذه ، فإن السكريات ،والبروتينات، والأحماض الأمينية ، والكاروتينات، والأحماض العضوية ، ومنتجات تفاعل ميلارد وإنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) والمكونات الثانوية الأخرى تساهم أيضًا في التأثير المضاد للأكسدة. أظهر الباحثون أيضًا أن العسل يزيد من كمية ونشاط العوامل المضادة للأكسدة مثل beta-carotene ،وفيتامين c ،واختزال الجلوتاثيون، وحمض اليوريك في الأشخاص الأصحاء. آلية مضادات الأكسدة الدقيقة غير معروفة ، ولكن الآليات المقترحة تشمل عزل الجذور الحرة ، والتبرع بالهيدروجين ، وإستخلاب الأيونات المعدنية، وعمل ركيزة الفلافونويد للهيدروكسيل ، يعرض**( الشكل 33)** جميع الآليات الممكنة المشاركة في التأثير المضادات الأكسدة للعسل**( Ahmed *et al* .,2018 )(الشكل 33)**.




**شكل 33 :**جميع الآليات الممكنة المشاركة في التأثير المضادات الأكسدة للعسل
**(Ahmed *et al* .,2018 )**

إزالة الجذور الحرة: يمكن لمضادات الأكسدة مثل فيتامين C و E والكاروتينات والفلافونويدات تحييد الجذور الحرة عن طريق التبرع بإلكترون للجزيء غير المستقر ، وبالتالي تثبيته ومنعه من التسبب في تلف الخلايا**(Pizzino *et al.*, 2017)** .التفاعلات الأنزيمية: يحتوي الجسم على العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة ، بما في ذلك ديسموتاز الفائق، والكتلاز،والجلوتاثيون بيروكسيديز ، والتي تعمل على تكسير الجزيئات الضارة ومنعها من التسبب في تلفها**(Valko *et al.*, 2007)**.

استخلاب المعادن: يمكن لبعض مضادات الأكسدة، مثل metallothioneins ، أن ترتبط بأيونات المعادن في الجسم وتمنعها من المشاركة في التفاعلات التي تنتج الجذور الحرة**(Sies,2015).**

إصلاح الحمض النووي: ثبت أن بعض مضادات الأكسدة، مثل البوليفينول، لديها القدرة على إصلاح تلف الحمض النووي الناجم عن الإجهاد التأكسدي**(Collins,1999).**

نقل الإشارة: تلعب بعض مضادات الأكسدة، مثل الجلوتاثيون وthioredoxin، دورًا في تنظيم مسارات الإشارات الخلوية التي يمكن أن تساهم في الإجهاد التأكسدي**(Li *et al.*, 2017)**.

# الفصل الثالث

# المواد و الطرق

# III- المواد والطرق

## III-1- الـمـواد

### III -1-1-جمع مادة العسل

أمكن الحصول على عسل اللبينة من ولاية غرداية بالجزائر سنة 2022. وقد أحتفظ بالعينة بعناية بعيدا عن الضوء **( الجدول 11)** .

**الجدول 11** :أصل ومميزات عسل اللبينة

| عينة العسل | نوع الازهار | عائلة النبتة | جغرافي الأصل | اللون | فيزيائيا | صورة العينة |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **عسل اللبينة Miel d'euphorbe** | احادي الازهار | Euphorbiaceae **(Fais *et al.*, 2021)** | غرداية | بني | سائل | |

### III -1-2-المواد الكاشفة

أمكن استعمال العديد من الكواشف الضرورية لمختلف الطرق **(الجدول12) .**

**الجدول 12:** الكواشف المستخدمة في الأنشطة البيولوجية المختلفة.

| الطريقة | الكواشف |
|---|---|
| **الإستخلاص** | HCl ، méthanol ، Eau distillé |
| **الأنشطة المضادة للأكسدة** | DPPH, méthanol, ABTS, persulfate de potassium, tampon phosphate buffer, ferricyanure de potassium, TCA, chloride ferrique $FeCl_3$, Phenanthroline. |
| **تحديد مجاميع البوليفينول والفلافونيدات** | Eau distillé, Méthanol FCR (Folin-Ciocalteu réactif) $Na2CO_3$ de 7,5% (Carbonate de sodium). Potassium acétate ($CH_3COOK$), nitrate d'aluminium. |
| **الأنشطة الأنزيمية** | Enzyme α-amylase ،Amidon، HCl، Solution IKI : KI ،d'iodine Tampon phosphate NaCl ،méthanol ،Eau distillé. |

### III -3-1-الأجهزة

- المبخر الدوراني Evaporateur rotatif
- ميزان دقيق Balance de précision
- خلاط مغناطيسي Agitateur magnétique
- قمع Entonnoir
- أسطوانة مدرجة Éprouvette graduée
- كوب زجاجي Bécher
- ملعقة مسطحة Spatule
- Microplaques
- Spectrophotomètres de microplaques
- Micropipettes
- مقياس الأس الهيدروجيني PH mètre
- حاضنة Etuve
- Eppendorfs

### III -2-الطرق

#### III -2-1- تحضير المستخلصات

أمكن استخلاص مستخلصين خامين من عسل اللبينة أحدهما مائي، والآخر ميثانولي .

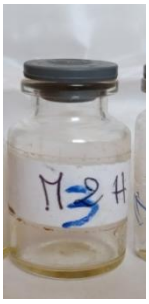
لقد تمت هذه الدراسة التجريبية على مستوى معمل مراقبة الجودة على مستوى المركز الوطني للبحث العلمي في البيوتكنولوجيا بقسنطينة (CRBt).

#### III -2-1-1-تحضيرالمستخلص الخام المائي

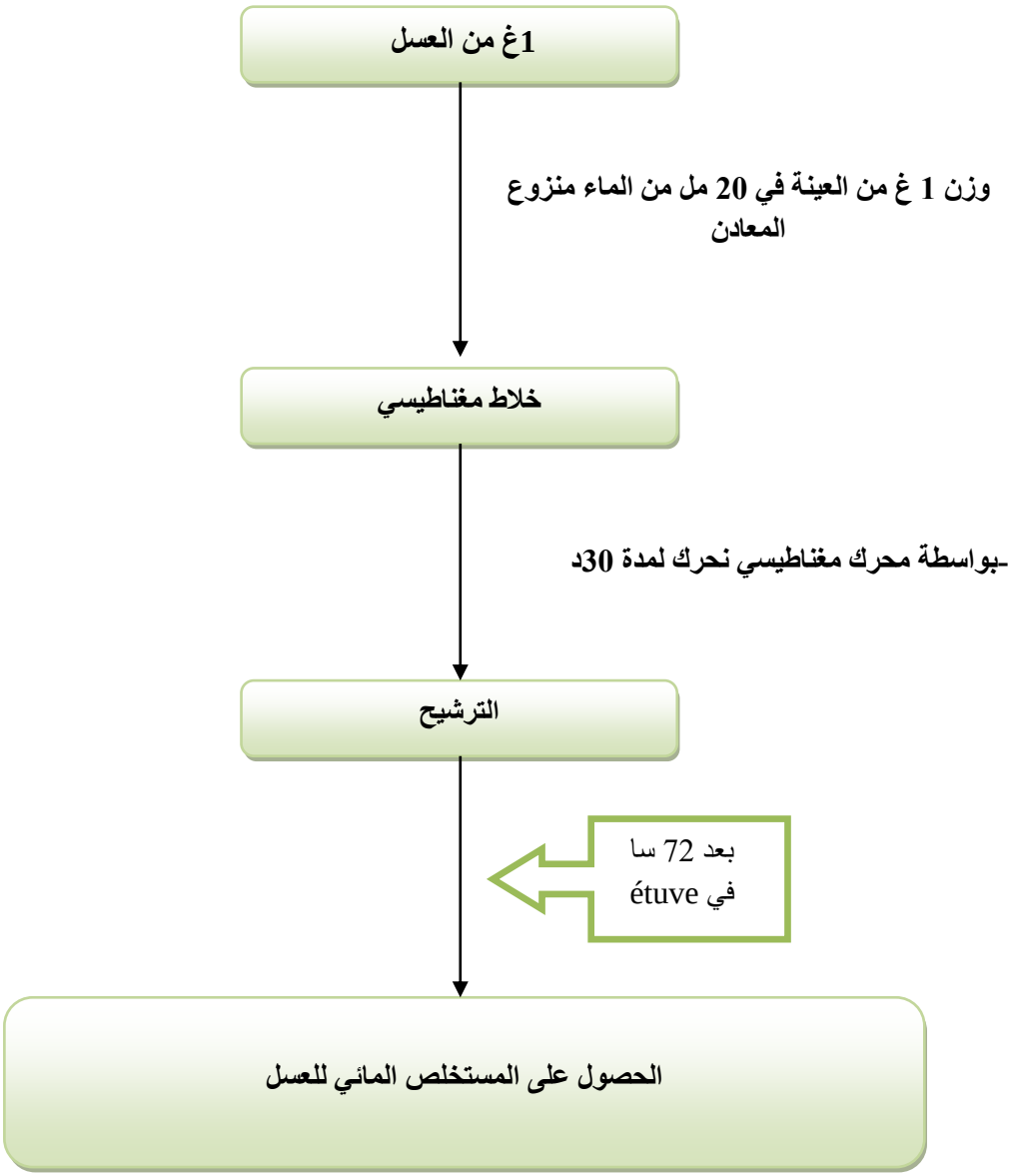
تمت عملية الإستخلاص حسب طريقة **(Kavanagh *et al.*, 2019)**

تم وزن 1 غ من عينة العسل ، وتخفيفها في 20 مل من الماء منزوع المعادن ، تم الإستعانة بمحرك مغناطيسي لتسهيل إذابة العسل وذلك حسب درجة حرارة الغرفة يرشح الخليط بواسطة ورق الترشيح رقم 01 يجمع المستخلص المرشح يوضع في حاضنة إلى أن يجف تماما.

تنزع المادة الجافة العالقة و توضع مباشرة في قارورة زجاجية ،نحتفظ بالمستخلص المائي الخام الجاف بعيدا عن الضوء **(الشكل 34).**



**شكل34 :** المادة الجافة للمستخلص المائي

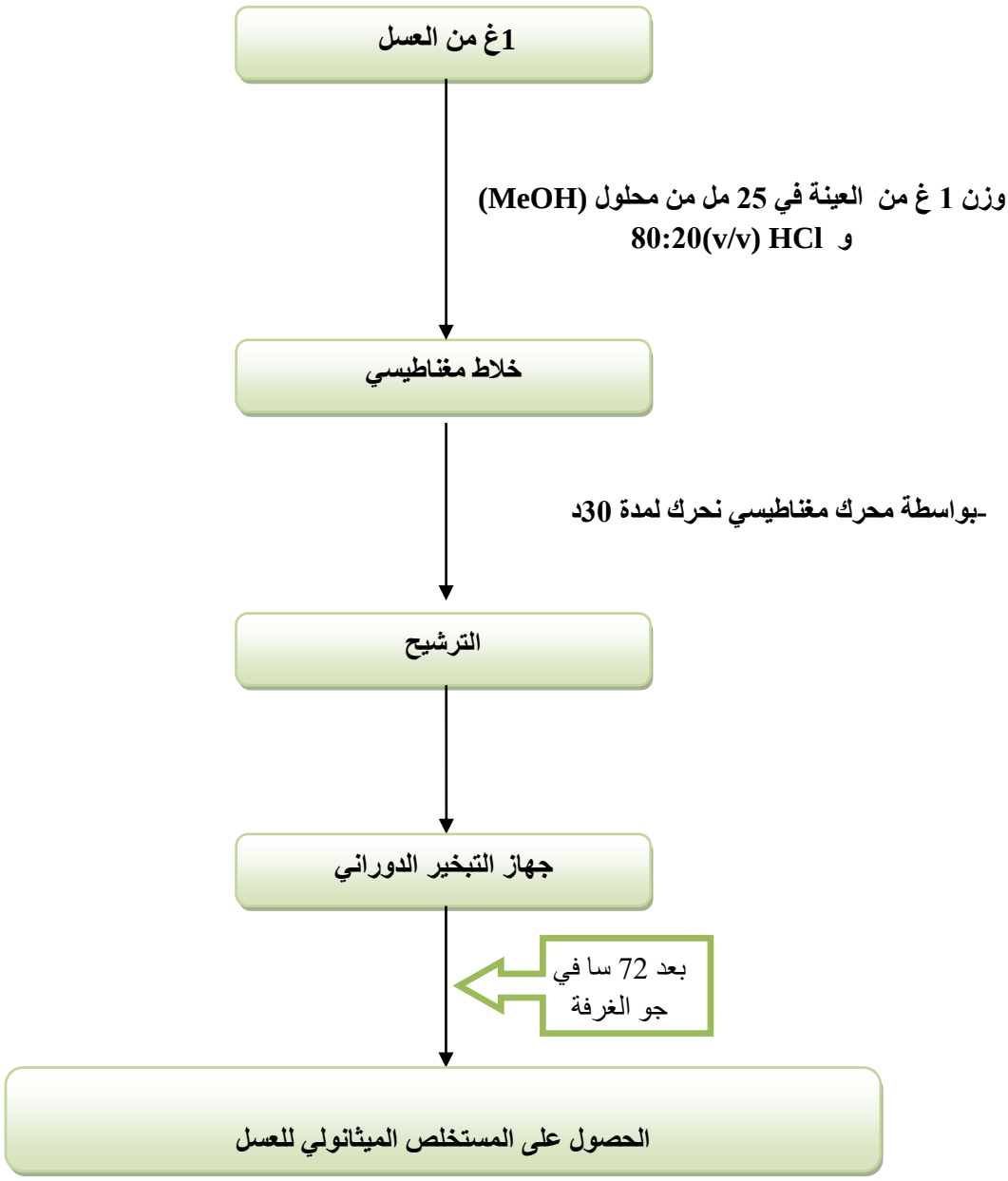



**(شكل35 )** مراحل إستخلاص المستخلص المائي لعسل اللبينة

**III -2-1-2- تحضير المستخلص الميثانولي**

تمت عملية الاستخلاص حسب طريقة **(Barberan *et al.*,2001)** وزن 1 غ من كل عينة من عينات العسل ، ليمزج مع 25 مل من محلول (MeOH) و HCl 6N (ميثانول / HCl ، 20/80 ، حجم / حجم) تم الإستعانة بمحرك مغناطيسي لتسهيل إذابة العسل وذلك حسب درجة حرارة الغرفة ، يرشح الخليط بورق الترشيح رقم 01 ، نضع الراشح النهائي في جهاز التبخير الدوراني للحصول على المادة المركزة جافة، حيث يوضع الراشح في الحوجلة الزجاجية لجهاز التبخير في زمن محدد للحصول على المستخلص الخام بدون مذيبات فيتبخر الماء و الميثانول وHCl وتبقى سوى المواد الخام للعينة في الحوجلة نزع المادة الجافة العالقة مباشرة بالحوجلة ووزنها ثم الاحتفاظ بها لإستعمالها في الإختبارات البيولوجية**(الشكل 36).**

**شكل36:** المستخلص الميثانولي




**(شكل37 )** مراحل إستخلاص المستخلص الميثانولي لعسل اللبينة

**III -3- دراسة النشاط البيولوجي**

**III -3-1- إختبار الأنشطة المضادة للأكسدة**

لقد تمت هذه الدراسة التجريبية على مستوى: معمل الكيمياء الحيوية (المختبر 05) وذلك على مستوى المركز الوطني للبحث العلمي في البيوتكنولوجيا بقسنطينة (CRBt).

نحضر عينات من المستخلصات المختلفة ($H_2O$ ، MeOH ،عسل صافي ) ، بدأنا بوزن 1مغ من كل مستخلص. بعد الوزن ، نقوم بإذابة 1مغ من كل مستخلص في 1 مل من المذيب (MeOH) في أنابيب Eppendorfs (أنبوب واحد لكل مستخلص) و نقوم بالتحريك حتى تتجانس المحاليل .لكل مستخلص ، يتم إجراء تخفيفين بصب 0.5 مل من MeOH في 2 أنابيب Eppendorfs 1 مل.

**الجدول 13**: التركيزات المختلفة للتخفيفات المستخلصات مقارنة بالتركيز الأولي

| **الأنبوب** | **1** | **2** | **3** |
|---|---|---|---|
| **التركيز** | 1 | 2/1 | 4/1 |

تم تخصيص هذا الجزء العملي لدراسة النشاط المضاد للأكسدة في "العسل " بأربع طرق مضادة للأكسدة

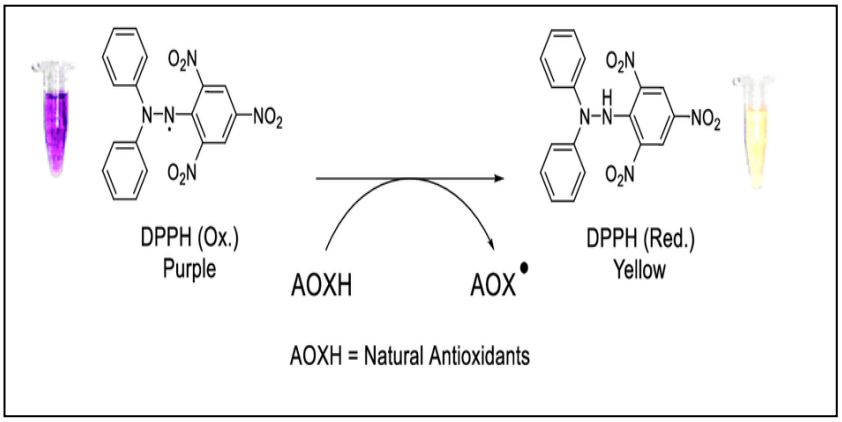
**- تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال طرق التكافؤ وتم التعبير عن النتيجة بتكافؤ trolox** (µgTE/ مغ عينة ).

**L'activité antioxydant a été évaluée par méthodes d'équivalence et le résultat a été exprimé en équivalence trolox (ugTE/mg échantillon) .**

**III -3-1-1- إختبارنشاط إزالة الجذور الحرة DPPH**

- **المـبـدأ**

جذر DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) هو جزيء ثابت قابل للذوبان في الميثانول يتميز بلونه البنفسجي العميق مع امتصاص أقصى عند 515 نانومتر. يمكن لمضادات الأكسدة (AH) أو الأنواع الجذرية الأخرى (Rradical dot) أن تتفاعل مع هذا الراديكالي الثابت (نقطة جذرية DPPH) من خلال توفير ذرة إلكترون أو هيدروجين، وبالتالي اختزاله إلى(DPPH-H)diphenyl-1-hydrazine - 2,2 أوhydrazine مشابه مستبدل (DPPH-R) يتميز بكونه عديم اللون أو أصفر باهت يمكن مراقبته بسهولة بإستخدام مقياس ضوئي( **Njoya *et al.*, 2021**) (**الشكل38** ).




**شكل 38:** تفاعل DPPH **(Arce-Amezquita *et al.*, 2019)**

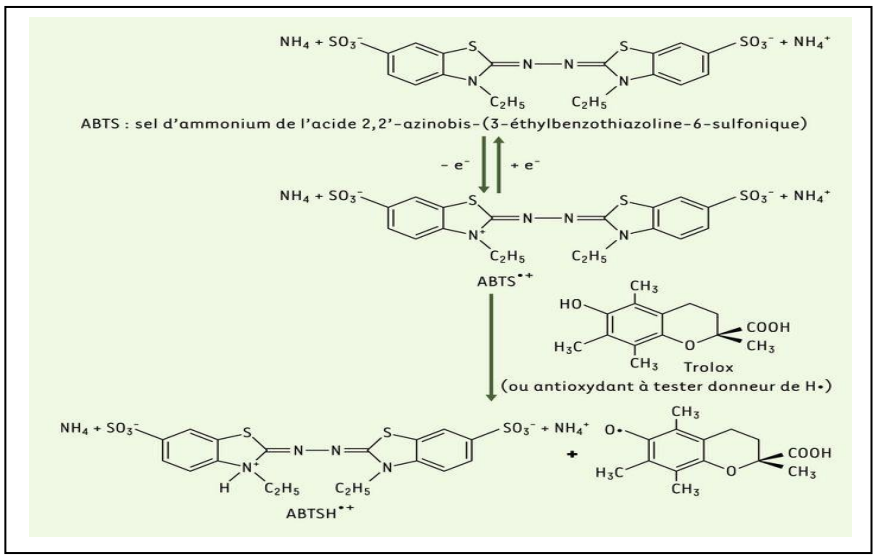
- **الطريقة**

وفقًا لـ **(Blois, 1958)**: في microplaques نسكب: 160 µl من محلول DPPH الذي تم تحضيره مؤخرًا ، نضيف 40µl من العينة المخففة في محاليل ميثانول بتركيزات مختلفة، بعد 20 دقيقة من الحضانة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة ، يتم قياس الامتصاصية عند 517 نانومتر باستخدام Spectrophotomètres de microplaques .

### III -2-1-3- نشاط الكسح الكاتيوني الجذري $ABTS^{\bullet+}$

- **المـبـدأ**

ABTS الجذر الكاتيوني( $ABTS^{\bullet+}$) الذي يمتص عند 743نانومتر (مما يعطي لونًا أخضر مزرقًا)، يتشكل بفقدان إلكترون بواسطة ذرة النيتروجين في ABTS (2,2'-azino-bis (3- ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)) ،في ظل وجود أحد مضادات الأكسدة التي تتبرع بالهيدروجين، مما يؤدي إلى إزالة لون المحلول. يمكن أن تتأكسد ABTS بواسطة potassium persulphate (K2S2O8) أو manganese dioxide، مما يؤدي إلى ظهور ABTS الكاتيوني ($ABTS^{\bullet+}$) تمت مراقبة تناقص امتصاصه عند 743نانومتر **(Pisoschi *et* Negulescu, 2011) (الشكل39).**




**شكل39:** تشكيل وحبس $ABTS^{\bullet+}$ جذري بواسطة H• مانح مضاد للأكسدة.

**(Marc *et al* .,2004)**

➢ **الطريقة**

وفقًالـ **(Re *et al.*, 1999)** يتم إنتاج $ABTS^{\bullet+}$ الجذري عن طريق أكسدة ABTS (7ملي مولار) ، بواسطة بيرسلفات البوتاسيوم$K2S2O8$ (2.4 ملي مولار). تم تخزين الخليط لمدة 16 ساعة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة، تم تخفيف الخليط بالماء المقطر لتحقيق امتصاص عند 734 نانومتر.

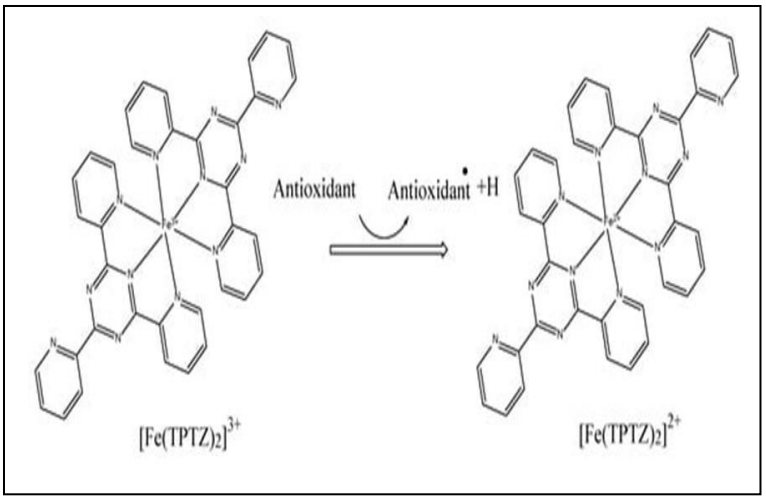
في microplaques نسكب: 160 µl من محلول ABTS الذي تم تحضيره مؤخرًا ، نضيف 40 µl من العينة المخففة في محاليل ميثانول بتركيزات مختلفة، بعد 10 د من الحضانة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة ، يتم قياس الامتصاصية عند 734 نانومتر باستخدام Spectrophotomètres de microplaques .

### III -3-1-3- إختبار FRAP

➢ **المـبـدأ**

يعد اختبار FRAP تقنية مباشرة بسيطة وسريعة و قابلة للتكرار بحيث يمكن اختبار مجموعة واسعة من أنواع العينات . يستخدم لقياس النشاط المضاد للأكسدة لمضادات الأكسدة المختزلة في عينة اختبار **( Benzie *et* Devaki, 2017).**

إن اختزال أيونات الحديد ($Fe^{3+}$) الموجودة في مركب $K_3Fe(CN)_6$ Potassium ferrocyanide إلى أيونات حديدية ($Fe^{2+}$) تكشف على وجود مضادات الأكسدة و التي يمكن الكشف عنها بتغير لون الوسط التفاعلي من الأصفر إلى الأزرق المخضر، يتم قياس شدة هذا اللون بواسطة مقياس الطيف الضوئي عند 700 نانومتر **(Ouldyerou *et al.*, 2018) (الشكل40).**




**شكل 40** : آلية التفاعل لاختبار FRAP **(Christodoulou *et al.*, 2022)**

➢ **الطريقة**

يتم تحديد القدرة المختزلة للمستخلصات بواسطة طريقة **(Oyaizu ,1986)**، مع تعديل طفيف.

نقوم بإعداد محاليل التفاعل ، نبدأ بإعداد المحلول منظم للفوسفات عند( PH= 6.6) ، بعد ذلك $K_3Fe(CN)_6$ ferricyanure de potassium (1%) (1غ من $K_3Fe(CN)_6$ في 100 مل $H_2O$)، tri-chloro-acide acétique (TCA) (10%) (1غ من TCA في 10 مل H2O)، أخيراً محلول ferrique chloride $FeCl_3$ (0.1%) (0.1 غ من $FeCl_3$ في 100 مل H2O).

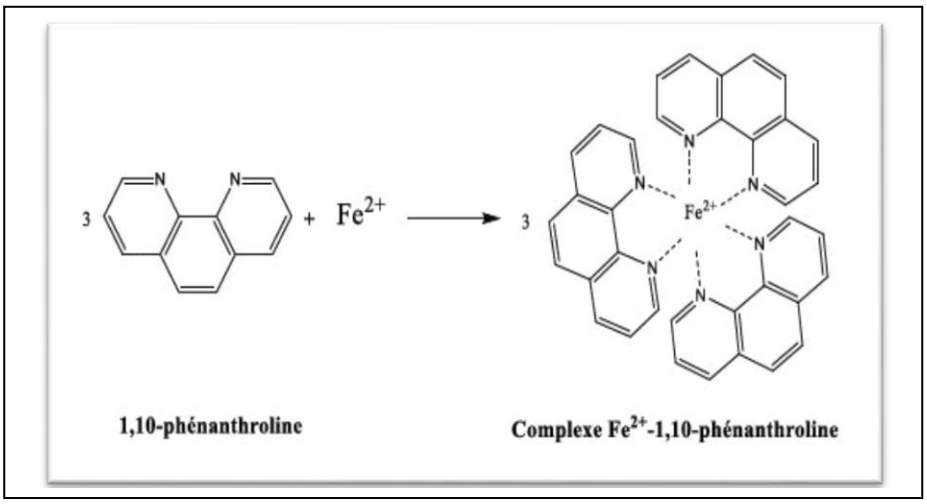
في microplaques نسكب10µl من المستخلص بتركيزات مختلفة ، نضيف 40µl من المحلول منظم للفوسفات (PH= 6.6) عن طريق الخلط مع 50µl من( 1٪) $K_3Fe(CN)_6$ ونضع الكل في حاضنة عند 50 درجة مئوية لمدة 20 دقيقة. بعد الحضانة تضاف ثلاثة محاليل وهي: 50 µl (TCA)(10 ٪)،10µl ( 0.1٪) $FeCl_3$ و 40µl من الماء المقطر ، يتم قياس شدة هذا اللون بواسطة مقياس الطيف الضوئي عند 700 نانومتر.

**III -3-1-4- الحد من النشاط عن طريق تكوين مركب $Fe^{2+}$-phenanthroline**

➢ **المـبـدأ**

يمكن تحديد الحديد المائي ، في شكله الحديدي المختزل ($Fe^{+2}$) ، بطريقة القياس الطيفي من مركبها شديد اللون مع 1,10-phénanthroline في محلول حامضي (الرقم الهيدروجيني 3-4).

يشكل $Fe^{+2}$ مركبًا ثابتًا مع orthophenanthroline ويعطي لونًا برتقاليًا. يسمى هذا المركب ferroin ويقدر كميته ضوئيًا بطول موجة يبلغ 510 نانومتر **(Belcher, 1973)(الشكل 41).**




**شكل41:** تشكيل مركب $Fe^{+2}$-phenanthroline (**Apak *et al.*, 2007**)

➢ **الطريقة**

حسب طريقة **(Szydlowska-Czerniaka, 2008)** يتم تحضير محاليل التفاعل ، بدءًا من Phenanthroline (0.5%) (0.05 غ من1,10-Phenanthroline في 10 مل من MeOH) ، يليه Ferrique chloride $FeCl_3$(0.2%) (0.02 غ من FeCl3 في 10 مل من H2O).

في microplaques نسكب: 10µl من المستخلصات بتركيزات مختلفة ، نضيف حجم 50µl $FeCl_3$ (0.2%)، ثم نضيف 30µl من phénanthrolin(0.5%) إلى المحلول وأخيرا نضيف 110 µl من MeOH،ونضعه في الظلام لمدة 20 دقيقة عند 30 درجة مئوية القراءة عند 510 نانومتر.

**III -2-3- دراسة النشاط إنزيمي**

نحضر عينات من المستخلصات المختلفة ($H_2O$ ، MeOH ،عسل صافي )، بدأنا بوزن 4مغ من كل مستخلص . بعد الوزن ، نقوم بإذابة 4 مغ من كل مستخلص في 1 مل من المذيب (MeOH) في أنابيب Eppendorfs (أنبوب واحد لكل مستخلص) و نستمر بالتحريك حتى تتجانس المحاليل ولكل مستخلص يتم إجراء ستة تخفيفات عن طريق صب 0.5 مل من MeOH في ستة أنابيب Eppendorfs سعة 1 مل.

**الجدول 14**: التركيزات المختلفة للتخفيفات للمستخلصات مقارنة بالتركيز الأولي

| **الأنبوب** | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **التركيز** | 1 | ½ | 4/1 | 8/1 | 16/1 | 32/1 | 64/1 |

➢ **المبدأ**

تم إجراء النشاط المثبط α-Amylase باستخدام طريقة اليود / يود البوتاسيوم (IKI).

➢ **الطريقة**

بواسطة طريقة ، **(Zengin *et al.*, 2014)** مع إجراء بعض التعديلات يتم تحضير محاليل التفاعل ، بدءًا من إنزيم 1U α-amylase و ٪0.1 amidon (نضع المحلول في الميكروويف لعدة دورات كل 15 ثانية)، يليه حمض الهيدروكلوريك1M HCl : نضف ببطء إلى 45.83 مل من الماء ، حجم 4.17 مل من حمض الهيدروكلوريك HCl النقي، ثم محلول IKI: - نقوم بإذابة 3 غ من KI في 100 مل من الماء و يضاف 127 مغ من اليود (5 ملي مولار ) ويقلب حتى يذوب تماما.

أخيرا محلول الفوسفات (PH 6.9) مع 6 ملي مول كلوريد الصوديوم (35.1 مغ كلوريد الصوديوم لكل 100 مل من المحلول المنظم).

في microplaques نسكب 25 µl من المستخلص و 50µl (محلول 1U α amylase): الحضانة لمدة 10 دقائق عند 37 درجة مئوية و 50 µl من ٪0.1 amidon : الحضانة لمدة 10 دقائق عند 37 درجة مئوية و 25µlمن حمض الهيدروكلوريك (1 M ) و اخيرا 100 µl من IKI ونقوم بالقراءة عند 630 نانومتر.

**حساب نسبة التثبيط:**

$$\%INH=1-[(A_c-A_e)-(A_s-A_b)/(A_c-A_e)]$$

**Ac** = الامتصاص [amidon + IKI + حمض الهيدروكلوريكHCl+ حجم من مذيب المستخلص +حجم من إنزيم المحلول المنظم ]

**Ae** = الامتصاص [إنزيم +amidon + IKI + HCl + حجم من مذيب المستخلص]

**As** = الامتصاص [إنزيم + مستخلص + amidon + IKI + حمض الهيدروكلوريكHCl ]

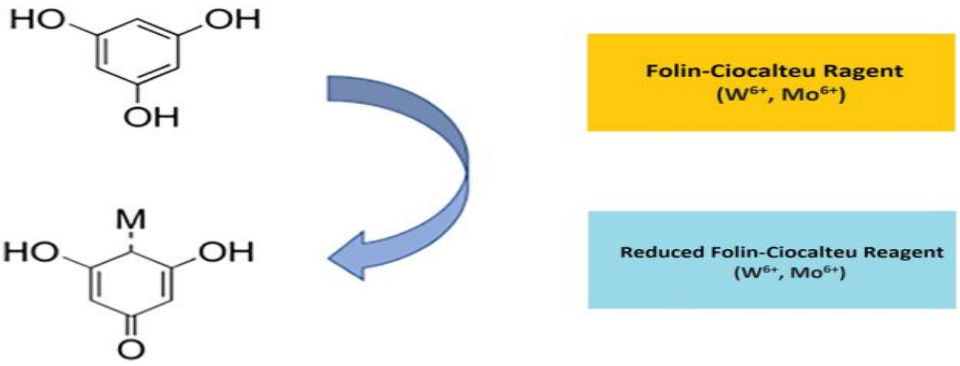
**Ab** = الامتصاص [المستخلص + IKI + 125 ميكرولتر المحلول المنظم]

**III -3-3- تحديد مجموع البوليفينول والفلافونيدات**

**III -3-3-1- تقدير المحتوى الكلي للفينولات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي TPC**

➢ **المبدأ**

إختبار Folin-Ciocalteu على اختزال كاشف Folin-Ciocalteu بواسطة المركبات الفينولية في ظل الظروف القلوية. يحتوي Folin-Ciocalteu على مجمعات حمض phosphomolybdic / Phosphotungstic التي يتم اختزالها ، مما يؤدي إلى لون أزرق مع أقصى امتصاص عند 765 نانومتر. يُقبل مركز الموليبدينوم في المجمعات عمومًا على أنه موقع الإختزال ، حيث يتم اختزال أيون $Mo^{6+}$ إلى $Mo^{5+}$ عن طريق قبول إلكترون من مضادات الأكسدة الفينولية**(Zhong *et* Shahidi, 2015 ) (الشكل 42).**




**شكل42** : آلية التفاعل لاختبار Folin-Ciocalteu. **(shi *et al.*, 2022)**

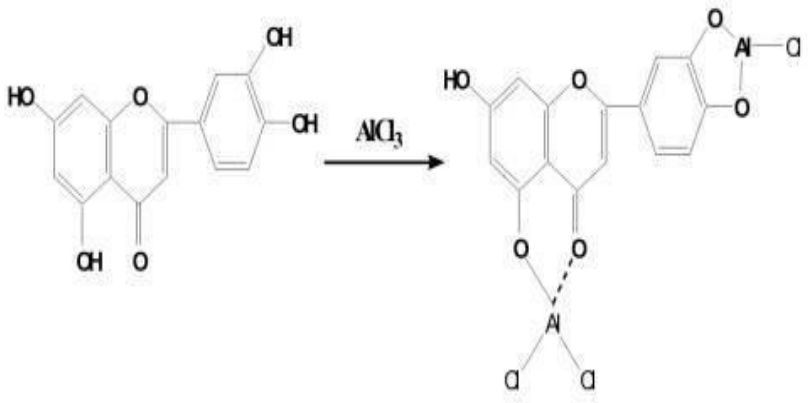
➢ **الطريقة**

وفقًا لطريقة **(Muller *et al.*, 2010)** في microplaques نضيف حجم 20 µl من المستخلص (كتلة 1 مغ من المستخلص في حجم 1 مل من الميثانول). ويضاف إليه 100 µl من FCR المخفف (يتم تخفيف 1 مل من محلول FCR المركز في 9 مل من الماء المقطر) و 75µl من كربونات الصوديوم (يتم إذابة كمية 7.5 غ من $Na_2CO_3$ في 100 مل من الماء المقطر). يحضن الخليط في الظلام لمدة ساعتين. تتم القراءة عند 765 نانومتر.

**III -3-3-2- تقدير المحتوى الكلي للفلافونويدات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي TFC**

➢ **المبدأ**

يتم إجراء القياس الكمي لمركبات الفلافونويد بطريقة تعتمد على تكوين معقدات بين المركبات الفينولية وثلاثي كلوريد الألومنيوم $Al^{3+}$. المركبات الناتجة صفراء اللون وتمتص في المجال المرئي عند 510 نانومتر. **(Ouldyerou *et al.*, 2018) (الشكل43).**




**شكل43:** تفاعل تكوين مركب الفلافونويد - كلوريد الألومنيوم (AlCl3) **( Makuasa *et* Ningsih, 2020)**

➢ **الطريقة**

وفقًا لـطريقة **(Topçu *et al.*, 2007)** في microplaques نسكب 50µl من المستخلص (كتلة 1 مغ من المستخلص بحجم 1 مل من الميثانول) ، يضاف إلى الخليط من 130µl من الميثانول ،10µl من المحلول 1 (9.8 غ من البوتاسيوم أسيتات (CH3COOK) تذوب في 100 مل من الماء المقطر) و 10µl من المحلول 2 (10 غ من نترات الألومنيوم مذاب في 100 مل من الماء المقطر). تم تحضين كل شيء لمدة 40 دقيقة، ثم قياس الإمتصاصية عند 415 نانومتر.

# الفصل الرابع

# النتائج و المناقشة

### IV -1- حساب المردودية

تم حساب المردودية الإنتاجية للمستخلصات إنطلاقا من كتلة الإبتدائية للعسل المستخدمة و كتلة الجافة للمستخلص المتحصل عليها لكلا المستخلصين ( المستخلص المائي،المستخلص الميثانولي) .

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

**R%** :%المردود.
**mf** :الكتلة النهائية.
**mi**:الكتلة الإبتدائية.

وكانت نسبة المردودية الإنتاجية لكلا المستخلصين كما هي موضحة في**( الجدول 15 ).**

**جدول15 :** قيم مردود الاستخلاص

| المستخلص | كتلة العينة الأولية | كتلة المستخلص الجاف | المردود الإنتاجي% |
|---|---|---|---|
| المستخلص المائي | 1.04 g | 0.22 g | 21.15% |
| المستخلص الميثانولي | 1.04 g | 0.33 g | 31.73% |

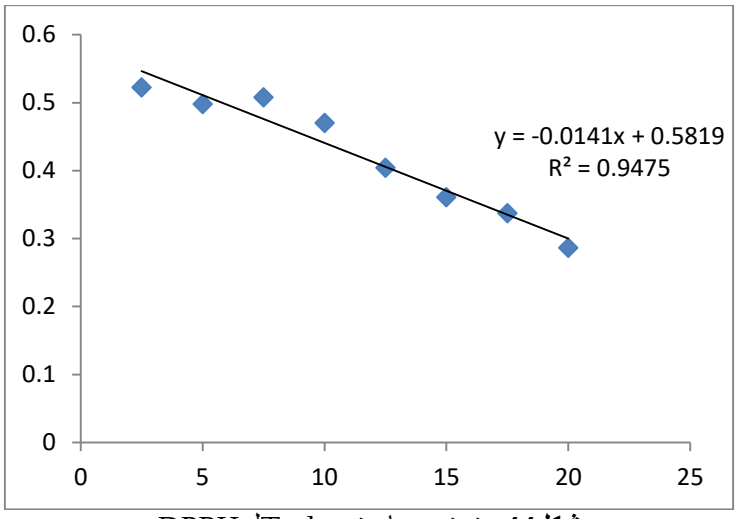
نلاحظ أن المردودية الإنتاجية للمستخلص الميثانولي والتي قدرت بنسبة31.73% ، أكبر من المردود الإنتاجي في المستخلص المائي حيث قدر النسبة المتحصل عليها من المستخلص المائي بنسبة21.15% . ويرجع هذا الإختلاف في المستخلصين للإختلاف في نوع المذيب و خصائصه .

### IV -2-الانشطة البيولوجية

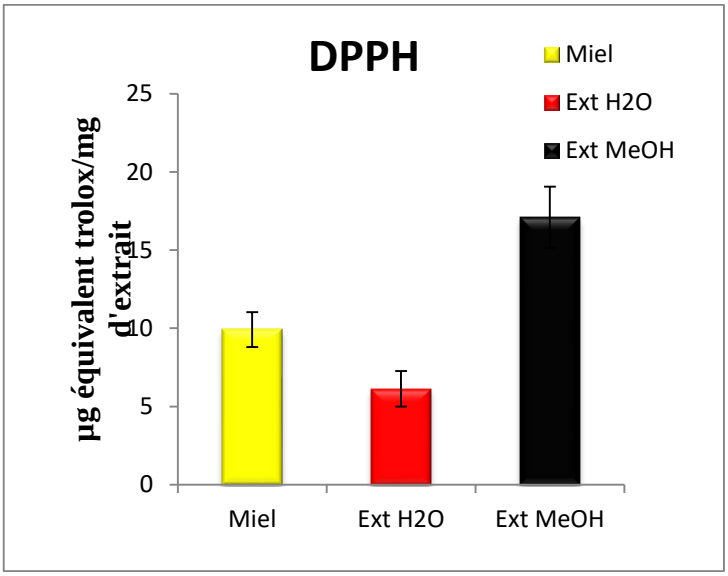
### IV -2-1- الأنشطة المضادة للأكسدة

#### IV -2-1-1- إختبارDPPH

في هذه الدراسة ، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات المختلفة من عسل اللبينة إستنادًا إلى قدرة المادة على تقليل جذر DPPH، بإستعمال منحنى العيارية Trolox الموضح في(**الشكل44)**، تم تلخيص نتائج النشاط المثبط الجذري لـ DPPH في(**الشكل45 ).**




**شكل44:**منحنى معايرة Trolox بـ DPPH



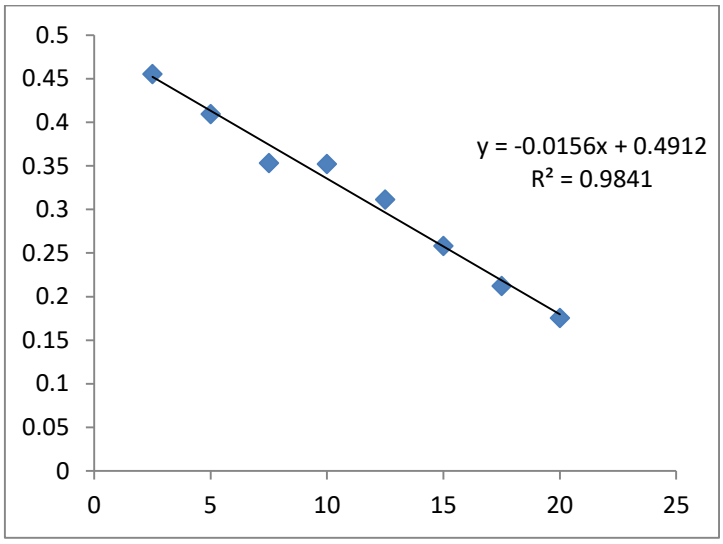

**شكل45**: نشاط العسل ومستخلصاته المضاد لأكسدة جذرDPPH

أوضحت النتائج المتحصل عليها تفوق واضح في نشاط المستخلص الميثانولي المضاد للأكسدة لجذر DPPH و المقدر ب(17,10±1,96 µgTE/mg) مقارنة بالمستخلص الخام المقدر ب (9,91 ± 1,11µgTE/mg) و المستخلص المائي الذي قدر بنشاط( 6,13 ±1,13µgTE/mg ) و هذا الإختلاف راجع إلى إختلاف في خصائص و طبيعة المذيب من حيث القطبية و الطبيعة الكيميائية للمركبات الفعالة الموجودة في العسل **(Sultana *et al.*, 2009).**

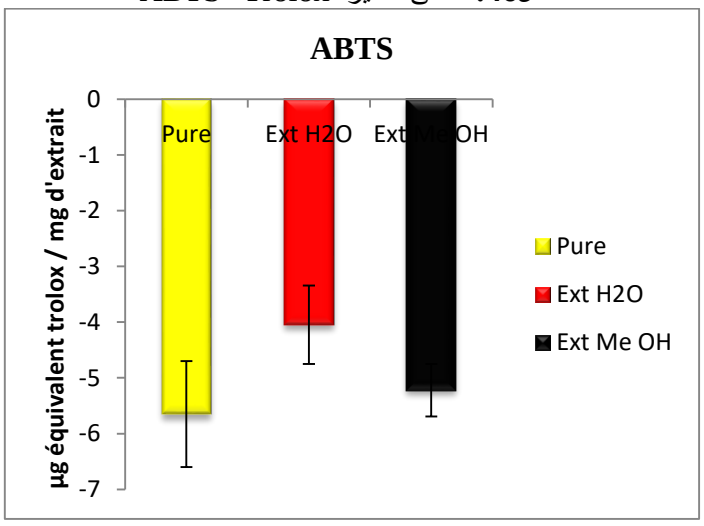
تتوافق نتائجنا مع نتائج ( **Tapia-Campos *et al* .,2017** ) لعينة من عسل أحادي الزهرة من جنوب جاليسكو ، بالمكسيك و نتائج **(Ibrahimi et Hajdari, 2020)** على عسل من كوسوفو في أنواع مختلفة من العسل (أحادي الزهور )حيث أظهرت كل نتائجهما أن العسل له نشاط في الكسح الجذري، أي له نشاط مضاد للأكسدة .

## IV -2-1-2- إختبار ABTS

في هذا الاختبار ، يتفاعل مضاد الأكسدة مع $ABTS^{+\bullet}$ باللون الأزرق / الأخضر عن طريق نقل الإلكترون لإرجاع ABTSH • + عديم اللون. تمت مراقبة هذا التحول عن طريق قياس الامتصاصية بإستعمال منحنى العيارية Trolox الموضح في(**الشكل46** )، كانت جميع نتائج نشاط الكسح الجذري لABTS سالبة كما هو موضح في(**الشكل47**).




**شكل46:**منحنى معايرة Trolox لـ ABTS



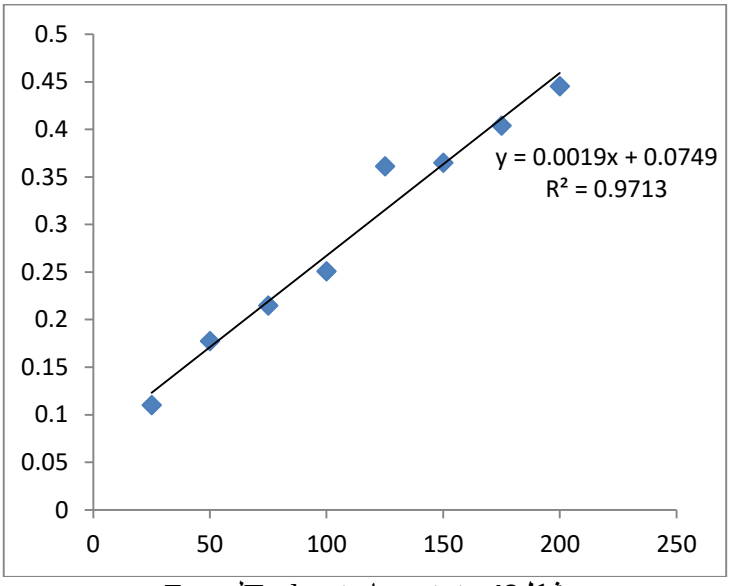

**شكل47**: كسح العسل ومستخلصاته لجذر ABTS

أوضحت النتائج الخاصة نشاط سالب لكسح جذر ABTS

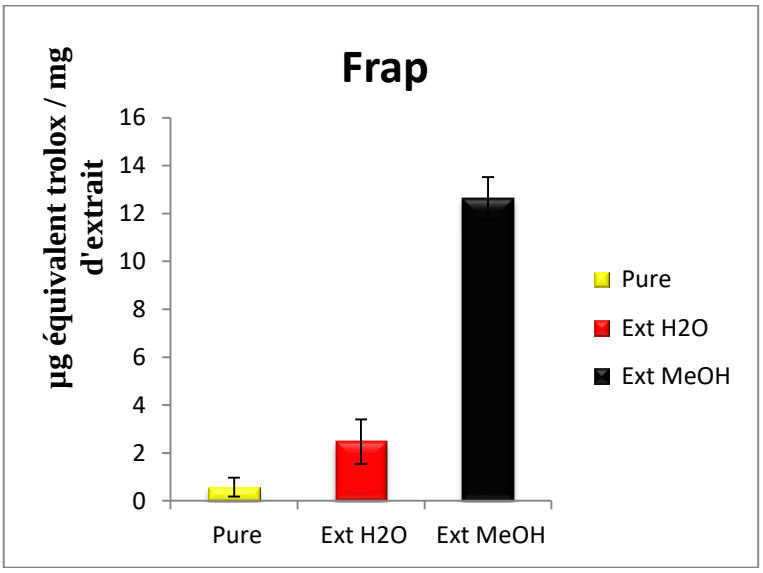
تختلف نتائجنا المتحصل عليها عن نتائج **( Al Qahtani *et al.*,2022)** لعسل السدر والعكبر حيث أظهرت كل نتائجهما أن العسل له نشاط مضاد للأكسدة في اختبار ABTS، بينما عسل السدر لم ينتج تأثيرا لكسح جذر ABTS وهذا مايتفق مع نتائجنا.

### IV -2-1-2-3- اختبارFRAP

تعتمد مراقبة هذا النشاط على قدرة المستخلصات المختبرة على تقليل الحديد ($Fe^{+3}$) من اللون الأصفر إلى حديد ($Fe^{+2}$) من اللون الأزرق والأخضر ، بإستعمال منحنى العيارية لمركب Trolox الموضح في **( الشكل48)** ، تم تدوين النتائج المتعلقة بتقدير القدرة الكلية المضادة للأكسدة FRAP للمستخلصات المختلفة للعسل الموضح في **(الشكل 49)**.




**شكل48:**منحنى معايرة Troloxلـ Frap




**شكل49:** تأثير العسل ومستخلصاته على حديد Frap

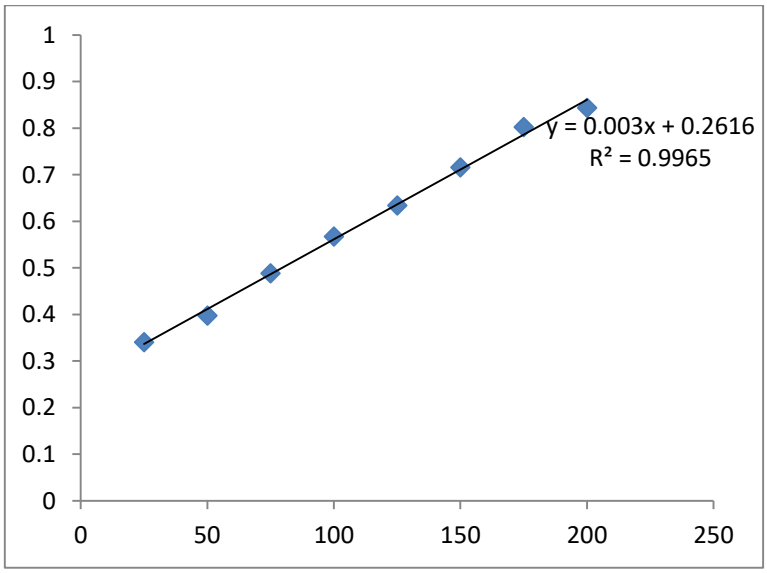
بالإضافة إلى آليات مضادات الأكسدة الأخرى ، تُستخدم قدرة مخلبة المعدن أيضًا كمؤشر على نشاط مضادات الأكسدة **(Shahidi et Zhong, 2015).**

أظهرت نتائج الاختبار أن المستخلص الميثانولي أنتج أحسن تأثير (12.64± 0.87µgTE/mg ) مقارنة بالعسل و المستخلص المائي ، والتي تقدر بقيم ( 0.39 ± 0.57 µgTE/mg) و( 0.93 ± 2.47 µgTE/mg ) على التوالي . وترجع هاته النتيجة قطبية المذيب وكمية ونوعية المركبات الفينولية والفلافونويدية الموجودة في المستخلصات **(Tsao, 2010 )**، حبث إن الإمتصاص العالي يشير إلى أن المستخلص لديه قوة اختزال عالية . **(Gülçin *et al.*, 2002)**

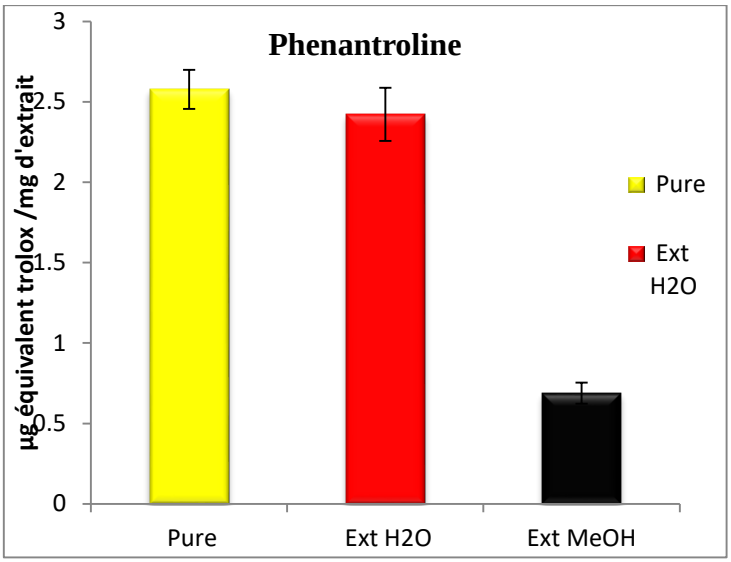
تتوافق نتائجنا مع النتائج المحصل عليها من طرف **(Ibrahimi et Hajdari, 2020)** من خلال دراسة على أنواع مختلفة من العسل أحادي الزهور من كوسوفو و كذلك مع نتائج **(Chua *et al.*, 2013)** من خلال بحث على عينات العسل الماليزي أحادي الزهرة حيث تم العثور على نشاط مضاد للأكسدة في اختبار Frap و هذا ما يؤكد نتائجنا أن العسل يحتوى على نشاط مضاد للأكسدة .

### IV -4-1-2- إختبار Phenanthroline

بعد تفاعل الأكسدة والإختزال ، يتشكل مركب $Fe^{+2}$-phenanthroline بلون أحمر برتقالي. ، بإستعمال منحنى العيارية ل Trolox الموضح في( **الشكل50** )،تم الحصول على النتائج التالية **(الشكل 51)**.




**شكل50:**منحنى معايرة Trolox لـ Phenanthroline



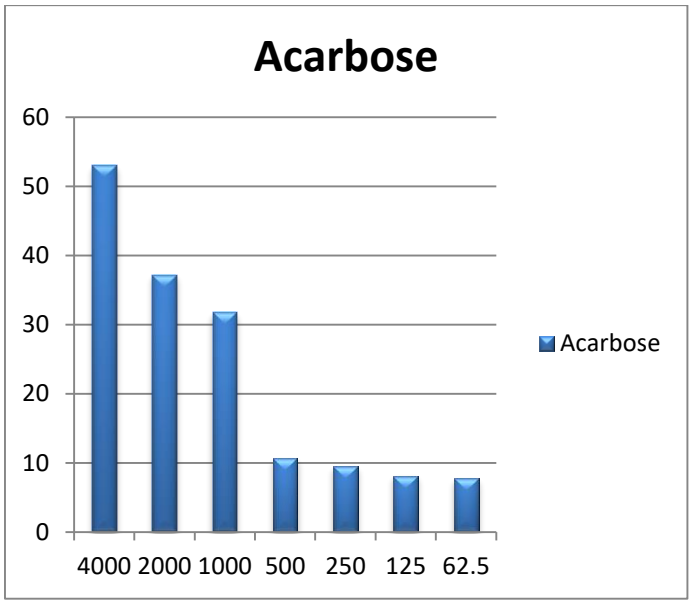

**شكل51**: تأثير Phenanthroline لمستخلصات مختلفة للعسل

أوضح العسل أحسن نشاط مقارنة مع المستخلص المائي والميثانولي حيث كانت القيم (2.57±0.12 µgTE/mg)، (2.42±0.16 µgTE/mg) و (0.68±0.06 µgTE/mg ) على الترتيب ، يتشكل مركب $Fe^{+2}$phenanthroline بعد تفاعل الاكسدة و الاختزال و قد اشرنا سابقا بان مكونات العسل المسؤولة عن خصائص الأكسدة والاختزال هي الفلافونويد والأحماض الفينولية والإنزيمات والفيتامينات والمعادن مثل النحاس والحديد **(Gül et Pehlivan,2018)**، و بما ان العسل لم يخضع لأي تغيرات كيميائية و فزيائية و لم يتعرض للتسخين و التبخر الكامل، بالتالي إحتفظ بجميع مركباته الكيميائية التي ساهمت بدورها في هذا التفاعل و هذا مايفسر قيمته المرتفعة مقارنة مع المستخلص المائي و الميثانولي.

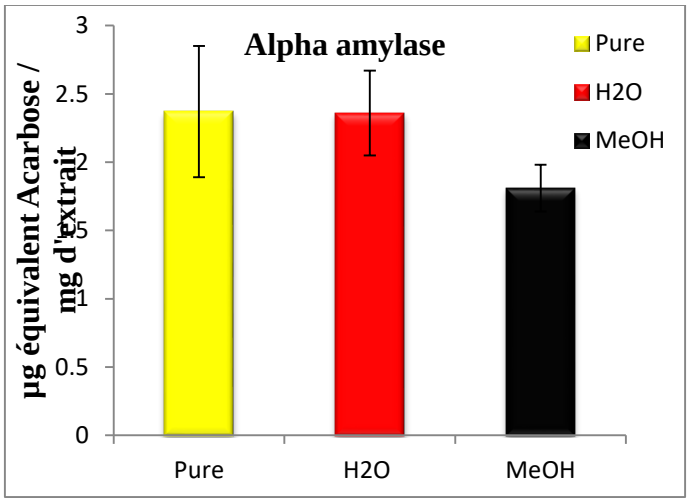
## IV -2-2-الأنشطة الانزيمية

### IV -2-2-1- إختبار Alpha amylase

في هذه الدراسة ، تم تقييم النشاط التثبيطي لإنزيم Alpha amylase لعسل اللبينة والمستخلص المائي والميثانولي له مقارنة مع Acarbose القياسي **(الشكل52)** ،النتائج موضحة في **(الشكل53)**.




**شكل52:** معايرة Acarbose لانزيم Alpha amylase




**شكل53**: نتائج إختبار Alpha amylase

Alpha amylaseهو إنزيم موجود في إفرازات اللعاب والمخاط المعوي والبنكرياس، ويساهم في تفكك الروابط الجليكوسيدية α -1-4 للنشاء، وبالتالي، فإن هذا الإنزيم يزيد من التوافر الحيوي للجلوكوز في الدم، و لك تكون المادة مضادة للسكري، يجب أن تكون قادرة على تقليل كمية الجلوكوز في الدم أو زيادة فعالية الأنسولين **.( Kumar *et al.*, 2011)**

تظهر نتائج دراستنا نشاطا مثبطا ملحوظا في Alpha amylase مع العسل بقيمة ( 2.37±0.48µg ACAE / mg ) و ابدى المستخلص المائي نشاط معتبر قدر بقيمة (2.36±0.31µg ACAE / mg) يقارب القيمة المحصل عليها باستعمال العسل بينما كانت قيمة هذا النشاط منخفض مع المستخلص الميثانولي بقيمة (1.81±0.17ug ACAE /mg )، بما أن العسل الخام لم يخضع للتسخين و الترشيح المفرط

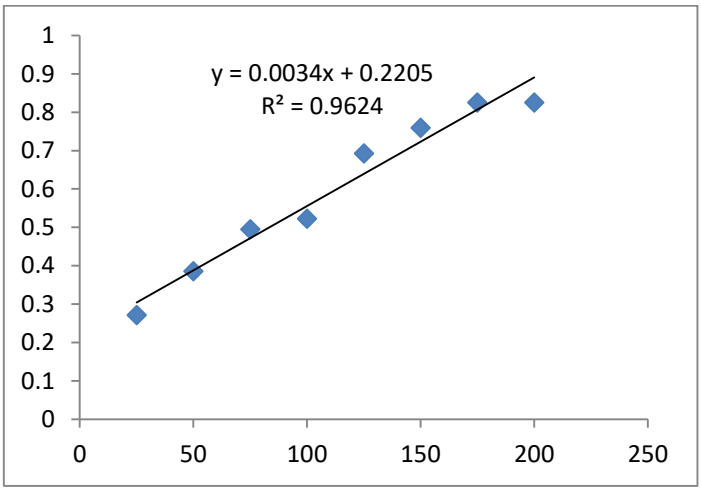
و التبخر الكامل فقط احتفظ بجميع مركباته الكيميائية مثل الفلافونويدات و الفينولات والتي تعد مضادات أكسدة قوية لها تأثيرات مثبطة للألفا أميلاز و هذا مايفسر قيمته المرتفعة مقارنة مع المستخلص المائي و الميثانولي.

وتتماثل نتائجنا مع تلك المحصل من طرف **( Al Qahtani *et al.*,2022)** لعسل السدر والعكبر ذو المصدرالسعودي حيث أظهرت كل نتائج أن للعسل نشاط مثبط للإنزيم ألفا.

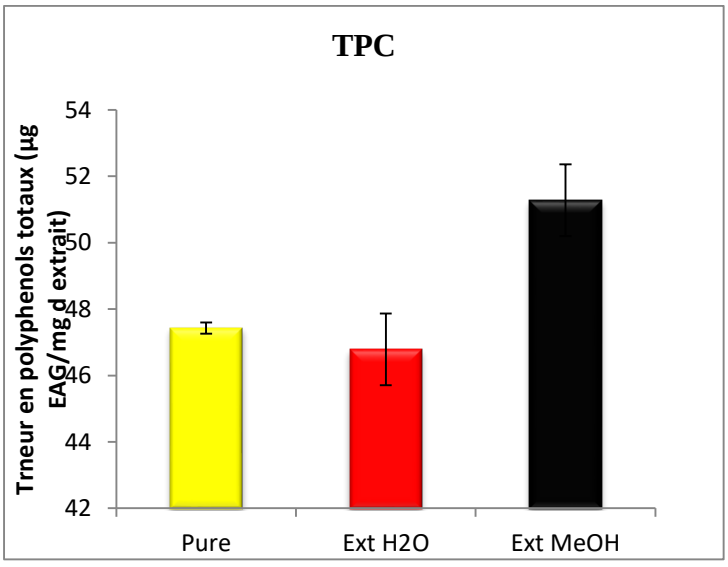
### IV -2-3-تحديد مجموع البوليفينول والفلافونيدات

#### IV -2-3-1-تقدير المحتوى الكلي للفينولات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي TPC

تم تقدير محتوى **الكلي للفينولات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي** من منحنى معايرة quercetine **(الشكل 54)** ، تم تلخيص نتائج النشاط في **(الشكل 55)**




**شكل54:**منحنى معايرة Acide gallique لـ TPC



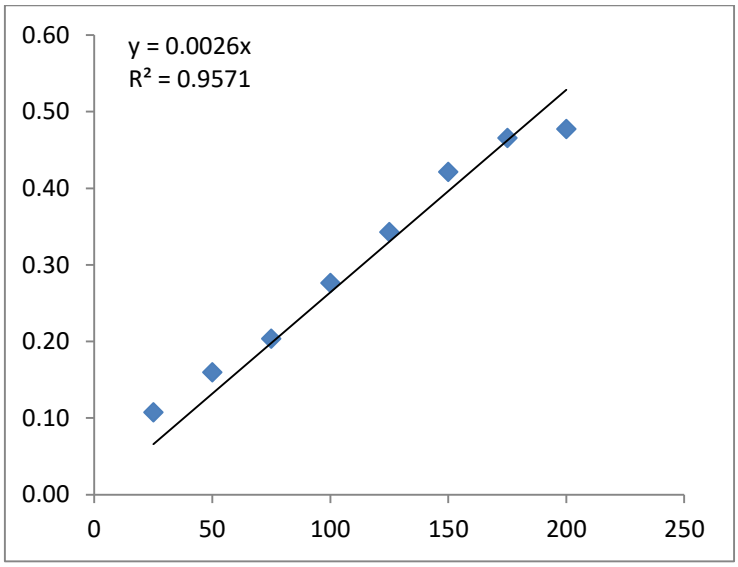

**شكل55: تقدير المحتوى الكلي للفينولات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي**

أظهرت نتائج التقدير الكلي للفينولات بأن كمية الفينولات للمستخلص الميثانولي ( 51.28±1.08µgGAE/mg) أعلي من تلك التي قدرت بالمستخلص المائي و العسل بقيمة (46.79± 1.08 µgGAE/mg ) ، ( 47.43 ±2.17 µgGAE/mg) على التوالي و هذا إن دل على شيء فإنما يدل على إحتواء عسل اللبينة المدروس على كم من المركبات الفينولية، و تعتمد توفرها على نوع و قطبية المذيب المستعمل في الإستخلاص،وكذا على درجة ذوبانها في بالمذيب.

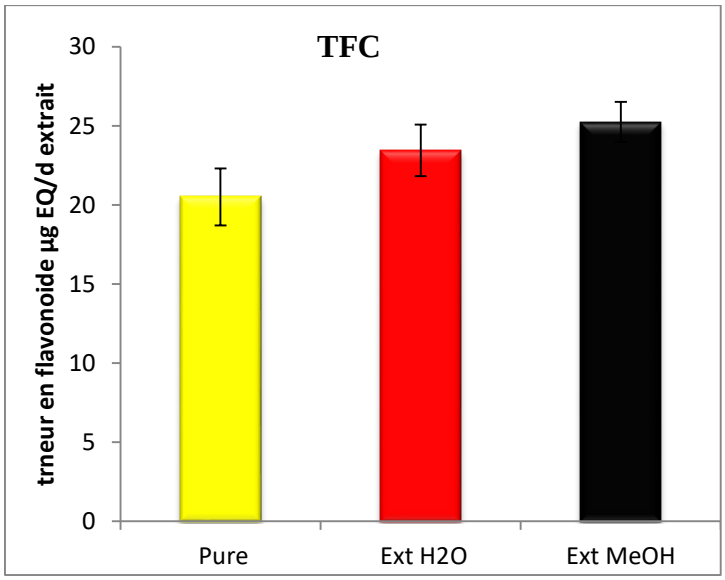
تتفق نتائجنا مع ماتوصل اليه **(Silva *et al.*, 2013)** من خلال الدراسة التي أنجزت على عسل Melipona subnitidaذو المصدر البرازيلي حيث قدرت كمية الفينولات بكمية (80.2-166.1±0.00-5.5µgGAE/mg) في المستخلصات الميثانولية وهي أعلى من تلك المحصل عليها في العسل الخام والتي قدرت بقيمة (0.00 ± 1.3 µgGAE/mg - 1.2).

### IV -2-3-2-تقدير المحتوى الكلي للفلافونويدات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي TFC

تم حساب محتوى المركب الفينولي لكل مستخلص من منحنى معايرة quercetine **(الشكل 56)** ، تم تلخيص نتائج النشاط في**( الشكل 57 ).**




**شكل56:**منحنى معايرة quercetine لـ TFC




**شكل 57**: تقدير المحتوى الكلي للفلافونيدات بالعسل و المستخلص المائي و الميثانولي

أما بالنسبة للتقدير الكلي للفلافونيدات، فقد كانت أيضا الفلافونويدات للمستخلص الميثانولي و المقدرة بكمية (25.25±1.26 µgQE/mg) أعلى مقارنة بالمستخلص المائي و الخام بقيمة (23.46 ±1,63µgQE/mg) و (20.51± 1.8 µgQE/mg) على التوالي، يعتبر الميثانول مذيبا فعالا لاستخلاص مجموعة واسعة من المركبات الفلافونيدية المضادة للأكسدة من العسل و هذا ما يفسر القيمة المرتفعة للفلافونويدات في المستخلص الميثانولي. **(Sultana *et al.*, 2009)**

تتفق نتائجنا في الدراسة مع ما أوضحه **(Suarez *et al.*,2021)** من خلال دراسة عسل مانوكا ذو المصدر النيوزيلندي حيث قدرت كمية إجمالي محتوى الفلافونويد لمستخلصات العسل الخام بكمية (21.857 ± 0.006 µgQE/mg) و(26.857 ± 0.009 µgQE/mg )هي قيم قريبة من القيم التي تحصلنا عليها. وتخلف نتائجنا مع العسل أحادي الزهرة ذو المصدر الفيليبيني حيث تراوح TCF ما بين (9.714 ± 0.001 µgQE/mg) و (7.333 ± 0.002 µgQE/mg ) وهي كمية منخفضة مقارنة مع القيم التي تحصلنا عليها ببحثنا .

حسب **(Becerril-Sánchez,2021)** هناك إرتباط بين كمية TFC و TPCومضادات الأكسدة ،ومن النتائج المتحصل عليها نلاحظ كمية معتبرة من الأحماض الفينولية و الفلافونويد في العسل ، حيث يدل وجود هذه المركبات على وجود نشاط مضاد للأكسدة، تعمل هذه المركبات بعدة آليات فإن الفينولات والفلافونويد لها القدرة على البحث عن الجذور الحرة و تحييدها عن طريق التبرع بإلكترون أو ذرة هيدروجين وبالتالي تقليل نشاطها الضار،بالإضافة إلى الكسح الجذري ، تُعرف البوليفينول أيضًا بأنها ممخلبات المعدنية، فيمكن للفينولات والفلافونيدات مخلبة المعادن الانتقالية مثل$Fe^{2+}$ فتقلل بشكل مباشر من معدل تفاعل فنتون ، وبالتالي منع الأكسدة التي تسببها جذور الهيدروكسيل شديدة التفاعل **( Tsao, 2010).**

# الخاتمة

يهدف بحثنا الى دراسة نشاط عسل اللبينة أحادي الأزهار المضاد للأكسدة . يستخدم عسل اللبينة بشكل كبير في الطب التقليدي في العديد من دول البحر الأبيض المتوسط و يساهم بشكل كبير في عمليات إلتئام الجروح بسبب نشاطاته المضادة للميكروبات والإلتهابات ومضادات الأكسدة .أنجز بحثنا بمركز البحث في البيوتكنولوجيا بقسنطينة (CRBt) مخبر الكيمياء الحيوية وكخطوة أولى تم استخلاص مستخلصين للعسل( المائي و الميثانولي )، وتم استعمال ثلاثة عينات في الدراسة (العسل ، المستخلص المائي و الميثانولي)، ومن الناحية البيولوجية تمت دراسة الفعالية ضد الأكسدة باستعمال تقنية DPPH، FRAP، ABTS، Phenanthroline ، و الفاعلية الإنزيمية باستعمال إختبار إنزيم Alfa-Amylase، كما تم التقدير الكمي لعديد الفينولات والفلافونويدات. كما تمّ حساب مردودية المستخلصات في مذيبين مختلفين :المائي و الميثانولي، حيث بينت النتائج أن أكبر مردود كان في المستخلص الميثانولي مقارنة بالمستخلص المائي حيث بلغت النسبة31.73%و21.15% على التوالي. أوضحت النتائج أن المستخلص الميثانولي انتج نشاطا عاليا مضادا لأكسدة DPPH قدر بقيمة (17,10 ±1,96 µgTE/mg) مقارنة بالعسل النقي الذي سجل قيمة (9,91 ±1,11 µgTE/mg) و المستخلص المائي الذي كشف عن أدنى قيمة (6,13 ±1,13µgTE/mg). وقد سجلت نتائج سلبية للمستخلصين المائي والميثانولي والعسل في اختبار ABTS .أما بالنسبة لاختبار FRAP فقد سجل المستخلص الميثانولي أيضا أعلى قيمة للنشاط (12.64±0.87µgTE/mg) مقارنة بالمستخلص المائي (2.47 ± 0.93ugTE/mg) مع تسجيل أدنى معدل بالعسل الخام بقدر (0,57±0.39 µgTE/mg) ،بالاضافة فان اختبار Phenanthroline أظهر نتائج متفاوتة حيث سجل العسل الخام نشاطا تثبيطيا عاليا للعسل الخام (2.57±0.12 µgTE/mg) مقارنة بالمستخلص المائي (2.42±0.16 µgTE/mg) والمستخلص الميثانولي وذلك بتسجيل أدنى قيمة (0.68±0,06 µgTE/mg).

بالنسبة لاختبار النشاط الإنزيمي و في اختبار النشاط المثبط للألفا أميلاز تم تسجيل نشاط مثبط مع أعلى قيمة بالعسل الخام و المقدرة بقيمة (2.37±0.48µg ACAE / mg) يليه المستخلص المائي بقدر ( 2.36 ±0.31 µg ACAE / mg) مع تسجيل أدنى قيمة للمستخلص الميثانولي بقدر (1.81±0.17µg ACAE /mg ). كما تبين النتائج المحصل عليها بأن المحتوى الكلي للفينولات للمستخلص الميثانولي (51.28±1.08µgGAE/mg) يليه أكبر مقارنة بتلك بالعسل الخام (47.43 ± 2.17µgGAE/mg ) والمستخلص المائي (46.79± 1.08µgGAE/mg) وبالمثل فان المحتوى الكلي للفلافونيدات بالمستخلص الميثانولي (25.25±1.26 ugQE/mg)أعلى مقارنة بالكمية المسجلة بالمستخلص المائي (23.46 ±1,63ugQE/mg) والعسل الخام (20.51± 1.8 ugQE/mg) . حسب النتائج المحصل عليها بدراستنا يتضح أن المستخلص الميثانولي قد أبدى نشاطا فعالا مضادا للأكسدة وذلك بارجاع DPPH و الحديد $Fe^{+3}$ حسب اختبار FRAP وذلك مقارنة بالمستخلص المائي والعسل الخام وقد يعزى ذلك الى احتواء المستخلص الميثانولي على محتوى كلي كبير من الفينولات والفلافونيدات . و أن العسل الخام يملك نشاطا تثبيطيا عاليا لانزيم الفا أميلاز . تؤكد نتائج دراستنا بأن المستخلص الميثانولي لعسل اللبينة أحادي الأزهاريملك نشاطا مضادا للأكسدة ارجاعيا للجذور الحرة والمعادن كالحديد$Fe^{+3}$ وقد يعزى ذلك الى وجود مركبات فينولية مرجعة للجذور و الحديد و أن العسل الخام يملك نشاطا تثبيطيا عاليا لانزيم الفا أميلاز وقد يفسر ذلك بالعمل التكافلي مابين المركبات الكلية التي يتوفر عليها عسل اللبينة.

ان النتائج المحصل تشجع على :

- دراسة فيتوكيميائية للمستخلص الميثانولي لعسل اللبينة
- تنقية المركبات الفينولية للمستخلص الميثانولي لعسل اللبينة
- دراسة النشاط المضاد للـأ كسدة المركبات الفينولية النقية
- دراسة اليات التكاقل الجزيئي لعسل للبينة المضاد لداء السكري من خلال تقدير النشاط التثبيطي لانزيم الفا اميلاز

# قائمة المصادر و المراجع

## A

**Ahmed, S., Sulaiman, S. A., Baig, A. A., Ibrahim, M., Liaqat, S., Fatima, S.,et al. (2017).** Honey as a potential natural antioxidant medicine: An insight into its molecular mechanisms of action. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018, 1–19. https://doi.org/10.1155/2018/8367846

**Ahmed, S.,& Othman,N.H., (2013).** Review of the medicinal effects of Tualang Honey and a comparison with manuka honey. The Malaysian journal of medical sciences : MJMS. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23966819/

**Al Qahtani, H. W., Yagi, S., Yılmaz, M. A., Cakır, O., Tarhan, A., Mustafa, A. A., et al. (2022)**. Chemical profile, antioxidant and enzyme inhibition activities of natural Saudi Sidr and Talh Honeys. Chemistry & Biodiversity, 19(7). https://doi.org/10.1002/cbdv.202200227

**Albaridi, N. A. (2019).** Antibacterial potency of honey. International Journal of Microbiology, 2019, 1–10. https://doi.org/10.1155/2019/2464507

**Almasaudi, S. (2020).** The antibacterial activities of Honey. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(4), 2188–2196.https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.10.017

**Almeida, A. J., de Oliveira, J. C., da Silva Pontes, L. V., de Souza Júnior, J. F., Gonçalves, T. A., Dantas, S. H.,et al . (2022).** Ros: Basic concepts, sources, cellular signaling, and its implications in aging pathways. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, 123. https://doi.org/10.1155/2022/1225578

**Alzoghaibi, M. A. (2013).** Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in crohn's disease. World Journal of Gastroenterology, 19(39), 6540. https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i39.6540

**Amigou. M ; (2016)** . les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse du doctorat vétérinaire.

**Andrade J.M.M ,& Fasolo.D.(2014).** Polyphenol antioxidants from natural sources and contribution to health promotion, chapter 20.

**Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Özyurt, D. (2007).**Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. Molecules, 12(7),1496–1547. doi:10.3390/12071496

**Apimondia, (2001) .**La médecine par les abeilles traité d'Apithérapie = The medicinefrom the bees : treatise of Apitherapy = La medicina por las abejas : tratado deApiterapia.

**Aranda-Rivera, A. K., Cruz-Gregorio, A., Arancibia-Hernández, Y. L., Hernández-Cruz, E. Y., & Pedraza-Chaverri, J. (2022).** Rons and oxidative stress:An overview of basic concepts. Oxygen, 2(4), 437–478.https://doi.org/10.3390/oxygen2040030

**Arawwawala, M., & Hewageegana, sujatha. (2017).** Health benefits and traditional uses of honey: A Review. Journal of Apitherapy, 2(1), 9. https://doi.org/10.5455/ja.20170208043727

**Arce-Amezquita, P. M., Beltrán-Morales, F. A., Manríquez-Rivera, G. A., Cota-Almanza, M. E., Quian-Torres, A., & Peralta-Olachea, R. G. (2019).** Nutritionalvalue of conventional, wild and organically produced fruits andvegetablesavailable in Baja California Sur Markets. REVISTA TERRALATINOAMERICANA, 37(4), 401. https://doi.org/10.28940/terra.v37i4.524

**Arnér, E. S. J. (2009).** Focus on mammalian thioredoxin reductases — important selenoproteins with versatile functions. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1790(6), 495–526. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.01.014

**Arnér, E. S., & Holmgren, A. (2000).** Physiological functions of thioredoxin andthioredoxin reductase. European Journal of Biochemistry, 267(20), 6102–6109. https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01701.x

**Arthur, J. R. (2000).** The glutathione peroxidases. Cellular and molecular life sciences : CMLS, 57(13-14), 1825–1835.

**Azeredo L. C., Azeredo M. A. A. , Souza S.R. de & Dutra V.M.L(2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of Apis mellifera of different floral origins .Food chemistry. 80: 249-254 .

**B**

**Balas F. (2015) :** Les propriété thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale revue de la littérature. . Thèse de pharmacie en pharmacie. Faculté de pharmacie. université de Nice sophila -Antipolis, pp27-30

**Balasaheb S. N., & Pal, D. (2015).** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. RSC Advances.

**Bankar, S. B., Bule, M. V., Singhal, R. S., & Ananthanarayan, L. (2009**). Glucose oxidase — An overview. Biotechnology Advances, 27(4), 489 501. doi:10.1016/j.biotechadv.2009.04.003

**Barbara. R , & Unione.C.T.(2009).** Le chemin du miel. Atelier de reproduction, agrida

**Barberán-T, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., & Anklam, E. (2001)**. HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81(5), 485–496. doi:10.1002/jsfa.836

**Becerril-Sánchez, A. L., Quintero-Salazar, B., Dublán-García, O., & Escalona-Buendía, H. B. (2021).** Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color. Antioxidants, 10(11), 1700. https://doi.org/10.3390/antiox10111700

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

**Belhajl .O, OUMATO1.J, & ZRIRA .S ;(2015)**: paramètres physiques du miel.Etude physico-chimique de quelques types de mil

**Benzie, I. F. F., & Devaki, M. (2017).** The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations andapplications. Measurement of Antioxidant Activity & Capacity, 77 106. doi:10.1002/9781119135388.ch5

**Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012).** Oxidative stress and Antioxidant Defense. World Allergy Organization Journal, 5(1),9–19. https://doi.org/10.1097/wox.0b013e3182439613

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

**Boateng, A. A., Sumaila, S., Lartey, M., Oppong, M. B., Opuni, K. F. M., & Adutwum, L. A. (2022)**. Evaluation of chemometric classification and regression models for the detection of syrup adulteration in honey. LWT, 163, 113498. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113498

**Bogdanov .S,K. Bieri, G. Gremaud , D. IFF, A. Kanzig, K. Seiler, H.Stockli, K. Zurcher (1999)** . Produits apicoles. 23B Pollen. Revus par le groupe d experts «Produits apicoles».

**Bogdanov .S; (2004)** : The honey book. Chapter 5, Honey composition. Bee Product Sience : pp 1-10.

**Bogdanov S., VIT P. & Kilchenmann V., (1996)** .Sugar profiles and conductivity of stingless bee honys from Venezuela , Apidologie, 27,445-450.

**Bonté, F., & Desmoulière, A. (2013).** Le miel : Origine et composition. Actualités Pharmaceutiques, 52(531), 18–21. https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.10.004

**Boulaaba I-A. ; (2019):** Place du miel à l'officine.Thèse de pharmacie en pharmacie.Facultéde pharmacie. Universiteaixmarseille, pp24-27.https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02113690

**Boutoub, O., El-Guendouz, S., Manhita, A., Dias, C. B., Estevinho, L. M., Paula, V. B., et al (2021).** Comparative study of the antioxidant and enzyme inhibitory activities of two types of Moroccan Euphorbia entire honey and their phenolic extracts. Foods, 10(8), 1909. https://doi.org/10.3390/foods10081909 .

**Brudzynski, K., Abubaker, K., Laurent, M., & Castle, A. (2011).** Re-examiningthe role of hydrogen peroxide in bacteriostatic and bactericidal activities of Honey. Frontiers in Microbiology, 2. https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00213

**C**

**Cao, S.-Y., Zhao, C.-N., Gan, R.-Y., Xu, X.-Y., Wei, X.-L., Corke, H., et al . (2019).** Effects and mechanisms of tea and its bioactive compounds for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: An updated review. Antioxidants, 8(6), 166. https://doi.org/10.3390/antiox8060166

**Chodakowska, M I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018).** Endogenous non enzymatic antioxidants in the human body. Advances in Medical Sciences, 63(1), 6878. https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005

**Christodoulou, M. C., Orellana Palacios, J. C., Hesami, G., Jafarzadeh, S., Lorenzo, J. M., Domínguez, R.,et al (2022).** Spectrophotometric methods for measurement of antioxidant activity in food and pharmaceuticals. Antioxidants, 11(11), 2213. https://doi.org/10.3390/antiox11112213

**Chua, L. S., Rahaman, N. L., Adnan, N. A., & Eddie Tan, T. T. (2013).** Antioxidant activity of three honey samples in relation with their biochemicalcomponents. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2013, 1–8.doi:10.1155/2013/313798

**Cianciosi, D., Forbes-Hernández, T., Afrin, S., Gasparrini, M., Reboredo-Rodriguez, P., Manna, P .et al (2018).** Phenoliccompounds in honey and their associated health benefits: A Review. Molecules,23(9), 2322. https://doi.org/10.3390/molecules23092322

**Collins, A. R. (1999).** Oxidative DNA damage, antioxidants, and cancer. BioEssays, 21(3), 238–246.

**Cortijo.R, D., Rodríguez-Rodríguez, P., de Pablo, Á. L., López-Giménez, M. R., González, M. C., & Arribas, S. M. (2017).** Fetal undernutrition and oxidative stress: Influence of sex and gender. Handbook of Famine, Starvation, and Nutrient Deprivation, 1–19. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40007-5_32-1

**Couquet.Y, ;(2013)** : Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.Actualitéspharmaceutique. 22-25) https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.10.005

**D**

**Dade ,H.A. (1977).**Anatomy and physiology of the honeybee, International Bee Research Association.

**Darrigol J.L. (2007).**Apithérapie : miel, pollen, propolis, gelée royale. DanglesEd.

**Defraigne .J.O, & Pincemail J., (2002)** . stress oxydant et antioxydants : mythes et réalités ., Med Liège , vol.60 , p 10-19

**Dekdouk, N., Malafronte, N., Russo, D., Faraone, I., De Tommasi, N., Ameddah, S et al (2015).** Phenolic Compounds fromOlea europaeaL. Possess Antioxidant Activity and Inhibit Carbohydrate Metabolizing EnzymesIn Vitro. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015, 19. doi:10.1155/2015/684925

**Descottes.B,. (2009)** : cicatrisation par le miel. L'expérience de 25 années. Phytothérapie. 7:112-116.

**Desport, J.-C., & Couratier, P. (2002).** Stress oxydant et maladiesneurodégénératives. Nutrition Clinique et Métabolisme, 16(4), 253 259. doi:10.1016/s0985-0562(02)00172-3

**Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016).** Role of Ros and RNSsources in physiological and pathological conditions. Oxidative Medicine andCellular Longevity, 2016, 1–44. https://doi.org/10.1155/2016/1245049

**Duarte-Jurado, A. P., Gopar-Cuevas, Y., Saucedo-Cardenas, O., Loera-Arias, M. de, Montes-de-Oca-Luna, R., Garcia-Garcia, A., et al (2021)**. Antioxidant therapeutics in parkinson's disease: Current challenges and opportunities. Antioxidants, 10(3), 453. https://doi.org/10.3390/antiox10030453

**Dżugan, M., Tomczyk, M., Sowa, P., & Grabek-Lejko, D. (2018).** Antioxidant activity as biomarker of Honey Variety. Molecules, 23( 2069. https://doi.org/10.3390/molecules23082069

**Dżugan, M., Wesołowska, M., Zaguła, G., Kaczmarski, M., Czernicka, M., & Puchalski, C. (2018).** Honeybees (Apis mellifera) as a biological barrier for contamination of honey by environmental toxic metals. Environmental Monitoring and Assessment, 190(2). doi:10.1007/s10661-018-6474-0

**E**

**Eddaikra, A., & Eddaikra, N. (2020).** Endogenous enzymatic antioxidant defense and pathologies. Antioxidants - Benefits, Sources, Mechanisms of Action. https://doi.org/10.5772/intechopen.95504

**Eteraf-Oskouei, T., & Najafi, M. (2013).** Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A Review. Iranian journal of basic medical sciences. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3758027/

**F**

**Fais, A., Delogu, G. L., Floris, S., Era, B., Medda, R., & Pintus, F. (2021).** Euphorbia characias: Phytochemistry and biological activities. *Plants*, *10*(7), 1468. https://doi.org/10.3390/plants10071468

**Favier, A. (2006).** Stress oxydant et pathologies humaines. Annales Pharmaceutiques Françaises, 64(6), 390–396. https://doi.org/10.1016/s0003-4509(06)75334-2

**Fontaine, E. (2007).** Radicaux Libres. Traité de Nutrition Artificielle de l'adulte, 251–257. https://doi.org/10.1007/978-2-287-33475-7_19

**G**

**Garg, A., & Lee, J. C.-Y. (2022).** Vitamin E: Where are we now in vascular diseases? Life,12(2), 310. https://doi.org/10.3390/life12020310

**Gašić, U. M., Milojković-Opsenica, D. M., & Tešić, Ž. L. (2017).** Polyphenols as possible markers of botanical origin of honey. Journal of AOAC INTERNATIONAL, 100(4), 852–861. https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0144

**Giovinazzo, D., Dawson, V. L., & Dawson, T. M. (2014).** Nitric oxide.Encyclopedia of the Neurological Sciences, 597–600. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-3851574.00046-4

**González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020).** Rosmarinus officinalis L. (rosemary): An ancient plant with uses in personal healthcare and cosmetics. Cosmetics, 7(4), 77. https://doi.org/10.3390/cosmetics7040077

**Gül, A., & Pehlivan, T. (2018).** Antioxidant activities of some monofloral honey types produced across Turkey. Saudi Journal of Biological Sciences, 25(6), 1056–1065. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.02.011

**Gülçin, İ., Oktay, M., Küfrevioğlu, Ö. İ., & Aslan, A. (2002).** Determination of antioxidant activity of lichen Cetraria islandica (L) Ach. Journal of Ethnopharmacology, 79(3), 325–329. doi:10.1016/s0378-8741(01)00396-8

**H**

**Hadley, D. (2019).** Habits and traits of Honey Bees. ThoughtCo.https://www.thoughtco.com/honey-bee-apis-mellifera-1968092

**Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007).**Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège. https://hdl.handle.net/2268/8914

**Hammad, M. B. (2018).** Bees and beekeeping in Ancient Egypt . Journal of Association of Arab Universities for Tourism and Hospitality.https://journals.ekb.eg/article_47990.html.

**Heo, S., Kim, S., & Kang, D. (2020).** The role of hydrogen peroxide andperoxiredoxins throughout the cell cycle. Antioxidants, 9(4), 280.https://doi.org/10.3390/antiox9040280

**Hermosín, I., Chicón, R. M., & Dolores Cabezudo, M. (2003).** Free amino acid composition and botanical origin of honey. Food Chemistry, 83(2), 263–268. https://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00089-x

**Höhn, A., König, J., & Grune, T. (2013).** Protein oxidation in aging and the removalof oxidized proteins. Journal of Proteomics, 92, 132 159. doi:10.1016/j.jprot.2013.01.004

**Hossain, M. L., Lim, L. Y., Hammer, K., Hettiarachchi, D., & Locher, C. (2022).** A review of commonly used methodologies for assessing the antibacterial activity of honey and Honey Products. MDPI. https://www.mdpi.com/2079-6382/11/7/975

**Huchet. E, Coustel. J & Guinot .L . (1996) :** Les constituants chimiques du Miel. Méthodes d'analyses chimiques - Département Science de l'Aliment .Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.

**I**

**Ibrahimi, H., & Hajdari, A. (2020).** Phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Kosovo. Journal of Apicultural Research, 1-6. doi:10.1080/00218839.2020.1714194

**Ighodaro, O. M., & Akinloye, O. A. (2018).** First Line defence antioxidants superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX):Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Journal of Medicine, 54(4), 287–293. https://doi.org/10.1016/j.ajme.2017.09.001

**Irlande.D ; (2010)** : Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Mémoire en pharmacies. Université de Paris. France.4-14

**J**

**Jeffrey,A.,Echazrreta,C.M.,(1996).** Medical uses of honey . Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México.Rev Biomed 1996; 7:43-49

**Jovic, T. H., Ali, S. R., Ibrahim, N., Jessop, Z. M., Tarassoli, S. P., Dobbs, T. D.,et al . (2020).** Could vitamins help in the fight against COVID-19? Nutrients, 12(9), 2550. https://doi.org/10.3390/nu12092550

**K**

**Kabamba, A. T., Bakari, S. A., Longanga, A. O., & Lukumwena, Z. K. (2014)**. Baisse du HDL-Cholestérol indicateur du stress oxydatif dans le diabète de type 2. Pan African Medical Journal, 19. https://doi.org/10.11604/pamj.2014.19.140.5279

**Kaoudji .Y, Nehlil. M, & Sadadou.A, (2020).** Etude physico-chimique etpharmaco-toxicologique des effets du miel et du pollen.Thèse de doctorat en pharmacie

**Kaur, H., Hippargi, G., Pophali, G. R., & Bansiwal, A. K. (2019).** Treatmentmethods for removal of pharmaceuticals and personal care products fromdomestic wastewater. Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology, 129–150. https://doi.org/10.1016/b978-012-816189-0.00006-8

**Kavanagh, S., Gunnoo, J., Marques Passos, T., Stout, J. C., & White, B. (2019).** Physicochemical properties and phenolic content of honey from different floral origins and from rural versus urban landscapes. Food Chemistry, 272, 66–75. doi:10.1016/j.foodchem.2018.08.03

**Khan, N., & Mukhtar, H. (2018).** Tea Polyphenols in Promotion of Human Health. Nutrients, 11(1), 39. doi:10.3390/nu11010039 .

**Koechler.S,( 2015).** Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament?, Thèse de doctorat en pharmacie, 10-15

**Kumar, A., Lakshman, K., Jayaveera, K., Shekar, S., Swamy, N., Khan, S., & Velumurga, C. (2011)**. In Vitro α-Amylase Inhibition and Antioxidant Activities of Methanolic Extract of Amaranthus Caudatus Linn. Oman Medical Journal, 26(3), 166–170. doi:10.5001/omj.2011.40

**L**

**Laaroussi, H., Bakour, M., Ousaaid, D., Ferreira-Santos, P., Genisheva, Z., El Ghouizi, A.,et al . (2021)**. Protective effect of honey and propolis against gentamicin-induced oxidative stress and hepatorenal damages. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2021, 1–19.https://doi.org/10.1155/2021/9719906

**Labban, L. (2014).** medicinal and pharmacological properties of turmeric c (Curcuma longa): A review. Int J Pharm Biomed Sci. 2014;5(1):17-23 ISSN No: 0976-5263.

**Lee, S. E., & Park, Y. S. (2021).** The emerging roles of antioxidant enzymes by dietary phytochemicals in vascular diseases. Life, 11(3), 199. https://doi.org/10.3390/life11030199

**Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011).** The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. Food Chemistry, 125(2), 288–306.https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012

**Lequet .L ; (2010) .** du nectar a un miel de qualite :controles analytiques du miel etconseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur. Thèse du doctoratvétérinaire . ecole nationale veterinaire de lyon .Thèse n°085

**Li, C., Miao, X., Li, F., Wang, S., Liu, Q., Wang, Y., & Sun, J. (2017).** Oxidative Stress-Related Mechanisms and Antioxidant Therapy in Diabetic Retinopathy. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, 1–15. doi:10.1155/2017/9702820

**Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010).** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy Reviews, 4(8),118. doi:10.4103/0973-7847.70902

**M**

**Makuasa A., D. A., & Ningsih, P. (2020).** The analysis of total flavonoid levels in young leaves and old soursop leaves (Annona muricata L.) using UV-vis sepctrofotometry methods. Journal of Applied Science, Engineering, Technology, and Education, 2(1), 11–17. https://doi.org/10.35877/454ri.asci2133

**Marc, F., Davin, A., Deglène-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., & Fritsch, P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les alimentsm/s : Médecine Sciences. Érudit. https://id.erudit.org/iderudit/008122ar

**Marcet.M, (2017) :** la cicatrisation des brulures par le miel, thèse de doctorat en pharmacies. U.F.R Des sciences pharmaceutiques. 75-98

**Martelli, A., Testai, L., Colletti, A., & Cicero, A. F. (2020).** Coenzyme Q10: Clinical applications in cardiovascular diseases. Antioxidants, 9(4), 341.https://doi.org/10.3390/antiox9040341

**McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969).** Superoxide Dismutase. Journal of Biological Chemistry, 244(22), 6049–6055. doi:10.1016/s0021-9258(18)63504-5 .

**Mitra, S., Kaushik, N., Moon, I. S., Choi, E. H., & Kaushik, N. K. (2020).** Utilityof Reactive Species Generation in Plasma Medicine for NeuronalDevelopment. Biomedicines, 8(9), 348. doi:10.3390/biomedicines8090348

**Moussa, Z., M.A. Judeh, Z., & A. Ahmed, S. (2020).** Nonenzymatic exogenous and endogenous antioxidants. Free Radical Medicine and Biology.https://doi.org/10.5772/intechopen.87778

**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.

**Mushtaq, S., Imtiyaz, Z., Wali, A. F., Khan, A., Rashid, S. M., Amin, I., Ali, A.,et al . (2020)**. Honey: A powerful natural antioxidant and its possible mechanism of action. Therapeutic Applications of Honey and Its Phytochemicals, 11–29. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6799-5_2

**N**

**Nair S ; (2014)** : Identification des plantes mellifères et analyses physico-chimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biochimie, Faculté des Sciences de la nature et de la terre. Université d'Oran,. 28-43.s marocains ; (3):71-75

**Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., & Das, N. (2019).** Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 1–19. https://doi.org/10.1155/2019/9613090

**Nicolas K.( 2020):** Des abeilles, des humains et du miel. Thèse de pharmacie enpharmacie. Faculté de pharmacie. Université de Montpellier. 77-83.

**Nimse, S. B., &; Pal, D. (2015).** Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. RSC Advances, 5(35), 27986–28006.https://doi.org/10.1039/c4ra13315c

**Njoya Mfotie, E. (2021).** Medicinal plants, antioxidant potential, and cancer. Cancer,349–357. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819547-5.00031-6

**Nolan, V. C., Harrison, J., & Cox, J. A. (2019).** Dissecting the antimicrobial composition ofHoney. Antibiotics, 8(4), 251. https://doi.org/10.3390/antibiotics8040251

**Nweze J.A.,. Olovo C. V, Nweze E.I, Obi Okechukwu. J , C. Paul ;(2019):**Therapeutic Properties of Honey , DOI: 10.5772/intechopen.86416.

**O**

**Ouldyerou k., Righi S. , Meddah B. et Tir touil A. , Bouhadi D. & Hariri A. . (2018).** Eude phytochimique et activité antioxydante de quelques plantes antidiabétique au niveau de la wilaya de mascara. Journal of Advanced Research inScience and Technology.ISSN: 2352-9989.

**Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of browning reaction prepared from glucosamine.Japanese Journal of Nutrition, 44, 307–315.

**P**

**Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015).** Free radicals:Properties,sources, targets, and their implication in various diseases. IndianJournal of Clinical Biochemistry, 30(1), 11–26. https://doi.org/10.1007/s12291014-0446-0

**Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011).** Methods for Total Antioxidant ActivityDetermination: A Review. Biochemistry & AnalyticalBiochemistry,01(01). doi:10.4172/2161-1009.1000106

**Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V et al . (2017)**. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, 1–13. doi:10.1155/2017/8416763

**Poret, M., Tran, T., Villotte, M., & Nüsse, O. (2017).** La myéloperoxydase : Un fin stratège face à l'infection par un pathogène. Médecine/Sciences, 33(8–9), 741–743.https://doi.org/10.1051/medsci/20173308018

**R**

**Rachal .H (2008).** Honey and medicine. Encyclopaedia of the History of Science, Technology, and Medicine in Non-Western Cultures, 1074–1079.https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4425-0_9705

**Ranneh, Y., Akim, A. M., Hamid, H. A., Khazaai, H., Fadel, A., Zakaria, Z. A.,et al . (2021).** Honey and its nutritional and anti-inflammatory value. BMC Complementary Medicine and Therapies, 21(1). doi:10.1186/s12906-020-03170-5

**Rather, M. A., Bashir, S. M., Mumtaz, P. T., Amin, I., & Ali, A. (2020).** Recent advances in the discovery of bioactive components from natural honey. Therapeutic Applications of Honey and Its Phytochemicals, 171–191. https://doi.org/10.1007/978981-15-6799-5_9

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

**Rossant A. ;(2011) :** Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de pharmacie en pharmacie.Faculté de pharmacie. Université de limoges, 53-59.

**S**

**Sáez, G. T., & Están-Capell, N. (2014).** Antioxidant enzymes. Encyclopedia of Cancer, 288–294. https://doi.org/10.1007/978-3-662-46875-3_7210 .

**Samarghandian, S., Farkhondeh, T., & Samini, F. (2017).** Honey and health: A review of recent clinical research. Pharmacognosy research. PMID: 28539734 9(2):121–127. doi: 10.4103/0974-8490.204647

**Sathaiya, J., Jeeva, Js., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M., & Krishnan, R. (2015).** Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences, 7(6), 331. https://doi.org/10.4103/0975-7406.163438

**Schweitzer P. (2005).**Un miel étrange [en ligne]. In : Apiservices, Abeille de France,. Site disponible sur : http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/miel_etrange.htm (page consultée le 09/11/2014)

**Schweitzer P.( 2003).** La cristallisation des miels [en ligne]. In : Apiservices, Abeille de France,. Site disponible sur : http://www.apiservices.com/abeille-de- france/articles/ cristallisation_miel.htm (page consultée le 11/01/015)

**Shahidi, F. , & Zhong, Y. (2015).** Methods for the assessment of antioxidant activity in foods11This chapter is reproduced to a large extent from an article in press by the authors in the Journal of Functional Foods. Handbook of Antioxidants for Food Preservation, 287–333. doi:10.1016/b978-1-78242-089-7.00012-9 .

**Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N. V., Zucca, P., Varoni, E. M., Dini, L., Panzarini, E.,et al . (2019).** Lifestyle, oxidative stress, and antioxidants: Back and forth in the pathophysiologof chronic diseases. Frontiers in Physiology, 11. https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00694

**Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., & Suleria, H. A. (2022).** Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. Environmental Science and Pollution Research, 29(54), 81112–81129. https://doi.org/10.1007/s11356-022-23337-6

**Sies, H. (2015).** Oxidative Stress: A Concept in Redox Biology and Medicine. Redox Biology, 4, 180-183. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.002

**Sifuentes-Franco, S., Sánchez-Macías, D. C., Carrillo-Ibarra, S., Rivera-Valdés, J. J., Zuñiga, L. Y., & Sánchez-López, V. A. (2022).** Antioxidant and anti inflammatory effects of coenzyme Q10 supplementation on infectious diseases.Healthcare, 10(3), 487. https://doi.org/10.3390/healthcare10030487

**Silva, T. M. S., dos Santos, F. P., Evangelista-Rodrigues, A., da Silva, E. M. S., da Silva, G. S., de Novais, J. S., et al. (2013).** Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (Melipona subnitida) honey. Journal of Food Composition and Analysis, 29(1), 10–18. doi:10.1016/j.jfca.2012.08.010

**Suarez, A. F. L., Tirador, A. D. G., Villorente, Z. M., Bagarinao, C. F., Sollesta, J. V. N., Dumancas, G. G., et al (2021).** The Isorhamnetin-Containing Fraction of Philippine Honey Produced by the Stingless Bee Tetragonula biroi Is an Antibiotic against Multidrug-Resistant Staphylococcus aureus. Molecules, 26(6),1688. doi:10.3390/molecules26061688

**Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009).** Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. Molecules, 14(6),2167–2180. https://doi.org/10.3390/molecules14062167

**Sunitha, J., Jeeva, Js., Ananthalakshmi, R., Rajkumari, S., Ramesh, M., & Krishnan, R. (2015).** Enzymatic antioxidants and its role in oral diseases. Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences, 7(6), 331. https://doi.org/10.4103/0975-7406.163438

**Świątek, Ł., Sieniawska, E., Sinan, K. I., Zengin, G., Boguszewska, A., Hryć, B., ,et al . (2023).** Chemical characterization of different extracts of Justicia secunda vahl and determination of their anti-oxidant, anti-enzymatic, anti-viral, and cytotoxic properties. Antioxidants, 12(2), 509. https://doi.org/10.3390/antiox12020509.

**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**

**Tapia-Campos, E., Castañeda-Saucedo, Ma. C., Ramírez-Anaya, J. del P., Macías-Macías, J. O., Barajas-Pérez, J. S., Tapia-González, J. M.,et al . (2017**). Physical-chemical characterization, phenolic content and consumer preferences of Apis Mellífera Honey in southern Jalisco, México. Interciencia. https://www.redalyc.org/journal/339/33952909009/html/

**Topçu G., Ay A., Bilici A., Sarıkürkcü C., Öztürk M., and Ulubelen A. (2007).** A new flavone from antioxidant extracts of Pistacia terebinthus. Food Chemistry 103:816–822.

**Tsao, R. (2010).** Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, 2(12),1231–1246. https://doi.org/10.3390/nu2121231

**V**

**Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 39(1), 44 84.https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001

**W**

**Wahlang, B., Falkner, K. C., Cave, M. C., & Prough, R. A. (2015).** Role of Cytochrome P450 Monooxygenase in Carcinogen and Chemotherapeutic Drug Metabolism. Advances in Pharmacology, 1–33. doi:10.1016/bs.apha.2015.04.004

**Wali, A. F., Pillai, J. R., Razmpoor, M., Jabnoun, S., Akbar, I., Rasool, S., Arafah, A.,et al. (2020).** Honey and its Phyto-constituents: From chemistry to medicine. Therapeutic Applications of Honey and Its Phytochemicals, 31–52. https://doi.org/10.1007/978-981-15-6799-5_3

**Winston ,M. L.(1991)** . he biology of the honey bee - Harvard University press. (n.d.-b). https://www.hup.harvard.edu/catalog.php?isbn=9780674074095.

**Winterbourn, C. C. (2013).** The Biological Chemistry of hydrogen peroxide.Hydrogen Peroxide and Cell Signaling, Part C, 3–25.https://doi.org/10.1016/b978-0-12-405881-1.00001-x

**Wu, J. Q., Kosten, T. R., & Zhang, X. Y. (2013).** Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. Progress in Neuro-Psychopharmacology and BiologicalPsychiatry, 46, 200–206.https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.02.015

**Y**

**Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., & Li, F. (2020).** Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. Animal Nutrition. doi:10.1016/j.aninu.2020.01.001

**Z**

**Zengin, G., Sarikurkcu, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014).** Acomprehensive study on phytochemical characterization of Haplophyllum myrtifolium Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. Industrial Crops and Products, 53, 244-251. doi:10.1016/j.indcrop.2013.12.043

# الملاحق

**الجداول التالية توضح نتائج المتحصل عليها في جميع الاختبارات لعسل اللبينة**

| DPPH(µgTE/mg) | | |
|---|---|---|
| | **Moyenne** | **SD** |
| **PURE** | 9,91 | 1.96 |
| **H2O** | 6,13 | 1.13 |
| **MeOH** | 17,10 | 1.96 |

| ABTS(µgTE/mg) | | |
|---|---|---|
| | **Moyenne** | **SD** |
| **PURE** | -5,64 | 0,95 |
| **H2O** | -4,04 | 0,70 |
| **MeOH** | -5,22 | 0,47 |

| FRAP( µgTE/mg) | | |
|---|---|---|
| | **Moyenne** | **SD** |
| **PURE** | 0,57 | 0,39 |
| **H2O** | 2.47 | 0.39 |
| **MeOH** | 12.57 | 0.87 |

| Phenanthroline( µgTE/mg) | | |
|---|---|---|
| | **Moyenne** | **SD** |
| **PURE** | 2,57 | 0,12 |
| **H2O** | 2.42 | 0,16 |
| **MeOH** | 0,68 | 0,06 |

| Alfa-amylase µg ACAE /mg | | |
|---|---|---|
| | **Moyenne** | **SD** |
| **PURE** | 2,37 | 0,48 |
| **H2O** | 2,36 | 0,31 |
| **MeOH** | 1,81 | 0,17 |

| TPC µgGAE/mg | | |
|---|---|---|
| | **Moyenne** | **SD** |
| **PURE** | 47,43 | 0,17 |
| **H2O** | 46,79 | 1,08 |
| **MeOH** | 51,28 | 1,08 |

| TFC µgQE/mg | | |
|---|---|---|
| | **Moyenne** | **SD** |
| **PURE** | 20,51 | 1,80 |
| **H2O** | 23,46 | 1,63 |
| **MeOH** | 25,25 | 1,26 |

# الملخص

# ملخص

يهدف بحثنا إلى دراسة النشاط المضاد للأكسدة لعسل اللبينة أحادي الأزهار المحصل عليه من غرداية سنة 2022 .أجريت عدة اختبارات : إختبار DPPH ، إختبار ABTS ، إختبار FRAP، إختبار الفينانثرولين و إختبار النشاط التثبيطي لإنزيم Alpha amylase وكذلك قياس كمية الفينولات و الفلافونويد .أوضحت النتائج أن المستخلص الميثانولي أنتج نشاطا عاليا مضادا لأكسدة DPPH قدر بقيمة (17,10 ±1,96 µgTE/mg) مقارنة بالعسل النقي الذي سجل قيمة (9,91 ±1,11 µgTE/mg) و المستخلص المائي الذي كشف عن أدنى قيمة (6,13 ±1,13µgTE/mg). وقد سجلت نتائج سلبية للمستخلصين المائي والميثانولي والعسل في إختبار ABTS .أما بالنسبة لإختبار FRAP فقد سجل المستخلص الميثانولي أيضا أعلى قيمة للنشاط (12.64±0.87µgTE/mg) مقارنة بالمستخلص المائي (2.47 ± 0.93ugTE/mg) مع تسجيل أدنى معدل بالعسل الخام بقدر (0,57±0.39 µgTE/mg) ،بالاضافة فان إختبار Phenanthroline أظهر نتائج متفاوتة حيث سجل العسل الخام نشاطا تثبيطيا عاليا للعسل الخام (2.57±0.12 µgTE/mg) مقارنة بالمستخلص المائي (2.42±0.16µgTE/mg) والمستخلص الميثانولي وذلك بتسجيل أدنى قيمة (0.68±0,06 µgTE/mg).

كما سجل نشاط مثبط للألفا أميلاز مع أعلى قيمة بالعسل الخام و المقدرة بقيمة (2.37±0.48µg ACAE / mg) يليه المستخلص المائي بقيمة( 2.36 ±0.31 µg ACAE / mg) مع تسجيل أدنى نشاط للمستخلص الميثانولي (1.81±0.17µg ACAE /mg) ).

كما تبين النتائج المحصل عليها بأن المحتوى الكلي للفينولات للمستخلص الميثانولي (51.28±1.08µgGAE/mg) يليه أكبر مقارنة بتلك بالعسل الخام (47.43 ± 2.17µgGAE/mg ) والمستخلص المائي (46.79± 1.08µgGAE/mg وبالمثل فإن المحتوى الكلي للفلافونيدات بالمستخلص الميثانولي (25.25±1.26ugQE/mg) أعلى مقارنة بالكمية المسجلة بالمستخلص المائي (23.46 ±1,63ugQE/mg) والعسل الخام (20.51± 1.8 ugQE/mg) .

كنتيجة : يتضح أن المستخلص الميثانولي قد أبدى نشاطا فعالا مضادا للأكسدة وذلك بإرجاع DPPH و الحديد $Fe^{+3}$ حسب إختبار FRAP وذلك مقارنة بالمستخلص المائي والعسل الخام وقد يعزى ذلك الى إحتواء المستخلص الميثانولي على محتوى كلي كبير من الفينولات والفلافونيدات . و أن العسل الخام يملك نشاطا تثبيطيا عاليا لإنزيم الفا أميلاز.



**الكلمات المفتاحيه**

العسل ، مضادات الأكسدة، نشاط مضاد أكسدة، نشاط إنزيمي ، المحتوى الكلي الفينولي ، المحتوى الكلي للفلافونويدات.

# Abstract

Our research aims to study the antioxidant activity of monofloral Euporbia honey obtained from Ghardaia in the year 2022. Several tests were conducted: DPPH test, ABTS test, FRAP test, phenanthrolin test, and alpha amylase inhibitory activity test, as well as measuring the amount of phenols and flavonoids. The results showed that The methanolic extract produced high DPPH antioxidant activity with a value of (17.10± 1.96 µgTE/mg) compared to pure honey which recorded a value of (9.91 ±1.11 µgTE/mg) and the aqueous extract which revealed the lowest value( 6,13±1,13 µgTE/mg). Negative results were recorded for the aqueous and methanolic extracts and honey in the ABTS test.As for the FRAP test, the methanolic extract also recorded the highest activity value (12.64 ±0.87 µgTE/mg) compared to the aqueous extract (2.47±0.93 µgTE/mg), with the lowest value recorded in pur honey (0.57 ± 0.39 µgTE/mg), in addition The Phenanthroline test showed varying results, as pur honey recorded a high inhibitory activity for pur honey (2.57 ± 0.12 µgTE/mg) compared to the aqueous extract (2.42±0.16 µgTE/mg) and the methanolic extract by recording the lowest value of (0.68±0.06 µgTE/mg).

Alpha-amylase inhibitory activity was recorded with the highest value in pur honey, estimated at (2.37± 0.48 µg ACAE / mg), followed by the aqueous extract with a value (2.36±0.31 µg ACAE / mg), with the lowest activity recorded for methanolic extract (1.81 ±0.17 µg ACAE / mg). The obtained results also show that the total content of phenols for the methanolic extract (51.28 ±1.08 µgGAE/mg) followed by the largest compared to that of pur honey (47.43± 2.17 µgGAE / mg) and the aqueous extract (46.79± 1.08 µgGAE / mg). Similarly, the total content of flavonoids in the extract Methanolic (25.25±1.26 ugQE/mg) was higher compared to the quantity recorded in aqueous extract (23.46 ±1.63 ugQE/mg) and pur honey (20.51±1.8 ugQE/mg).

As a result: It turns out that the methanolic extract showed effective antioxidant activity by returning DPPH and iron $Fe^{+3}$ according to the FRAP test, compared to the aqueous extract and pur honey. This may be due to the methanolic extract containing a large total content of phenols and flavonoids. And that pur honey has a high inhibitory activity of the alpha-amylase enzyme.



## keywords

Honey, antioxidants, antioxidant activity, enzyme activity, total phenol content, total flavonoid content.

# Résumé

Notre recherche vise à étudier l'activité antioxydante de miel d'Euphorbe monofloral obtenu à partir de Ghardaïaen 2022. Plusieurs tests ont été effectués : test DPPH, test ABTS, test FRAP, test de phénanthrolène et test d'activité inhibitrice de l'enzyme alpha amylase ainsi que la mesure de la quantité de phénols et de flavonoïdes.

Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique produisait une forte activité antioxydante du DPPH, qui a été estimée à une valeur de (17,10±1,96 µgTE/mg) par rapport au miel pur qui a enregistré la valeur de (9,91±1,11 µgTE/mg) et l'extrait aqueux qui a révélé la valeur la plus faible (6,13±1,13µgTE/mg). Des résultats négatifs ont été enregistrés pour les extraits aqueux, méthanolique et miel dans le test ABTS, Comme pour le test FRAP, l'extrait méthanolique a également enregistré la valeur d'activité la plus élevée (12,64±0,87 µgTE/mg) par rapport à l'extrait aqueux (2,47±0,93 µgTE/mg), avec la valeur la plus faible enregistrée dans le miel pur (0,57 ± 0,39 µgTE/mg), en plus le test Phénanthroline a montré des résultats variables, avec du miel pur enregistrant une activité inhibitrice élevée (2,57 ±0,12 µgTE/mg) par rapport à l'extrait aqueux (2,42±0,16 µgTE/mg) et l'extrait méthanolique en enregistrant la valeur la plus faible de (0,68± 0,06 µgTE/mg).

L'activité inhibitrice de l'alpha-amylase a également été enregistrée avec la valeur la plus élevée dans le miel pur, estimée à (2,37 ±0,48 µg ACAE/mg), suivi de l'extrait aqueux (2,36± 0,31 µg ACAE/mg) avec l'activité la plus faible enregistrée pour l'extrait méthanolique (1,81 ±0,17 µg ACAE/mg).

Les résultats obtenus montrent également que la teneur totale en phénols pour l'extrait méthanolique (51,28± 1,08 µgGAE/mg) suivie de la plus importante par rapport à celle du miel pur (47,43± 2,17 µgGAE/mg) et de l'extrait aqueux (46,79±1,08 µgGAE/mg). De même, la teneur totale en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique était( 25,25± 1,26 ugQE /mg) supérieur par rapport à la quantité enregistrée dans l'extrait aqueux (23,46± 1,63 ugQE/mg) et le miel pur (20,51 ±1,8 ugQE / mg).

En conséquence : Il s'avère que l'extrait méthanolique a montré une activité antioxydante efficace en restituant du DPPH et du fer $Fe^{+3}$ selon le test FRAP, par rapport à l'extrait aqueux et au miel pur, ce qui peut être attribué à l'extrait méthanolique contenant une quantité totale importante de teneur en phénols et flavonoïdes. Et ce miel pur a une activité inhibitrice élevée de l'enzyme alpha-amylase.



## les mots clés

Miel, antioxydants, activité antioxydante, activité enzymatique, teneur totale en phénols, teneur totale en flavonoïdes.

| من إعداد : بن قولي ذكرى، هرنون شروق، بوقرة رحمة | السنة الدراسية 2022-2023 |
|---|---|

# دراسة التأثير المضاد للأكسدة لعسل اللبينة أحادي الأزهار

**مذكرة التخرج للحصول على شهادة الماستر**


**ملخص**

يهدف بحثنا إلى دراسة النشاط المضاد للأكسدة لعسل اللبينة أحادي الأزهار المحصل عليه من غرداية سنة 2022 .أجريت عدة اختبارات : إختبار DPPH ، إختبار ABTS ، إختبار FRAP، إختبار الفينانثرولين و إختبار النشاط التثبيطي لإنزيم Alpha amylase وكذلك قياس كمية الفينولات و الفلافونويد .أوضحت النتائج أن المستخلص الميثانولي أنتج نشاطا عاليا مضادا لأكسدة DPPH قدر بقيمة (17,10 ±1,96 µgTE/mg) مقارنة بالعسل النقي الذي سجل قيمة (9,91 ±1,11 µgTE/mg) و المستخلص المائي الذي كشف عن أدنى قيمة (6,13 ±1,13µgTE/mg). وقد سجلت نتائج سلبية للمستخلصين المائي والميثانولي والعسل في إختبار ABTS .أما بالنسبة لإختبار FRAP فقد سجل المستخلص الميثانولي أيضا أعلى قيمة للنشاط (12.64±0.87µgTE/mg) مقارنة بالمستخلص المائي (2.47 ± 0.93ugTE/mg) مع تسجيل أدنى معدل بالعسل الخام بقدر (0,57±0.39 µgTE/mg) ،بالاضافة فان إختبار Phenanthroline أظهر نتائج متفاوتة حيث سجل العسل الخام نشاطا تثبيطيا عاليا للعسل الخام (2.57±0.12 µgTE/mg) مقارنة بالمستخلص المائي (2.42±0.16µgTE/mg) والمستخلص الميثانولي وذلك بتسجيل أدنى قيمة (0.68±0,06 µgTE/mg).

كما سجل نشاط مثبط للألفا أميلاز مع أعلى قيمة بالعسل الخام و المقدرة بقيمة (2.37±0.48µg ACAE / mg) يليه المستخلص المائي بقيمة( 2.36 ±0.31 µg ACAE / mg) مع تسجيل أدنى نشاط للمستخلص الميثانولي (1.81±0.17µg ACAE /mg ).

كما تبين النتائج المحصل عليها بأن المحتوى الكلي للفينولات للمستخلص الميثانولي(51.28±1.08 µgGAE/mg) يليه أكبر مقارنة بتلك بالعسل الخام (47.43 ± 2.17µgGAE/mg ) والمستخلص المائي (46.79± 1.08µgGAE/mg)وبالمثل فإن المحتوى الكلي للفلافونيدات بالمستخلص الميثانولي (25.25±1.26ugQE/mg) أعلى مقارنة بالكمية المسجلة بالمستخلص المائي (23.46 ±1,63ugQE/mg) والعسل الخام (20.51± 1.8 ugQE/mg) .

كنتيجة : يتضح أن المستخلص الميثانولي قد أبدى نشاطا فعالا مضادا للأكسدة وذلك بإرجاع DPPH و الحديد $Fe^{+3}$ حسب إختبار FRAP وذلك مقارنة بالمستخلص المائي والعسل الخام وقد يعزى ذلك الى إحتواء المستخلص الميثانولي على محتوى كلي كبير من الفينولات والفلافونيدات . و أن العسل الخام يملك نشاطا تثبيطيا عاليا لإنزيم الفا أميلاز.



**الكلمات المفتاحية**:العسل ، مضادات الأكسدة، نشاط مضاد أكسدة، نشاط إنزيمي ، المحتوى الكلي الفينولي ، المحتوى الكلي للفلافونويدات.



مخبر البحث : المركز البحث في البيوتكنولوجيا مخبر الكيمياء الحيوية و مخبر مراقبة الجودة

**رئيس اللجنة**: الأستاذ مناد أحمد أستاذ التعليم العالي جامعة الإخوة منتوري قسنطينة1 .

**المشرفة**: الأستاذة دكدوك نادية أستاذ محاضر (قسم ب) جامعة شهيد مصطفى بن بولعيد باتنة2 .

**الممتحن**: الأستاذة عتماني مرابط غنية أستاذ محاضر (قسم أ) جامعة صالح بوبنيدر قسنطينة 3.