

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة قاصدي مرباح – ورقلة



رقم الترتيب:.....
رقم التسلسلي:.....

كلية الرياضيات و علوم المادة

قسم الكيمياء

رسالة محاضرة لنيل شهادة

دكتوراه في العلوم

تخصص: كيمياء

من إعداد:

ربيعة عبدالكريم

تحت عنوان:

تقدير المحتوى الفينولي والفعالية المضادة للأكسدة لمنتجات النحل
في الجزائر بالطرق الكهروكيميائية.

نوقشت يوم : 2016/06/02

أمام لجنة المناقشة المكونة من:

| | | | |
|----------------------|-----------------|--------------|-------|
| أ.د/ مختار سعدي | أستاذ | جامعة ورقلة | رئيس |
| أ.د/ التهامي العانز | أستاذ | جامعة الوادي | مقررا |
| أ.د/ محمد رضا وهراني | أستاذ | جامعة الوادي | مناقش |
| أ.د/ بلقاسم لقصير | أستاذ | جامعة عنابة | مناقش |
| د/ محمد حجاج | أستاذ محاضر "أ" | جامعة ورقلة | مناقش |

السنة الجامعية 2016/2015



أهل بيتك

الى والدي الغر بنين حفظهما الله ومرعاهم

الى نزوجتي وبني خير الدين ومرحمة

الى إخوتي وعشيرتي الاقربين

الى أحبائي

كلمة الشكر

إمثالاً لقوله سبحانه وتعالى: { ولقد آتينا لقمان الحكمة أن اشكر لله ومن يشكر فإنما يشكر لنفسه ومن كفر فإن الله غني حميد } (لقمان آية رقم 12) فأشكر الله على ما من به علي من النعم، وأشكره سبحانه على أن وفقني لهذه العمل فالحمد لله على ما كرم وشرف، ثم إن من شكر الله شكر القائمين علينا، فإني أتقدم بجزيل الشكر والتقدير والعرفان إلى أساتذتي الفضلاء وأخص بالذكر الأستاذ المشرف على بحثي الأستاذ العائز التهامي الذي بذل من وقته وتحمل أعباء هذا العمل بالتوجيه والمتابعة و النصح لي فجزاه الله خير الجزاء على ما قام به من جهود مباركة.

كما أقدم شكري وامتناني إلى اساتذتي الكرام و على رأسهم الاستاذ سعيدي مختار على قبوله رئاسة لجنة المناقشة.

و شكري إلى الاستاذ وهراني محمد رضا و الاستاذ لقصير بلقاسم و الاستاذ حجاج محمد على قبولهم مناقشة هذا العمل.

كما لا يفونني في هذا المقام أن أقدم شكري الجزيل أيضا إلى كل الزملاء في جامعتي ورقلة و الوادي اساتذة و عمال، أخص بالذكر الاساتذة بلغار محمد الاخضر و غيلاني جمال و بوقوادة مصطفى و نجيمي محمد السعيد و لعويني صلاح الدين و شويخ عاطف و سويحي بلقاسم و مصباحي محمد عادل و غمام الجيلاني و الاستاذة غيابة زينب و الاستاذة بوبكري شريفة والزملاء في مخبر تميم و تكنولوجيا الموارد الصحروية طليبة علي و ناوي الصادق.

كما أتوجه بالشكر الى مربي النحل الذين ساعدوني في المتابعة الميدانية، أخص بالذكر منهم الصديق العزيز يوسف شويخ.

وفي الأخير لا يسعني إلا أن أشكر كل من ساهم في مساعدتي من قريب أو بعيد فجزاهم الله عنا خير الجزاء.

ربيحي عبد الكريم

الملخص

تهدف هذه الدراسة الى تثمين و ترقية منتجات النحل الجزائرية، و ذلك نظرا لأهمية هاته المنتجات الغذائية و الطبية حيث يعتبر العسل و البروبوليس و حبوب اللقاح من المواد ذات القيمة الغذائية المرتفعة فهي تحوي في تركيبها السكريات و البروتينات و الليبيدات و كذا المواد الفعالة مثل الفينولات و الفلافونويدات. تم في هذه الدراسة الكشف عن الخصائص الفيزيوكيميائية لمنجات النحل، حيث تأكد موافقة أغلب العينات لمعايير الجودة الدولية مثل (CODEX)، تم أيضا إستخلاص و تقدير المحتوى الفينولي و الفلافونويدي للعينات المدروسة حيث تراوح المحتوى الفينولي الكلي للبروبوليس تراوح بين [28.163 -367.39mgGAE/g]، و المحتوى الفينولي في حبوب اللقاح [22.83 -32.00 mgGAE/g]، و في عينات العسل [212.657 - 826.256 mgGAE/kg] و تعتبر هاته النتائج قيم معتبرة و تدل على غنى منتجات النحل الجزائرية بالمركبات الفينولية خاصة مع الكشف عن تراكيز بعض المركبات الفينولية مثل حمض الكافيك الذي بلغ 9.287 mg/g و الكريستين 9.961mg/g و حمض الكلوروجنيك الذي بلغ 0.148 mg/g و غيرها من المركبات التي تم تقديرها.

تم أيضا دراسة السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و مقارنته بالسلوك الكهروكيميائي للمركبات الفينولية، وجد أن هناك ترابط قوي بين السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و بعض المركبات القياسية المدروسة، و ترابط قوي أيضا بين المحتوى الفينولي و الفلافونويدي و كمية مضادات الاكسدة المقدره كهروكيميائيا حيث بلغ الترابط ($R^2=0.939$)، أيضا تم فرز العينات و تصنيفها حسب تشبهها و دراسة أهم العوامل المساهمة في تصنيفها بالطرق الاحصائية التحليلية كطريقة المكون الرئيسي (PCA) و طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC)، حيث وجد أن هناك تشابه كبير بين عينات البروبوليس لمناطق عنابة و تلمسان و سطيف، كما وجد ايضا تشابه كبير في عينات عسل تيبازة و سطيف هذا من حيث خصائص المحتوى الفينولي و الفلافونويدي و المركبات المدروسة.

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الطيفية المتمثلة في إختبار (DPPH) و إختبار القدرة المضادة للأكسدة (MP)، حيث وجدنا أن مستخلصات البروبوليس امتلكت أكبر قيمة للقدرة المضادة للأكسدة في الطريقتين تلتها حبوب اللقاح و العسل، بلغت IC_{50} للبروبوليس 41.18 $\mu\text{g/ml}$ و بلغت القدرة المضادة للأكسدة بإختبار (MP) 129.83 mgGAE /g و هذا لعينة سطيف التي كانت أقوى العينات من حيث القدرة المضادة للأكسدة. تم أيضا تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطريقة الفولتامترية الحلقية، و كانت عينة بروبوليس عنابة الاقوى حيث بلغ (TAC) قيمة 25.961، كما تم حساب مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI) و تم على أساسه الترتيب التالي للعينات و مضادات الاكسدة من الاقوى قدرة الى الاضعف: حمض الغاليك < الكريستين < حمض الاسكوريك < بربوليس عنابة < BHA < α -توكوفيرول < الروتين < حبوب لقاح الوادي < بربوليس تلمسان < بربوليس سطيف < BHT < حبوب لقاح سطيف < حبوب لقاح تيبازة < حبوب لقاح عنابة < بربوليس تيبازة < بربوليس الوادي < عسل الوادي < حبوب لقاح تلمسان < عسل عنابة < عسل سطيف < عسل تيبازة < عسل تلمسان. النتائج دللت على علاقة ترابط كبير بين المؤشر (RACI) و الاختبار الكهروكيميائي (TAC)، مما يدل على أن التقدير الكهروكيميائي لمضادات الاكسدة يمكن أن يغنيانا عن اختبار (DPPH) و إختبار (MP).

الكلمات المفتاحية: عسل جزائري، حبوب لقاح، بربوليس، فولتامتري، مضادات أكسدة، RP-HPLC

Abstract

This study aims to evaluate and upgrade the Algerian bee products, and that given the importance of these circumstances food products and medical where is honey, propolis and pollen of high nutritional value of material they contain sugars, proteins, lipids and as well as the active substances such as phenols and flavonoids. In this study, detection of physicochemical properties of the bees Products, where most of the samples confirm matching with international quality standards such as (CODEX) it was also extraction and estimation of phenol and flavonoid containing for the studied samples where the total phenolic content of propolis ranges between [28.163 - 367.39 mgGAE/g], phenolic content in pollen [22.83 - 32.00 mgGAE/g], and in the honey samples [212.657-826.256 mgGAE/kg], these results are significant and indicate the richness of the Algerian bee products with phenolic compounds especially when detection of certain phenolic compounds concentrations such as caffeic acid which reached to 9.287 mg/g, Quercetin 9.961 mg/g and chlorogenic acid which stood at 0.148 mg / g and other Compounds that have been estimated.

We have also studied the electrochemical behavior of the extracts and compared the electrochemical behavior of phenolic compounds, we found that there is a strong correlation between the electrochemical behavior of the extracts and some standard compounds studied, and also a strong correlation between phenol and flavonoids content and the amount of antioxidants was estimated electrochemically that the determination coefficient reached to ($R^2 = 0.939$), samples also were sorted and categorized according to their similarity and the identification of the most important factors which contribute on its classification by statistical analytical methods such as Principal component analysis (PCA), Analysis Hierarchical Cluster (AHC). It was found that there is a great similarity between propolis samples to areas of Tlemcen, Annaba and Setif, also found great similarities in honey samples to Tipaza and Setif this in terms of the phenolic and flavonoids content characteristics and the studied compounds.

The antioxidant activity was estimated using spectral methods as (DPPH) test and antioxidant capacity testing (MP), where we found that the propolis extracts has greater value to the ability of antioxidants in the both methods followed by pollen and honey, the propolis IC50 reached 41.18 $\mu\text{g} / \text{ml}$, while antioxidant capacity test (MP) has reached 129.83 mgGAE/g this is for Setif sample which was stronger in terms of antioxidant capacity. It was also estimate the activity antioxidant using cyclic voltammetry method and was a sample of Annaba propolis strongest reaching (TAC) value 25.961, has also been counter-activity indicator of the relative antioxidant capacity index (RACI) And it was on the basis of the following order of samples and antioxidants from the strongest to the weakest ability : Gallic acid > Quercetin > Ascorbic acid > Annaba propolis > BHA > α -tocopherol > Rutin > Eloued pollen > Tlemcen propolis > Setif propolis > BHT > Setif pollen > Tipaza pollen > Annaba pollen > Tipaza propolis > Eloued propolis > Eloued Honey > Tlemcen pollen > Annaba honey > Setif honey > Tipaza honey > Tlemcen honey. The results showed a high correlation between index (RACI) and electrochemical method (TAC), which indicates that the appreciation of the electrochemical antioxidants can obviate (DPPH) test and (MP) test.

Key words: Algerian honey, pollen, propolis, Voltammetry, antioxidants, RP-HPLC

موز نصارات

| الانجليزية | العربية | الرمز |
|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|---------------------|
| Ascorbic acid | حمض الأسكوربيك | AA |
| 2,2'-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride | | AAPH |
| 2,2 azinobis-(3-ethylbenzothialozine-6-sulphonic acid) | | ABTS |
| | كمية مضادات الاكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك بـ (SWV) | AOAE _{SWV} |
| | كمية مضادات الاكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك بـ (DPV) | AOAE _{DPV} |
| | كمية مضادات الاكسدة المكافئة للكريستين بـ (SWV) | AOCE _{SWV} |
| | كمية مضادات الاكسدة المكافئة للكريستين بـ (DPV) | AOCE _{DPV} |
| | كمية مضادات الاكسدة المكافئة للروتين بـ (SWV) | AORE _{SWV} |
| | كمية مضادات الاكسدة المكافئة للروتين بـ (DPV) | AORE _{DPV} |
| Anti-Radicalaire Puissance | | ARP |
| Buthyl Hydroxy Hnizole | | BHA |
| Buthyl hydroxy toluéne | | BHT |
| Caffeic acid | حمض الكافيك | CAA |
| Catechin | الكاتشين | CAT |
| Chlorogenic acid | حمض الكلورجنيك | CLA |
| p-Coumaric acid | حمض ب-كوماريك | COA |
| Quercetin | الكريستين | CR |
| Cyclic voltammetry | الفولتامترى الحلقي | CV |
| 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl | | DPPH |
| Differential pulse voltammetry | فولتامترى النبضي التفاضلي | DPV |
| N,N-diméthyleformamide | ثنائي ميثيل فورماميد. | DMF |
| Dimethyl Sulfoxide | | DMSO |
| Electrical conductivity | الناقلية الكهربائية | EC |
| Saturated calomel electrode | إلكترود الكالومال المشبع | ECS |
| Oxidation peak potential | كمون التنوء المصعدي. | E _{pa} |
| Reduction peak potential | كمون التنوء المهبطي. | E _{pc} |
| | كمون نصف التنوء المصعدي. | E _{pa/2} |
| | كمون نصف التنوء المهبطي. | E _{pc/2} |
| | التغير في الكمونات بين ipc و ipa. | ΔE _p |
| Ferric Reducing Antioxydant Power | | FRAP |
| Gallic Acid | حمض الغاليك. | GA |

| | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|------------------|
| The concentration (mg/l) of the extract that inhibited the formation of radical by 50% | تركيز المستخلص الفينولي لتثبيط 50% من الجذور الحرة. | IC ₅₀ |
| Anodic current | تيار التواء المصعدي. | ipa |
| Cathodic current | تيار التواء المهبطي. | ipc |
| Residual current in the absence of oxygen | التيار المتبقي في غياب الأوكسجين | |
| | تيار الأوكسدة لجذر الأوكسجين الحر في غياب مضاد الأوكسدة | |
| | تيار الأوكسدة لجذر الأوكسجين الحر في وجود مضاد الأوكسدة | |
| The percentage of inhibition | النسبة المئوية للتثبيط | I% |
| Low Molecular Weight Antioxidants | مضادات الاكسدة منخفضة الوزن الجزيئي | LMWA |
| Acetonitrile | أسيتونتريل | MeCN |
| Phosphomolybdenum | فوسفات الموليبدات | MP |
| Oxygen Radical Absorbance Capacity | قدرة امتصاص جذر الاكسجين | ORAC |
| Reducing Power. | القدرة الارجاعية | PR |
| Relative antioxidant capacity index | مؤشر النشاط المضاد للأوكسدة النسبي | RACI |
| Rutin Equivalents | الروتين مكافئ | RE |
| Reactive Oxygen Species | الانواع الاكسجينية النشطة | ROS |
| Reactive Nitrogen Species | الانواع النتروجينية النشطة | RNS |
| Reactivity of superoxide anion radical | | RSAR |
| Rutin | الروتين | RU |
| Squarewave voltammetry | فولتامترية الموجة المربعة | SWV |
| α - Tocopherol | α-توكوفيرول | T |
| Total Antioxydant Capacity by electrochemical test | إجمالي القدرة المضادة للأوكسدة بالاختبار الكهروكيميائي | TAC |
| Trichloroacetic acid | حمض ثلاثي كلورو أسيتيك. | TCA |
| Thiobarbituric acid reactive substance | | TBARS |
| Total phenolic content | المحتوى الكلي للفينولات | TPC |
| Total flavonoid content | المحتوى الكلي للفلافونويدات | TFC |
| Total flavonol content | المحتوى الكلي للفلافونولات | TFNC |
| Total Radical-trapping Antioxidant Parameter | | TRAP |
| Vanilin | الفانيلين | VAN |

المحتويات

| الصفحة | الشكل |
|---------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | الإهداء |
| 5 | شكر و عرفان |
| | الملخص |
| | الرموز |
| | فهرس المحتويات |
| | قائمة الجداول |
| | قائمة الأشكال |
| | مقدمة عامة |
| | المراجع |
| الباب الأول: الخواص الفيزوكيميائية لمنتجات النحل | |
| الفصل الأول: عموميات حول منتجات النحل | |
| 7 | 1.1. البروبوليس |
| 7 | 1.1.1. تعريف |
| 7 | 2.1.1. تاريخ إستعمال البروبوليس |
| 8 | 3.1.1. جني البروبوليس |
| 10 | 4.1.1. التخزين |
| 10 | 5.1.1. الخواص الفيزيائية (الظاهرية) |
| 11 | 6.1.1. المكونات الأساسية للبروبوليس |
| 11 | 7.1.1. دور البروبوليس في خلية النحل |
| 12 | 8.1.1. الأهمية الطبية للبروبوليس |
| 14 | 2.1. حبوب اللقاح |
| 14 | 1.2.1. تعريف حبوب اللقاح |
| 15 | 2.2.1. تاريخ إستعمال حبوب اللقاح |
| 15 | 3.2.1. جني حبوب اللقاح |
| 16 | 4.2.1. الخواص الفيزيائية (الظاهرية) |
| 17 | 5.2.1. المكونات الأساسية لحبوب اللقاح |
| 18 | 6.2.1. دور حبوب اللقاح في خلية النحل |
| 18 | 7.2.1. الأهمية الطبية لحبوب اللقاح |
| 19 | 3.1. عسل النحل |
| 19 | 1.3.1. تعريف عسل النحل |

| | |
|----|----------------------------------------|
| 19 | 2.3.I. تاريخ استعمال العسل |
| 21 | 3.3.I. إنتاج العسل |
| 23 | 4.3.I. تخزين العسل |
| 24 | 5.3.I. الخواص الفيزيائية (الظاهرية) |
| 25 | 6.3.I. المكونات الأساسية للعسل |
| 25 | 7.3.I. صور عسل النحل |
| 25 | 8.3.I. أنواع العسل |
| 25 | 1.8.3.I. حسب مكان النباتات ومسكن النحل |
| 26 | 2.8.3.I. حسب المصدر النباتي |
| 26 | 9.3.I. الأهمية الطبية للعسل |

الفصل الثاني: المواد وطرق العمل

| | |
|----|-------------------------------------------------|
| 28 | 1.II. المواد الكيميائية |
| 28 | 2.II. الأجهزة |
| 28 | 3.II. العينات |
| 29 | 4.II. خصائص المناطق التي أخذت العينات منها |
| 29 | 1.4.II. الجغرافية |
| 30 | 2.4.II. المناخ |
| 30 | 3.4.II. الغطاء النباتي |
| 32 | 5.II. التقييم الحسي لمنتجات النحل |
| 32 | 6.II. الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للعينات |
| 32 | 1.6.II. تقدير الكثافة |
| 32 | 2.6.II. تقدير الرطوبة |
| 33 | 3.6.II. تقدير الشدة اللونية |
| 33 | 4.6.II. قياس الأس الهيدروجيني (pH) |
| 33 | 5.6.II. تقدير التوصيل الكهربائي (EC) |
| 34 | 6.6.II. تقدير الاحماض الكلية |
| 34 | 7.6.II. تقدير كمية المواد الغير ذائبة |
| 34 | 8.6.II. تقدير السكريات |
| 35 | 1.8.6.II. تمثيل المنحنيات القياسية |
| 36 | 2.8.6.II. تقدير السكريات في العسل و حبوب اللقاح |
| 37 | 9.6.II. تقدير كمية البروتينات |
| 38 | 10.6.II. تقدير كمية الليبيدات |
| 38 | 7.II. التحليل الاحصائي |

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة

| | |
|----|-------------------------------------------------|
| 39 | 1.III. التقييم الحسي لمنتجات النحل |
| 41 | 2.III. الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للعينات |
| 41 | 1.2.III. تقدير الكثافة |
| 43 | 2.2.III. تقدير الرطوبة |
| 44 | 3.2.III. تقدير الشدة اللونية |
| 45 | 4.2.III. قياس الأس الهيدروجيني (pH) |
| 47 | 5.2.III. تقدير التوصيل الكهربائي (EC) |
| 47 | 6.2.III. تقدير الاحماض الكلية |
| 49 | 7.2.III. تقدير كمية المواد الغير ذائبة |
| 51 | 8.2.III. تقدير السكريات |
| 54 | 9.2.III. تقدير كمية البروتينات |
| 56 | 10.2.III. تقدير كمية الليبيدات |
| 57 | 11.2.III. تحليل إحصائي |
| 57 | 1.11.2.III. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA) |
| 61 | 2.11.2.III. طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC) |
| 64 | المراجع |

الباب الثاني: دراسة للمركبات المضادة للأكسدة في منتجات النحل

الفصل الرابع: الاجهاد التأكسدي و مضادات الاكسدة

| | |
|----|------------------------------------------------------------------|
| 71 | 1.IV. الإجهاد التأكسدي |
| 71 | 1.1.IV. المؤكسدات |
| 71 | 1.1.1.IV. أهم أنواع الأكسجين النشطة |
| 72 | 1.1.1.1.IV. جذر فوق أكسيد (O_2^-) (Superoxide anion) |
| 72 | 2.1.1.1.IV. الأكسجين الأحادي (1O_2) (Singlet oxygen) |
| 72 | 3.1.1.1.IV. بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) (Hydrogen peroxide) |
| 73 | 4.1.1.1.IV. جذر الهيدروكسيل ($OH\cdot$) (Hydroxyl radical) |
| 73 | 5.1.1.1.IV. جذر أكسيد النترريك ($NO\cdot$) (Nitric oxide) |
| 74 | 6.1.1.1.IV. كلوريد الهيدروكسيل ($HOCl$) (Chlorid hydroxyl) |

| | |
|----|-------------------------------------------------------|
| 74 | 2.1.1.IV مصادر أنواع الأكسجين النشطة |
| 75 | 1.2.1.1.IV الأغشية الميتكوندرية |
| 75 | 2.2.1.1.IV إنزيم (NADPH oxidase) |
| 76 | 3.2.1.1.IV إنزيم Xanthine oxidoreductase (XOR) |
| 76 | 2.1.IV تأثير الإجهاد التأكسدي على الجزيئات الداخلية |
| 76 | 1.2.1.IV فوق أكسدة الليبيدات |
| 77 | 2.2.1.IV أكسدة البروتينات |
| 77 | 3.2.1.IV أكسدة الدنا (DNA) |
| 77 | 3.1.IV الإجهاد التأكسدي و علاقته بالأمراض |
| 77 | 4.1.IV الإجهاد التأكسدي و علاقته بالشيخوخة |
| 78 | 2.IV مضادات الأكسدة |
| 78 | 1.2.IV آلية عمل مضادات الأكسدة |
| 80 | 2.2.IV مضادات الأكسدة الإنزيمية |
| 81 | 3.2.IV مضادات الأكسدة غير الإنزيمية |
| 81 | 1.3.2.IV عديدات الفينول |
| 81 | 1.1.3.2.IV تعريف |
| 82 | 2.1.3.2.IV أقسامها |
| 83 | 2.3.2.IV الاحماض الفينولية |
| 83 | 1.2.3.2.IV الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك |
| 84 | 2.2.3.2.IV الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك |
| 85 | 3.3.2.IV الكومارينات |
| 85 | 4.3.2.IV التانينات |
| 85 | 1.4.3.2.IV تعريف |
| 86 | 2.4.3.2.IV التانينات المتحللة |
| 86 | 3.4.3.2.IV التانينات المتراكمة |
| 86 | 4.4.3.2.IV التانينات في منتجات النحل |
| 87 | 5.3.2.IV الفلافونويدات |
| 87 | 1.5.3.2.IV تعريف |
| 88 | 2.5.3.2.IV تصنيف الفلافونويدات |

| | |
|----|--------------------------------------------|
| 89 | 3.5.3.2.IV. بعض المركبات المكتشفة حديثا |
| 91 | 3.5.3.2.IV. النشاطية الحيوية للفلافونويدات |

الفصل الخامس: المواد وطرق العمل

| | |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 93 | 1.V. المواد الكيميائية |
| 93 | 2.V. الاجهزة |
| 94 | 3.V. العينات |
| 94 | 1.3.V. تحضير المستخلصات |
| 96 | 2.3.V. تقدير المحتوى الفينولي و المواد الفعالة |
| 96 | 1.2.3.V. تقدير كمية الفينولات |
| 97 | 2.2.3.V. تقدير كمية الفلافونويدات |
| 98 | 3.2.3.V. تقدير كمية الفلافونولات |
| 99 | 3.3.V. تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) |
| 100 | 4.V. دراسة السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و المركبات الفينولية |
| 100 | 1.4.V. الالكتروليت المساعد |
| 101 | 2.4.V. رسم المنحنيات الفولتامترية لبعض المركبات القياسية و العينات |
| 103 | 5.V. التحليل الاحصائي |

الفصل السادس: النتائج والمناقشة

| | |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 104 | 1.VI. استخلاص المركبات الفعالة |
| 105 | 2.VI. تقدير المحتوى الفينولي و المواد الفعالة |
| 109 | 3.VI. تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) |
| 114 | 4.VI. السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و المركبات الفينولية |
| 114 | 1.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للأحماض الفينولية أحادية الفينول |
| 115 | 2.4.VI. السلوك الكهروكيميائي لحمض الكافيك |
| 116 | 3.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للفلافونويدات |
| 116 | 1.3.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للروتين |

| | |
|-----|----------------------------------------------|
| 117 | 2.3.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للكريستين |
| 118 | 4.4.VI. السلوك الكهروكيميائي لحمض الاسكوربيك |
| 120 | 5.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للعينات |
| 125 | 5.VI. تحليل إحصائي |
| 125 | 1.5.VI. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA) |
| 130 | 2.5.VI. طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC) |
| 133 | المراجع |

الباب الثالث: دراسة طرق تقدير النشاط المضاد للأكسدة لمنتجات النحل

الفصل السابع: طرق تقدير النشاط المضاد للأكسدة

| | |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------|
| 140 | 1.VII. الطرق الطيفية لتقدير مضادات الأكسدة |
| 140 | 1.1.VII. إختبارات الفعالية المضادة للأكسدة المعبر عنها بالترولكس المكافئ (TEAC) |
| 141 | 2.1.VII. إختبارات DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl) |
| 141 | 3.1.VII. إختبارات أورك (ORAC) (Oxygen radical absorbance capacity) |
| 142 | 2.VII. الطرق الكهروكيميائية لتقدير مضادات الأكسدة |
| 143 | 1.2.VII. العوامل التي ساهمت في ظهور التقنية الكهروكيميائية |
| 143 | 2.2.VII. سلبيات و نقائص الطرق الطيفية |
| 144 | 3.2.VII. مزايا الطرق الكهروكيميائية التحليلية |
| 145 | 4.2.VII. المواد التي يمكن دراستها كهر وكيميائيا: |
| 145 | 5.2.VII. إختبارات RSAR (Reactivity of superoxide anion radical) |
| 145 | 6.2.VII. الطرق التي تعتمد على إنتاج الجذور الحرة (O_2^-) |
| 146 | 7.2.VII. آلية إنتاج جذر الاوكسجين O_2^- |
| 146 | 1.7.2.VII. إنتاج الجذر الحر (O_2^-) بالطريقة الفولتامترية |
| 146 | 2.7.2.VII. إنتاج الجذر الحر (O_2^-) بالطريقة الكيميائية |

الفصل الثامن: المواد و طرق العمل

| | |
|-----|---------------------------|
| 147 | 1.VIII. المواد الكيميائية |
|-----|---------------------------|

| | |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| 147 | 2.VIII. العينات |
| 147 | 3.VIII. الأجهزة المستخدمة |
| 148 | 4.VIII. إختبار DPPH |
| 149 | 5.VIII. إختبار موليبدات الفوسفات MP |
| 150 | 6.VIII. الإختبار الكهروكيميائي للقدرة المضادة للأكسدة |
| 150 | 1.6.VIII. تحضير مسرى العمل |
| 150 | 2.6.VIII. الالكتروليت المساعد |
| 150 | 3.6.VIII. السلوك الكهروكيميائي للنظام (O_2/O_2^-) في وسط عضوي |
| 151 | 1.3.6.VIII. دراسة تأثير بعض العوامل على النظام (O_2/O_2^-) |
| 151 | 2.3.6.VIII. دراسة تأثير بعض مضادات الاكسدة على النظام (O_2/O_2^-) |
| 151 | 3.3.6.VIII. دراسة تأثير العينات المدروسة على النظام (O_2/O_2^-) |
| الفصل التاسع: النتائج والمناقشة | |
| 152 | 1.IX. إختبار DPPH |
| 154 | 2.IX. إختبار موليبدات الفوسفات |
| 154 | 3.IX. الإختبار الكهروكيميائي للقدرة المضادة للأكسدة |
| 155 | 1.3.IX. دراسة تأثير بعض العوامل على النظام (O_2/O_2^-) |
| 155 | 1.1.3.IX. تأثير درجة الحرارة |
| 157 | 2.1.3.IX. تأثير الهواء |
| 159 | 3.1.3.IX. تأثير الالكتروليت المساعد |
| 160 | 4.1.3.IX. تأثير المذيب |
| 160 | 5.1.3.IX. تأثير سرعة المسح |
| 161 | 6.1.3.IX. أستقرارية النظام (O_2/O_2^-) |
| 161 | 7.1.3.IX. تأثير السكريات على النظام (O_2/O_2^-) |
| 162 | 8.1.3.IX. تأثير الميثانول على النظام (O_2/O_2^-) |
| 163 | 2.3.IX. النظام (O_2/O_2^-) في وجود المركبات الفينولية |
| 165 | 3.3.IX. مضادات الاكسدة الشائعة صناعيا |
| 166 | 4.3.IX. المنحنيات الفولتامترية لعينات البروبوليس |
| 168 | 5.3.IX. المنحنيات الفولتامترية لعينات حبوب اللقاح |

| | |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 170 | 6.3.IX. المنحنيات الفولتامترية لعينات العسل |
| 172 | 7.3.IX. طريقة حساب اجمالي قدرة مضادة للأكسدة من خلال المنحنيات الفولتامترية الحلقية |
| 174 | 1.7.3.IX. القدرة المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية |
| 175 | 2.7.3.IX. القدرة المضادة للأكسدة للعينات |
| 178 | 4.IX. مقارنة القدرة المضادة للأكسدة للمركبات القياسية و العينات المدروسة |
| 179 | 1.4.IX. حساب مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI) |
| 183 | 2.4.IX. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA) |
| 185 | المراجع |
| 190 | الخاتمة العامة |
| | ملحق |

..

قائمة الجداول

| الصفحة | الجدول |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| الباب الاول | |
| الفصل الثاني | |
| 29 | العينات المدروسة و تاريخ جنيها 1.II الجدول |
| 29 | أهم خصائص المناطق التي اخذت منها العينات 2.II الجدول |
| 35 | الشروط المطبقة في جهاز (HPLC) لفصل السكريات المدروسة 3.II الجدول |
| 35 | زمن استبقاء السكريات المدروسة 4.II الجدول |
| الفصل الثالث | |
| 53 | نسبة السكريات الاحادية و الثنائية في عينات العسل 1.III الجدول |
| 53 | نسبة السكريات الاحادية و الثنائية في عينات حبوب اللقاح 2.III الجدول |
| 58 | مصفوفة العلاقة الثنائية بين الخصائص الفيزيوكيميائية للعسل 3.III الجدول |
| 60 | مصفوفة العلاقة الثنائية بين الخصائص الفيزيوكيميائية لحبوب اللقاح 4.III الجدول |
| الباب الثاني | |
| الفصل الرابع | |
| 84 | بعض أحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك و المتواجدة في منتجات النحل 1.IV الجدول |
| 84 | بعض أحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك و المتواجدة في منتجات النحل 2.IV الجدول |
| 85 | بعض الكومارينات المتواجدة في منتجات النحل 3.IV الجدول |
| 88 | بعض الفلافونويدات الواسعة الانتشار في المملكة النباتية و منتجات النحل 4.IV الجدول |
| 89 | بعض الفلافونويدات المختصة بمنتجات النحل 5.IV الجدول |
| 90 | بعض الفلافونويدات المكتشفة حديثا بمنتجات النحل 6.IV الجدول |
| الفصل الخامس | |
| 99 | الشروط التجريبية لجهاز (HPLC) لفصل المركبات الفينولية المدروسة 1.V الجدول |
| 100 | تغيرات نسبة الطور المتحرك بدلالة الزمن 2.V الجدول |
| الفصل السادس | |
| 107 | المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات في مستخلصات البروبوليس و حبوب اللقاح 1.VI الجدول |
| 109 | المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات في عينات العسل 2.VI الجدول |

| | | |
|-----|------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 110 | ملخص لزمن ظهور النتوء الكروماتوغرافي للمركبات القياسية | الجدول 3.VI |
| 111 | كمية المركبات الفينولية في مستخلصات البروبوليس وحبوب اللقاح | الجدول 4.VI |
| 113 | كمية المركبات الفينولية في عينات العسل | الجدول 5.VI |
| 122 | العوامل الكهروكيميائية للعينات المدروسة | الجدول 6.VI |
| 124 | كمية مضادات الاكسدة في مستخلصات البروبوليس وحبوب اللقاح بالطرق الفولتامترية | الجدول 7.VI |
| 125 | مصفوفة العلاقة الثنائية بين محتوى الفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات | الجدول 8.VI |
| 126 | مصفوفة العلاقة الثنائية بين محتوى المركبات الفينولية المقدره بـ(HPLC) | الجدول 9.VI |
| 128 | مصفوفة العلاقة الثنائية بين كميات مضادات الاكسدة المقدره بالطرق الفولتامترية | الجدول 10.VI |

الباب الثالث

الفصل التاسع

| | | |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 153 | نتائج اختبار (DPPH) و اختبار الموليبيدات (MP) للعينات | الجدول 1.IX |
| 156 | تأثير درجة الحرارة على بعض العوامل الكهروكيميائية المستخلصة من النظام (O_2/O_2^-) | الجدول 2.IX |
| 158 | مقارنة للعوامل الكهروكيميائية للنظامين المفتوح و المغلق | الجدول 3.IX |
| 159 | تأثير الالكتروليت المساعد على العوامل الكهروكيميائية للنظام (O_2/O_2^-) | الجدول 4.IX |
| 160 | تأثير نوع المذيب على كمونات الاكسدة و الارجاع للنظام (O_2/O_2^-) | الجدول 5.IX |
| 180 | بيانات حساب مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI) لبعض مضادات الاكسدة و منتجات النحل | الجدول 6.IX |
| 184 | مصفوفة العلاقة الثنائية بين الاختبارات المضادة للأكسدة و المحتوى الفينولي | الجدول 7.IX |

قائمة الأشكال

| الصفحة | الشكل |
|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| الباب الاول | |
| الفصل الأول | |
| 9 | الشكل 1.I عملية جني المواد الصمغية من براعم الأشجار |
| 9 | الشكل 2.I بروبوليس تم جنيه من طرف الانسان |
| 12 | الشكل 3.I صورة لاستخدامات البروبوليس في تقوية أماكن ترابط الأقراص |
| 16 | الشكل 4.I عملية جني حبوب اللقاح |
| 16 | الشكل 5.I حبوب لقاح تم جنيها من طرف الانسان |
| 20 | الشكل 6.I جداريات فرعونية قديمة عن إستعمال عسل النحل تعود الى 3000 سنة ق.م |
| 22 | الشكل 7.I يوضح نحلة تمتص الرحيق من زهرة الخزام |
| 23 | الشكل 8.I أطر العسل المختوم |
| 26 | الشكل 9.I نحلة تجمع عسل الندوة |
| الفصل الثاني | |
| 30 | الشكل 1. II خريطة الأقاليم المناخية للمناطق التي أخذت منها العينات |
| 31 | الشكل 2. II خريطة الغطاء النباتي للمناطق التي أخذت منها العينات |
| 31 | الشكل 3. II صور عينات البروبوليس |
| 31 | الشكل 4. II صور عينات حبوب اللقاح |
| 32 | الشكل 5. II صور عينات العسل |
| 36 | الشكل 6. II الكروماتوغرام الممثل للسكريات المدروسة |
| 38 | الشكل 7. II المنحنى القياسي للألبومين |
| الفصل الثالث | |
| 39 | الشكل 1.III التقييم الحسي للبروبوليس |
| 40 | الشكل 2.III التقييم الحسي لحبوب اللقاح |
| 40 | الشكل 3.III التقييم الحسي للعسل |
| 42 | الشكل 4.III التمثيل البياني لكثافة العسل |
| 43 | الشكل 5.III التمثيل البياني لكثافة حبوب اللقاح |
| 43 | الشكل 6.III التمثيل البياني لنسبة المحتوى المائي لعينات العسل |
| 44 | الشكل 7.III التمثيل البياني لنسبة المحتوى المائي لعينات حبوب اللقاح |
| 45 | الشكل 8.III التمثيل البياني لقيم الشدة اللونية على سلم Pfund واللون الموافق لعينات العسل |
| 46 | الشكل 9.III التمثيل البياني للأس الهيدروجيني للعسل |

| | | |
|----|-----------------------------------------------------------|--------------|
| 46 | التمثيل البياني للأس الهيدروجيني لحبوب اللقاح | الشكل 10.III |
| 47 | التمثيل البياني للناقلية الكهربائية للعسل | شكل 11.III |
| 48 | التمثيل البياني لكمية الاحماض الكلية في العسل | شكل 12.III |
| 49 | التمثيل البياني لكمية الاحماض الكلية في عينات حبوب اللقاح | شكل 13.III |
| 50 | التمثيل البياني لنسبة المواد غير الذائبة للعسل | شكل 14.III |
| 51 | التمثيل البياني لنسبة المواد غير الذائبة في حبوب اللقاح | شكل 15.III |
| 52 | التمثيل البياني لنسبة السكريات الكلية في العسل | شكل 16.III |
| 54 | التمثيل البياني لكمية البروتينات في البروبوليس | شكل 17.III |
| 55 | التمثيل البياني لكمية البروتينات في عينات حبوب اللقاح | شكل 18.III |
| 55 | التمثيل البياني لكمية البروتينات في العسل | شكل 19.III |
| 56 | التمثيل البياني لكمية الليبيدات في البروبوليس | شكل 20.III |
| 57 | التمثيل البياني لكمية الليبيدات في حبوب اللقاح | شكل 21.III |
| 59 | منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) لعينات العسل | شكل 22.III |
| 61 | منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) لعينات حبوب اللقاح | شكل 23.III |
| 62 | التمثيل العنقودي لعينات العسل | شكل 24.III |
| 63 | التمثيل العنقودي لعينات حبوب اللقاح | شكل 25.III |

الباب الثاني

الفصل الرابع

| | | |
|----|-------------------------------------------------|------------|
| 71 | نشوء أنواع الاكسجين النشطة | الشكل 1.IV |
| 74 | الأضرار التي تسببها زياد جذر البيروكسي نترت | الشكل 2.IV |
| 83 | مخطط لتصنيف عديد الفينول | الشكل 3.IV |
| 87 | التانينات المتحللة. | الشكل 4.IV |
| 88 | الهيكل الأساسي للفلافونويدات | الشكل 5.IV |
| 91 | آلية ألتقاط الجذور الحرة عند الفلافونويدات | الشكل 6.IV |
| 92 | مواقع التقاط الايونات المعدنية في الفلافونويدات | الشكل 7.IV |

الفصل الخامس

| | | |
|----|-------------------------------------------------|-----------|
| 95 | مخطط لإستخلاص المركبات الفعالة من منتجات النحل. | الشكل 1.V |
| 97 | المنحنى القياسي لحمض الغاليك | الشكل 2.V |
| 98 | المنحنى القياسي للروتين | الشكل 3.V |

| | | |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 99 | المنحنى القياسي للكريستين | الشكل 4.V |
| 101 | المنحنيات الفولتامترية الحلقي و الموجة المربعة و النبض التفاضلي لوسط الدراسة موقى (pH=4)، مجال المسح [1500-200-]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s ⁻¹ ، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 5.V |
| 102 | الشكل 5.V. المنحنى القياسي لحمض الاسكوريك و المستخلص بطريقة فولتامتري الموجة المربعة (SWV) | الشكل 6.V |
| 102 | المنحنى القياسي لحمض الاسكوريك و المستخلص بطريقة فولتامتري النبض التفاضلي (DPV) | الشكل 7.V |
| 102 | المنحنى القياسي للرتين و المستخلص بطريقة فولتامتري الموجة المربعة (SWV) | الشكل 8.V |
| 102 | الشكل 8.V. المنحنى القياسي للرتين و المستخلص بطريقة فولتامتري النبض التفاضلي (DPV) | الشكل 9.V |
| 103 | المنحنى القياسي للكريستين و المستخلص بطريقة فولتامتري الموجة المربعة (SWV) | الشكل 10.V |
| 103 | المنحنى القياسي للكريستين و المستخلص بطريقة فولتامتري النبض التفاضلي (DPV) | الشكل 11.V |

الفصل السادس

| | | |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 105 | التمثيل البياني لمردود الاستخلاص للنظام ميثانول/ماء | الشكل 1.VI |
| 109 | المنحنى الكروماتوغرافي للمركبات الفينولية القياسية [الشواهد] | الشكل 2.VI |
| 110 | المنحنى الكروماتوغرافي لعينة البروبوليس PR4 | الشكل 3.VI |
| 114 | آلية تأكسد الفينول الاحادي | الشكل 4.VI |
| 115 | المنحنى الفولتامتري الحلقي لحمض الغاليك في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1000-0]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s ⁻¹ ، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 5.VI |
| 116 | المنحنى الفولتامتري لحمض الكافيك في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1400-200-]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s ⁻¹ ، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 6.VI |
| 116 | المنحنى الفولتامتري لحمض الكافيك في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [800-200-]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s ⁻¹ ، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 7.VI |
| 117 | المنحنى الفولتامتري للرتين في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1500-0]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s ⁻¹ ، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 8.VI |
| 117 | المنحنى الفولتامتري للرتين في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [600-200]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s ⁻¹ ، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 9.VI |
| 118 | المنحنى الفولتامتري الحلقي للكريستين في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1500-0]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s ⁻¹ ، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 10.VI |
| 118 | المنحنى الفولتامتري الحلقي لكريستين في وسط موقى (pH=4)، مجال | الشكل 11.VI |

| | | |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| | المسح [100-500]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C . | |
| 119 | المنحنى الفولتامترى الحلقي لحمض الاسكوريك في وسط موقى (pH=4)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C . | الشكل 12.VI |
| 120 | المنحنيات الفولتامترية الحلقية لعينات البروبوليس في وسط موقى (pH=4)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C . | الشكل 13.VI |
| 121 | المنحنيات الفولتامترية الحلقية لعينات حبوب اللقاح في وسط موقى (pH=4)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C . | الشكل 14.VI |
| 123 | التمثيل العنقودي للعينات و المركبات المدروسة وفق العوامل الكهروكيميائية. | الشكل 15.VI |
| 126 | منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة حسب المحتوى الفينولي. | الشكل 16.VI |
| 128 | منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة حسب محتوى المركبات الفينولية المقدر بـ (HPLC) | الشكل 17.VI |
| 129 | منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة حسب محتوى مضادات الاكسدة المقدر بالطرق الفولتامترية. | الشكل 18.VI |
| 130 | لتمثيل العنقودي للعينات المدروسة وفق المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات. | الشكل 19.VI |
| 131 | التمثيل العنقودي للعينات المدروسة وفق محتوى المركبات الفينولية المقدر بـ (HPLC) | الشكل 20.VI |
| 132 | التمثيل العنقودي للعينات المدروسة وفق كمية المواد المضادة للأكسدة المقدر بالطرق الفولتامترية | الشكل 21.VI |

الباب الثالث

الفصل السابع

| | | |
|-----|------------------------------------------------------|-------------|
| 140 | تطور عدد الأبحاث المهمة بتقدير النشاط المضاد للأكسدة | الشكل 1.VII |
|-----|------------------------------------------------------|-------------|

الفصل الثامن

| | | |
|-----|------------------------------------------------|--------------|
| 148 | التركيب التجريبي لجهاز (Voltalab 80) و ملحقاته | الشكل 1.VIII |
| 150 | المنحنى القياسي لحمض الغاليك | الشكل 2.VIII |

الفصل التاسع

| | | |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 152 | منحنيات تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تراكيز مستخلصات العينات المدروسة | الشكل 1.IX |
| 154 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C . | الشكل 2.IX |

| | | |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| 155 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) بعد تشبييع المحلول بالازوت، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 3.IX |
| 156 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجات الحرارة $25-15^\circ C$. | الشكل 4.IX |
| 157 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 5.IX |
| 158 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 6.IX |
| 159 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي تراكيز مختلفة من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 7.IX |
| 159 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) و الكتروليتين مساعدين مختلفين، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 8.IX |
| 160 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF)، الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $25 \rightarrow 300\text{ mV.s}^{-1}$ ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 9.IX |
| 160 | منحنى العلاقة بين سرعة المسح و قيم التيار المصعدي و المهبطي للنظام (O_2/O_2^-) | الشكل 10.IX |
| 161 | المنحنى الفولتامترى الحلقي لخمس حلقات متتالية للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 11.IX |
| 162 | المنحنى فولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في وجود الميثانول، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 12.IX |
| 163 | المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في وجود اضافات ($0.1 \rightarrow 1ml$) من حمض الغاليك، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 13.IX |
| 164 | المنحنيات الفولتامترية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود المركبات الفيولية، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$. | الشكل 14.IX |
| 165 | المنحنيات الفولتامترية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود المضادات الاكسدة الاكثر | الشكل 15.IX |

| | | |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| | شيوعا في الصناعة ، في مذيب (<i>DMF</i>) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s-1، درجة الحرارة 25°C. | |
| 167 | المنحنيات الفولتامترية الحلقية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات للبروبوليس، في مذيب (<i>DMF</i>) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s-1، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 16.IX |
| 169 | المنحنيات الفولتامترية الحلقية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات حبوب اللقاح، في مذيب (<i>DMF</i>) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s-1، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 17.IX |
| 171 | المنحنيات الفولتامترية الحلقية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات للعسل، في مذيب (<i>DMF</i>) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s-1، درجة الحرارة 25°C. | الشكل 18.IX |
| 173 | سلم القدرة المضادة للأكسدة المقدره بالطريقة الكهروكيميائية | الشكل 19.IX |
| 174 | القدرة المضادة للأكسدة (TAC) للمركبات الفينولية بواسطة الطريقة الكهروكيميائية | الشكل 20.IX |
| 175 | التمثيل البياني للقدرة المضادة للأكسدة حسب صنف المركبات | الشكل 21.IX |
| 176 | القدرة المضادة للأكسدة (TAC) لمنتجات النحل بواسطة الطريقة الكهروكيميائية | الشكل 22.IX |
| 177 | تقسيم القدرة المضادة للأكسدة لمنتجات النحل وقيمها الدنيا و العليا | الشكل 23.IX |
| 178 | مقارنة القدرة المضادة للأكسدة (TAC) حسب مناطق الجني | الشكل 24.IX |
| 182 | التمثيل البياني لقيم مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI) للعينات | الشكل 25.IX |
| 183 | منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة اختبارات القدرة المضادة للأكسدة. | الشكل 26.IX |

..

المقدمة العامة

مقدمة عامة

تعتبر تربية النحل من أقدم النشاطات التي مارسها الانسان في بلدان حوض المتوسط و من هاته البلدان الجزائر وذلك لمناخها المعتدل و غطائها النباتي المتنوع و مصادر مياهها الكثيرة حيث شهد هذا النشاط تطورا ملحوظا خاصة في العقود الأخيرة حيث تم تعميم استعمال خلايا لانكستروث الحديثة (Langstroth)، و التي بدأ عددها يزداد ويتطور بشكل تدريجي فمثلا في فترة السبعينات والثمانينات تحديدا من 1974 إلى 1985 انتقل عدد خلايا النحل من 30 ألف خلية إلى 220 ألف خلية وفي فترة التسعينات وصل عدد خلايا النحل إلى 250 ألف خلية^[1].

أما في العقد الأخير و في سنة 2009م فقد تجاوز عدد خلايا النحل مليون و اربعمائة ألف خلية (1.400.000) و تجاوز الانتاج أربعة ملايين كيلو غرام بمعدل لم يتجاوز 4 كيلو غرام للخلية^[1]، هذه الكمية المنتجة تعترضها العديد من الصعوبات منها التسويق و التصريف و التخزين، هذه الخطوات لا يمكن أن تكون سلسلة دون معرفة ماهية هذا المنتج و خصائصه الفيزيائية و الكيميائية و قيمته الغذائية و الطبية.

ما زال العسل يحتل المكانة المرموقة بين أهم المواد المستعملة في الطب التقليدي ويستفاد منه في الغذاء و الاستشفاء، رغم ذلك فإن هناك منتجات أخرى لخلية النحل تتجاهلها الاحصائيات و الدراسات في الجزائر و القليل من المربين يعرفوا قيمتها الغذائية و الطبية، هذه المنتجات بدأت تدخل دائرة الاهتمام لدى الباحثين في السنوات الأخيرة.

من هذه المنتجات البروبوليس وهو عبارة عن خليط من مواد راتنجية صمغية يجمعها النحل من قلف الأشجار وبراغم بعض النباتات، ويضيف إليها بعض المواد مثل الإفرازات اللعابية والشمعية التي يخرجها النحل من بطونه، ويستخدم النحل البروبوليس كمادة بناءة لتثبيت الأقراص الشمعية أو مادة مطهرة للخلية. أخذت هاته المادة اهتماما كبيرا عالميا خاصة في دول أوروبا الشرقية و امريكا اللاتينية، حيث بلغ عدد الابحاث عالميا حوالي 575 بحث سنة 2000م، سرعان ماتضاعف العدد الى 4500 بحثاً سنة 2014م، وهذا ان دل على شيء فانه يدل على اهمية البروبوليس. في الجزائر لم يكن هناك اهتمام بالبروبوليس إلا مؤخرا حيث تجاوز عدد البحوث عن البروبوليس المحلي 171 بحثاً سنة 2014م، بدأت الابحاث يبحث فيليكوفا و المختصة البلغارية بانكوفا (Velikova and Bankova) في معرض دراستهم لعينات من البروبوليس لمناطق حوض المتوسط سنة 2000م^[2].

أما حبوب اللقاح فهي حبات لقاح الازهار التي تجمعها النحلة في جيوب أرجلها الخلفية التي تسمى سلال اللقاح، حيث يتلخص دور حبوب اللقاح في الخلية على تغذية اليرقات فهو مصدر هام للبروتين بالنسبة للنحل، تتميز حبوب اللقاح أيضا انها تحوي مواد ذات تأثير حيوي كالمواد الفعالة و الخمائر و بعض

الإنزيمات هذه المميزات و غيرها جعلت منها مادة مهمة، لكن ليست بمثل أهمية البروبوليس و العسل، حيث بلغ عدد الابحاث دوليا حوالي 350 بحثاً لسنة 2014م، أما في الجزائر فلم يكن هناك اهتمام يذكر لهاته المادة ماعدا هاته الدراسة التي نحن بصدها و التي تم أثنائها نشر عدة مقالات علمية [3-6].

أهم ميزة في منتجات النحل هي التركيبة الكيميائية الفريدة لها حيث دلت الدراسات أن الكثير من المركبات التي لها فعالية او أثر طبي يمكن استخلاصها من هاته المنتجات، على رأسها عائلات متعدد الفينول مثل الفلافونويدات، الفلافانول، الفلافونول وغيرها، حيث يمكن استخلاص و دراسة المستخلص الخام لهذه المواد أو عزل المركبات منفردة و دراستها [7-8].

من أهم طرق تقدير المواد الفعالة هي الطرق الطيفية التي تعتمد على طيف الاشعة فوق البنفسجية و المرئية، مثل طريقة (Singleton and Rossi) لتقدير الفينولات الكلية [9]، و طريقة (Woisky and Salatino) لتقدير الفلافونويدات الكلية و غيرها من الطرق [10]. الطرق التي يتم فيها تقدير المركبات الفينولية منفردة هي الطرق الكروماتوغرافية التي تعتمد على اجهزة الفصل ذات التقنية المتطورة كجهاز الكروماتوغرافيا السائلة و الغازية المزودة بسلسلة متنوعة من الكواشف أو اللواقط، حيث أن كل نوع من منها يعتمد على خاصية فيزيائية أو كيميائية معينة [11-15].

ظهرت مؤخرا تقنيات جديدة لتقدير المركبات الفينولية تعتمد على الخصائص الكهروكيميائية لهاته المركبات، فمن المعروف أن المركبات الفينولية فعالة كهربائيا، حيث يمكن الاستفادة من هاته الخاصية بحيث تكون مساهم في تكيم الفينولات أو وضع مؤشر يربط بين هاته الخاصية و كمية المادة [16-17].

المركبات الفينولية التي يتم تقديرها إجمالاً أو منفردة تملك خاصية تجعلها فعالة حيويًا، هذه الخاصية هي قدرتها على مقاومة و اكتساح الجذور الحرة و تسمى عادة مضادات الأكسدة أما عن طرق تقدير هذه الخاصية فمن المعلوم أنه على مدى العقود الماضية اقترحت طرق عديدة لتقييم النشاط المضاد للأكسدة، نذكر منها على سبيل المثال: اختبار (DPPH)، اختبار (FRAP)، اختبار (ABTS)، اختبار (ORAC)، اختبار (TRAP) و اختبار القدرة الإرجاعية (PR)، هذه الاختبارات تعتمد على التلوين و نزع التلوين في طول موجي معين و هي طرق طيفية في وجود كاشف معين عادة ما يكون جذر حر، لكن بالرغم من الاعتماد على هذه الطرق و التقنيات التقديرية المذكورة، فإن احد لا ينكر أن لكل طريقة مجموعة من السلبيات، فقد أصبح واضحا للدارسين و الباحثين أن هاته التقنيات لم تعد كافية في ظل هذا الانتشار الواسع للأبحاث و الدراسات المطروحة في هذا المجال، حيث تثبت الإحصائيات أن عدد الأبحاث بلغ حتى عام 1996 أكثر من 16080 بحثاً منشور، و زادت هاته النسبة بين سنتي 1997 و 2006 بـ 345 % حيث وصلت إلى 55493 بحثاً منشور [18]، خاصة بعد الاكتشافات التي توصلت إلى أن الجذور الحرة و المتمثلة

في انواع الأوكسجين النشط (ROS) هي المسؤولة عن تلف المواد الغذائية، و نشوء عدة أمراض مثل: داء السكري و الالتهابات المزمنة و بعض أنواع السرطان [19:20]، مما تطلب البحث عن طرق تحليلية جديدة دقيقة و سهلة للتقدير السريع لمضادات الأوكسدة من اجل ذلك توسعت دائرة الابحاث لتشمل طرق و تقنيات رخيصة التكلفة مثل الطرق الكهروكيميائية. هناك الكثير من التقنيات و الطرق الكهروكيميائية التي يمكن أن تستعمل في تقدير الفعالية المضادة للأوكسدة، أكثرها شيوعا هي التي تعتمد على الفولتامترية الحلقي و التي يتم فيها إنتاج الجذور الحرة و تكميم استهلاكها بنفس التقنية [21:24].

في هذه الدراسة عملنا على تغطية أغلب الاهداف و المحاور المذكورة أعلاه و التي يمكن أن نستخلصها و نطرحها كمايلي:

- تمييز منتجات النحل الجزائرية، و الكشف عن خصائصها الفيزيوكيميائية.
- دراسة و تقدير المركبات الفعالة بالطرق الطيفية و الكهروكيميائية و الكروماتوغرافية.
- دراسة الفعالية المضادة للأوكسدة و القدرة على إكتساح الجذور الحرة بالطرق الطيفية و الكهروكيميائية الحديثة.
- تصنف منتجات النحل جغرافيا حسب خصائصها المدروسة.

يمكن لهذا العمل أن يساهم في ترقية المنتج المحلي بإعطاء المربي و المستهلك صورة متكاملة حول المنتجات المدروسة.

تم العمل في هذه الاطروحة وفق المحاور أعلاه و بالتقسيم التالي:

مقدمة و ثلاثة أبواب و خاتمة، ينقسم كل باب لثلاثة فصول. يعالج الباب الاول عموميات حول منتجات النحل و خصائصها الفيزيوكيميائية، ففي الفصل الاول من هذا الباب تحدثنا عن المنتجات الثلاثة للنحل، بروبوليس، حبوب لقاح و عسل، في الفصل الثاني تم التطرق للمواد و طرق العمل في الكشف عن أهم الخصائص الفيزيوكيميائية للمنتجات الثلاثة، بعدها عرض لأهم النتائج و مناقشتها في الفصل الثالث. أما في الباب الثاني فتم التطرق في الفصل الرابع للإجهاد التأكسدي و مضادات الاكسدة فتم التعرف على كيفية حدوث الاجهاد التأكسدي و أهم المركبات و المواد المضادة للأوكسدة، في الفصل الخامس تم فيه العمل على تقدير المواد المضادة للأوكسدة و هي متعددات الفينول، الفلافونويدات و الفلافونولات، كما تم تقدير عدد من الاحماض الفينولية و الفلافونويدات منفردة مثل حمض الكافيك و حمض الكلوروجنيك و الكريستين و الروتين بالكروماتوغرافيا السائلة و الطرق الكهروكيميائية، بعدها تمت مناقشة النتائج في الفصل السادس. تم في

الباب الثالث عرض لأهم الطرق المستعملة في تقدير الفعالية المضادة للأكسدة و ذلك في الفصل السابع، كما تم في الفصل الثامن عرض للطريقة الفولتامترية المستعملة في تقدير القدرة المضادة للأكسدة اضافة لإختبار (DPPH) و إختبار موليبيدات الفوسفات (MP)، بعدها تم مقارنة النتائج و مناقشتها في الفصل التاسع.

1. Adjlane, N., Doumandji, S. E., & Haddad, N. (2012). Situation de l'apiculture en Algérie: facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa*. *Cahiers Agricultures*, 21(4), 235-241.
2. Velikova, M., Bankova, V., Sorkun, K., Houcine, S., Tsvetkova, I., & Kujumgiev, A. (2000). Propolis from the Mediterranean region: chemical composition and antimicrobial activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 55(9-10), 790-793.
3. Rebiai, A., Lanez, T., & Belfar, M. L. (2013). Determination of caffeic acid and gallic acid in Algerian bee pollen by HPLC method. 4 Phytochem & BioSub Conference. *At Bechar, Algeria*.
4. Rebiai, A., & Lanez, T. (2013). A Facile Electrochemical Analysis to Determine Antioxidant Activity of Bee Pollen. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 9, 31-38.
5. REBIAI, A., LANEZ, T., DIA, M., & AIBA, S. ELECTROCHEMICAL DETERMINATION OF POLYPHENOLS CONTENT IN ALGERIAN BEE POLLEN. *Actes du Séminaire ISNEMA, Vol. 1 (2014)*, 66.
6. Rebiai, A., & Lanez, T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of *Apis mellifera* bee pollen from northwest Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 4(2), 155-163.
7. Schmidt, J. O. (1997). Bee Products. In *Bee Products* (pp. 15-26). Springer US.
8. Mizrahi, A., & Lensky, Y. (Eds.). (2013). *Bee Products: Properties, Applications, and Apitherapy*. Springer Science & Business Media.
9. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
10. Woisky, R. G., & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of apicultural research*, 37(2), 99-105.
11. Volpi, N., & Bergonzini, G. (2006). Analysis of flavonoids from propolis by on-line HPLC–electrospray mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 42(3), 354-361
12. Gardana, C., Scaglianti, M., Pietta, P., & Simonetti, P. (2007). Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(3), 390-399.
13. Medana, C., Carbone, F., Aigotti, R., Appendino, G., & Baiocchi, C. (2008). Selective analysis of phenolic compounds in propolis by HPLC-MS/MS. *Phytochemical Analysis*, 19(1), 32-39.
14. Maróstica Junior, M. R., Dausch, A., Moraes, C. S., Queiroga, C. L., Pastore, G. M., & Parki, Y. K. (2008). Comparison of volatile and polyphenolic compounds in Brazilian green propolis and its botanical origin *Baccharis dracunculifolia*. *Food Science and Technology (Campinas)*, 28(1), 178-181.
15. Bankova, V., Christov, R., Kujumgiev, A., Marcucci, M. C., & Popov, S. (1995). Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 50(3-4), 167-172.
16. Prehn, R., Gonzalo-Ruiz, J., & Cortina-Puig, M. (2012). Electrochemical detection of polyphenolic compounds in foods and beverages. *Current Analytical Chemistry*, 8(4), 472-484.

17. Šeruga, M., Novak, I., & Jakobek, L. (2011). Determination of polyphenols content and antioxidant activity of some red wines by differential pulse voltammetry, HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry*, 124(3), 1208-1216.
18. Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica chimica acta*, 613(1), 1-19.
19. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
20. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
21. Kilmartin, P. A. (2001). Electrochemical detection of natural antioxidants: Principles and protocols. *Antioxidants and Redox Signaling*, 3(6), 941-955.
22. Korotkova, E. I., Karbainov, Y. A., & Shevchuk, A. V. (2002). Study of antioxidant properties by voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 518(1), 56-60.
23. Ziyatdinova, G. K., Gil'metdinova, D. M., & Budnikov, G. K. (2005). Reactions of superoxide anion radical with antioxidants and their use in voltammetry. *Journal of Analytical Chemistry*, 60(1), 49-52.
24. Le Bourvellec, C., Hauchard, D., Darchen, A., Burgot, J. L., & Abasq, M. L. (2008). Validation of a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids. *Talanta*, 75(4), 1098-1103.

الباب الأول

الخواص الفيزوكيميائية

لمنتجات النحل

الفصل الأول

عموميات حول منتجات النحل

1.1. البروبوليس:

1.1.1. تعريف:

البروبوليس عبارة عن مواد صمغية راتنجية، ذات لون يتدرج من الأصفر حتى البني القاتم و يعود الاختلاف في اللون إلى انعكاس مدى التباين في مصادر جمعه [1]، رائحته مميزة مريحة كخليط من البراعم والعسل والشمع والفانيليا، و عند حرقها ينبعث منها دخان ذو رائحة عطرية ممتعة جدا ذكية تشبه روائح الراتنجات العطرية [2]. لاذع المذاق، لزج الملمس، سهل الخلط مع شمع النحل.

كما يعرف البروبوليس أيضا بعدة أسماء منها العكبر و علك النحل و صمغ النحل و غراء النحل و سذاب النحل و الصمغ الشمعي و الراتنجي و الدنج و السميطة.

يحمل النحل المواد المجنية إلى الخلية، ويحولها إلى جزيئات بواسطة بعض إفرازاته الذاتية (شمع و إفرازات لعابية خاصة) [3] لتلعب دورا رئيسا في سد الشقوق داخل الخلية وتصليح وتلميع وتعقيم المساحات الداخلية للخلايا للخاريب أثناء التبييض؛ وتحنيط جثث الكائنات الدخيلة مثل القوارض الصغيرة وغيرها، هذا التطهير من شأنه أن يمنع كل عمليات التعفن داخل الخلية [4].

2.1.1. تاريخ استعمال البروبوليس:

يقول الخبراء إن البروبوليس موجود منذ أكثر من 45 مليون عام، وأنه استخدم من قبل الإنسان منذ آلاف السنين [5]. لكن معرفة البروبوليس أقل قدا من معرفة العسل ويعتقد أنه عرف عند المصريين القدامى [6]، حيث أشارت النقوش المرسومة على جدران المعابد الفرعونية أنهم استخدموا البروبوليس للحفاظ على الصحة و الجمال كما استخدموه كمضاد حيوي طبيعي و مضاد للبكتيريا [7-9]. كما ثبت استخدامه في التحنيط، ولعلمهم اكتسبوا ذلك من ملاحظتهم تحنيط النحل لجثث الكائنات التي تدخل خليته ولا يستطيع إخراجها بعد قتلها.

و كان أرسطو أول من كتب عن البروبوليس وأول من سماه "Propolis" و هي كلمة يونانية الأصل تتألف من مقطعين:

Pro : تعني قبل **Polis** : المدينة، وهو مدخل خلية النحل [9].

فالنحل البري يستعمل البروبوليس لإحكام مداخل خليته وسد الشقوق لمنع الحشرات، والهوام، وكذلك الهواء البارد من دخول الخلية.

و تحدث أرسطو في كتابه تاريخ الحيوان: البروبوليس دواء لأمراض الجلد والجروح والتقيحات [10].

كما استعمل أبوقراط البروبوليس كمرهم في علاج الجروح والقروح. وبعد أربعة قرون كتب الطبيب الروماني الشهير " ليني " عن فوائد البروبوليس في شفاء القروح وتخفيف التورمات وتطرية المناطق القاسية. واستعمل البروبوليس في القرون الوسطى كمادة مضادة للالتهابات جوف الفم ومضاد لتسوس الأسنان [9].

وقبل حوالي ألف سنة تقريبا ناقش الرومانيان: ديوسكوريد (Dioscoride) – بليني (Pline)

مصدر هذه المادة وكتبا في شأنها: تنزع الشوك وكل ما يدخل الجلد، تنقص من التورم، وتلين تصلب الجلد، تنقص آلام العصبية وتداوي القروح والدمل [4]. و في بداية القرن الماضي زادت شعبية هذه المادة بشكل باهر حيث لم تكتشف بعد المضادات الحيوية، وكان العلاج يتم بوضع مادة البروبوليس مباشرة على الجروح و التورمات كمضاد.

و في السنوات الأخيرة استهوى البروبوليس فؤاد الباحثين بسبب اكتشاف خواصه المضادة للجراثيم، والمضادة للأكسدة، والمضادة للقروح، إضافة إلى فعاليته كمضاد للأورام السرطانية، حيث ان خلال الثلاثين سنة الأخيرة أجريت بحوثا تحليلية وصيدلية وطبية لهذه المادة في كل أصقاع العالم، و استطاعوا إن يحصروا الأهمية الكبرى للبروبوليس في مركبات كيميائية متعددة الفينول [11].

وقد نجح العلماء في تحديد التركيب الكيميائي لهذه الفينولات المتعددة (وهذا حسب مصادر جنيه) وعزل المواد الفعالة المسؤولة عن نشاطه العلاجي [12].

3.1.I. جني البروبوليس:

هذه العملية يقوم بها عدد معين من النحلات العاملة الجامعة للرحيق هذه الأخيرة متخصصة في هذه المهمة ولا تقوم بغيرها [13] الشكل 1.I. ، و يتراوح إنتاج الخلية من 10 إلى 30 غ في السنة [14].

و عملية الجني مرتبطة بعدة عوامل وقوانين ثابتة يمكننا على إثرها استخلاص نتائج مهمة هي:

- **فصلي:** يكون الجني حسب الحالات في بداية فصل الصيف وخصوصا عند نهاية الإزهار أو عند اقتراب الخريف وبدء النحل في تهيئة المستوطنة لفصل الشتاء.
- **جغرافية المكان:** الخلايا الموجودة في المناطق الغابية تنتج البروبوليس باستمرار أكثر من الخلايا الموجودة في المناطق السهلية.

- **المناخ:** (درجة الحرارة) النحل الجامع للبروبوليس يكون أكثر نشاطا خلال الأيام الحارة (درجة الحرارة $< 20^{\circ}$) وفي الساعات الأكثر تعرضا لهذه الحرارة (10سا – 15:30 سا) وهذا لأن المواد الصمغية تكون صلبة جدا خارج هذه الساعات ولا يمكن جنيها.



الشكل 1.I. عملية جني المواد الصمغية من براعم الأشجار [15]

كما يمكن أن يقوم الإنسان بعملية الجني بواسطة تقنيات متعددة ككشط أطر وجدران الخلية وفي درجات حرارة منخفضة حيث تكون المادة صلبة وقابلة للتفتت وتنفصل بسهولة عن الجدران. الشكل 2.I. وتحدثت بعض المصادر على أن أفضل نوعية للبروبوليس المجني مباشرة بعد فصل الإزهار مباشرة، أي في فصل الصيف.



الشكل 2.I. بروبوليس تم جنيه من طرف الانسان [16]

4.1.I. التخزين:

مادة البروبوليس يتم تخزينها بسهولة، ولكن يستحسن أن تخزن في أواني تمنع مرور الضوء، ومحكمة الإغلاق وبعيدة عن الحرارة (بعض أشكالها تستلزم هذه الشروط من أجل عملية حفظ جيدة مثل المرهم)^[17]. بعض التجارب أثبتت أن تخزين هذه المادة لفترة طويلة لا ينقص من كمية المركبات الكيميائية المكونة لها ولا من فعاليتها ضد البكتيريا.

ويجدر بالذكر في الأخير أن تجفيف البروبوليس في درجة حرارة منخفضة تحت الفراغ يسمح بالحصول على بودة مسامية تخزن إلى أمد طويل تحت الفراغ. هذه العملية تسمح لهذه المادة بأن تحتفظ بفعاليتها ضد الميكروب وهذا ما يجعل هذه الطريقة جد هامة يجب التقيد بها أثناء استعمال هذه المادة في الأبحاث^[18].

5.1.I. الخواص الفيزيائية (الظاهرية):

البروبوليس مادة مواصفاتها كمايلي:

- ذات متانة متغيرة بتغير درجة الحرارة صلبة وتتفتت عند 15م° وطرية وقابلة للتشكيل في حدود 30م°.
- إذا سخنت بلطف في حمام مائي فإنها تنقسم إلى قسمين مميزين؛ قسم لزج يسقط إلى الأسفل وقسم سائل يطفو على السطح يستعمل هذا الجزء بكثرة في مجال تربية النحل.
- لونها يتغير حسب مصدرها من الأصفر الفاتح إلى البني.
- مذاقها لاذع وفي بعض الأحيان مر^[19].
- البنية الميكروسكوبية للبروبوليس أصبحت معروفة حالياً نتيجة عمل مهم وجديد لـ (Colette Jeanson and Philippe Marchenay) اللذان قاما بواسطة ميكروسكوب ضوئي بمسح عينات من أنحاء فرنسا بأكملها والنتائج أثبتت دوما الحصول على نفس البنية المجهرية^[20].
- مادة البروبوليس لا تذوب في الماء ولكن تذوب جزئياً في الأستون، الكحولات، النشادر، البنزين، الكلوروفورم، ثلاثي كلوروايثيلين أو مزيج مناسب من مختلف هذه المذيبات.

6.1.I. المكونات الأساسية للبروبوليس:

يعتبر البروبوليس مادة طبيعية ذات مصدر نباتي و بالتالي كانت مثلها مثل النباتات الطبية حيث خضعت لدراسات من قبل الكيميائيين النباتيين و الصيادلة و البيولوجيين، و يعتمد تركيب البروبوليس على النباتات المحلية و الخصائص الجغرافية و المناخية للموقع، هذه الحقيقة تفسر التنوع الكبير لتركيبه و خاصة في المنطقة الاستوائية.

ذلك لا يمنع أن تكوين البروبوليس الأساسي يحتوي على الكثير من المواد المتواجدة بصفة ثابتة ومستقرة نسبيا مهما تنوع المصدر [21]، و ذلك راجع للنحل الذي يضيف بعض الافرازات اللعابية و الشمع للمادة الصمغية الخام، حيث أمكن معرفة النسب التالية:

- 50 – 55% مواد راتنجية؛
- 25 – 35% شمع العسل؛
- 10% زيوت طيارة؛
- 5% لقاح أو غبار الطلع (الموجود في كل أجزاء الخلية كذلك)؛
- 5% مواد مختلفة عضوية و معدنية [22].

وإلى حد الساعة تم فصل و التعرف على العديد من المكونات الفعالة [23].

7.1.I. دور البروبوليس في خلية النحل:

يستطيع النحل أن يحافظ على الخلية خالية من الأمراض على الرغم من كونها بيئة مثالية لتكاثر البكتريا و الطفيليات، هذه البيئة ذات درجة حرارة و رطوبة مرتفعتين بالإضافة إلى وفرة لثاني اوكسيد الكربون طوال السنة، و ترجع هذه الحصانة لمادة البروبوليس التي ينتجها، فالبروبوليس مضاد بكتيري [24،25] و صاد فطري [26،27] و معطل فيروسي [19،28] و مضاد للأكسدة [5]، إضافة إلى أن عالم النحل عالم حضاري صغير نظيف، إذ يقوم النحل بتنظيف الخلية و تعقيمها بواسطة البروبوليس.

■ حيث يستخدم النحل البروبوليس في تحنيط الحشرات الني يمكن أن تتسلل إلى داخل الخلايا، حتى و لو كانت المتسللة حيوانات صغيرة مثل الفئران و السحالي حيث يقتلها أولاً بلسعها، ثم يقوم بلفها بالبروبوليس حيث يمنعها من التحلل، ثم يغطي هذه المادة بطبقة من الشمع حتى لا تلوث جو الخلية [29].

■ كما يستخدم النحل البروبوليس في سد الشقوق داخل الخلية و تضيق مدخلها في الشتاء.

- لصق الإطارات الخشبية مع بعضها البعض و تثبيت الأقراص الشمعية في سقوف الجحور أو الكهوف أو حتى الأشجار التي يسكنها الشكل 3.I.



الشكل 3.I. صورة لاستخدامات البروبوليس في تقوية أماكن ترابط الأقراص.

- صقل و تنعيم الأجزاء الداخلية بالخلية.
- طلاء الجدر الداخلية للعيون السداسية الخاصة بالحضن.
- تقوية أماكن ترابط الأقراص.
- يقدم حماية طبيعية للنحل نظراً لطبيعته اللزجة حيث يقوم باصطياد الكائنات الدقيقة.
- حماية الخلية من الابتلال بالماء.

8.1.I. الأهمية الطبية للبروبوليس:

كثرت الأبحاث المنشورة عن البروبوليس و المحاضرات العلمية في الفترة ما بين 1980 حتى 1995 كانت حوالي 350 بحث و كانت تتناول التركيب الكيميائي و علاقتة بعلم الأدوية و استخداماتة الطبية و أكثر الدراسات عددا هي للولايات المتحدة الأمريكية بـ 32 بحث و ألمانيا 29 بحث و قد قامت كبرى الشركات الأمريكية بإنتاج كبسولات من البروبوليس^[12].

في هذا الإطار يعتبر البروبوليس مضاد حيوي مهم وممتد إلى العديد من أنواع البكتيريا^[11].

حيث بينت الأبحاث أن مركبات البروبوليس تمنع تكاثر خمسة أنواع من بكتيريا (Staphylococcus) بالإضافة إلى نوع من السلمونيلا وأربعة أنواع من الفيروسات، بالإضافة إلى ذلك فإن مستخلص البروبوليس يزيد في فعالية بعض المضادات الحيوية هذا من جهة ومن جهة أخرى أثبتت تجارب تأثير محاليل البروبوليس على ستة أنواع من الجراثيم الشهيرة التي كثيرا ما تصيب الإنسان وتجعله أسير الفراش . وهي المكورات العنقودية، والإيشيريشا القولونية، والمكورات العقدية، والمكورات المعوية (Enterococcus)

(Faecalis)، وعصية القيقح الزرقاء (Pseudomonas)، والـ (Bacillus subtilis)، حيث تبين ان فعالية محاليل البروبوليس التي كانت تحتوي على نسبة من الفلافونويدات تزيد عن (1%) فقط كانت قادرة على محاربة الجراثيم ولها خواص مضادة للجراثيم الستة التي تم دراستها^[9].

- كما أثبتت التجارب أن أنواع البكتيريا المسببة للأمراض أكثر حساسية لتأثير البروبوليس من المضادات الحيوية العادية مثل: البنسلين، تتراسكلين، امبسلين، مونوميسين^[30].
- له خاصية بالغة الأهمية لتجديد النسيج الخلوي وتأثيرات حسنة على بعض الآليات التي تؤدي إلى تقوية الأرضية ضد الهجوم على البكتيريا بصفة عامة^[31].
- كما يستعمل في علاج الأوعية والشرايين الدموية وحالات فقر الدم وخفض نسب الكوليسترول في الدم وحالات الضغط العالي^[32].

ودلت الأبحاث الطبية التي لا تزال متواصلة لحد الساعة لهذه المادة عن قيم علاجية كبيرة نذكر منها:

- يستخدم في الانتهاب الكبدي الفيروسي^[33]، و ذلك كمضاد للفيروس.
- يستخدم كمدادوي عام للقروح و التهابات الأمعاء.
- يساعد في تأخير أو إعاقة تكاثر الخلايا السرطانية. حيث أكدت أبحاث السرطان قدرة أحماض ألكافيك الموجودة في البروبوليس على تثبيط نمو الخلايا السرطانية إذ يعمل على تعزيز قدرات جهاز المناعة بشكل عام و الخلايا الليمفاوية بشكل خاص، و تحثها على إفراز العامل المضاد و الذي يقضي على الخلايا المصابة بالسرطان، فأحماض ألكافيك تختار الخلايا المصابة بالسرطان وتتلفها أو تمنع انتشارها دون أن تلحق أي ضرر بالخلايا السليمة، على عكس الأدوية الكيميائية التي تقضي على الخلايا المصابة والسليمة على حد سواء^[34-35]، كما اثبت فعاليته كمضاد لسرطان الجلد الخطير المعروف باسم الملانوم (الورم الملاني) و أيضا فعال ضد سرطان القولون^[36,37].
- وبينت دراسات حديثة أن أحماض ألكافيك وحمض الفيروليك استر (Ferulic acid) تقاوم سرطان الثدي والورم القتامي^[38].
- مقوي عام حيث يزيد النشاطات الطبيعية و النشاطات الذهنية^[34].
- ينبه الجهاز المناعي و يهدئ الحساسية^[34].
- أمراض الغدة الدرقية^[34].
- إدرار البول و زيادة إفراز العصارة المرارية^[34].
- التهابات الأذن والأنف والحنجرة^[34].

- أمراض الفم (الأسنان^[39]، اللثة، الرائحة الكريهة^[40]).
- أمراض الرئة والنزلات الصدرية الحادة (السل)^[41].
- أمراض الكلى والمثانة بشكل أخص^[42].
- الأمراض التناسلية^[28] (خاصة غدة البروستاتة عند الرجال والتشنجات المهبلية عند النساء).
- الالتهابات الجلدية (حروق درجة أولى، ضربات الشمس، كل الآثار الطويلة و الصعبة) حيث استعمل البروبوليس لمعالجة الجروح والحروق والتسلخات الجلدية الملوثة بالجراثيم والفطريات، وأعطى نتائج مذهلة في القضاء التام على الجراثيم وفي سرعة التئام الجروح وتكوين أنسجة جديدة بدلا من تلك التالفة. كما تم علاج حروق شديدة في فئران كانت ملوثة بجرثومة السيديموناس (*Seudomonas*) المقاومة للمضادات الحيوية بمرهم يحتوي على البروبوليس بنسبة (3%) فتحقق شفاؤها تماما خلال يوماً دون حدوث تأثيرات جانبية.
- ازالة الجسأة (الكلس) في القدم (وهي الجزء المتصلب في الجلد).
- التهابات العين^[34].
- الحالات العصبية (القلق)^[43].
- السكري^[44].
- يفيد في حالة كسر العظام حيث يساعد على إعطاء شفاء أفضل للمريض.
- الروماتيزم^[45].
- مضاد لداء فقدان المناعة السيدا^[46-47].

2.I. حبوب اللقاح:

1.2.I. تعريف حبوب اللقاح:

تتكون كتل حبوب اللقاح من غبار الطلع وهي الخلايا الذكرية في الازهار، و التي تقوم النحلة بجمعها ثم اضافة بعض الانزيمات ونسبة من العسل اليها كي تجعل منها غذاء ليرقات النحل . النحلة تنقل حبوب اللقاح من الازهار المذكرة الى الازهار المؤنثة، لتكتمل حلقة التكاثر الطبيعي للنبات، كما تستفيد النحلة من هذه الحبوب في التغذية^[48].

تعد حبوب اللقاح التي يجمعها النحل افضل بكثير من التي يمكن جمعها مباشرة من الازهار، اذ يقوم النحل باختيار افضلها من ضمن ملايين الازهار المتوافرة له، التي تكون عادة احدى نوعين : نوع يسمى انيموفيل *Anemophile* التي يبتعد عنها النحل ولا يجمعها، ولها دور في تهيج الحساسية، و النوع الثاني هو

انتيموفيل *Entomophile* التي يقبل النحل عليها و يجمعها ^[49]، وفيها فوائد غذائية كبيرة، ولها دور في علاج حساسية الربيع، وغيرها من حساسية الجهاز التنفسي .

2.2.I. تاريخ إستعمال حبوب اللقاح:

تُعدُّ حبوبُ اللقاح من أقدم المكملات الغذائية؛ حيثُ استخدمت كمقوِّ عام للصحة، ومجدد للطاقة والعافية، وقد استُخدم من قبل الأطباء في الحضارة الفرعونية والصينية القديمة، وسمي بأسماء مختلفة؛ مثل ينبوع الحياة و طعام الآلهة، كما استخدمه أبقرات لعلاج العديد من الأمراض قبل (2735) سنة ق.م. ^[50]

3.2.I. جني حبوب اللقاح:

قبل أن يقوم النحل برحلة جني حبوب اللقاح يقوم بتقييم حاجة الخلية منها من خلال معرفته بأعداد اليرقات وكمية حبوب اللقاح المتوفرة والمخزنة في العيون السداسية ، و يجمعها على شكل كرتين في سلتي حبوب اللقاح الموجوده على زوج الارجل الخلفية للنحلة العاملة الشكل 4.I. ، هذا مع العلم بأن النحل خلال رحلته الواحدة لا يجمع إلا نوعية واحدة من حبوب اللقاح ويختلف وزن حبوب اللقاح المجموع من النحلة خلال الرحلة الواحدة وتزن في المتوسط 20 mg وتحتوي على ما يقارب 4 مليون حبة لقاح، وتختلف كمية حبوب اللقاح التي يجمعها النحل حسب الطوائف، فالخلايا القوية جداً تستطيع جمع كمية اكبر من حبوب اللقاح من الخلايا الضعيفة، وقد تجمع الطائفة القوية عدة كيلوغرامات من حبوب اللقاح في الموسم الواحد، كما تعتمد كمية حبوب اللقاح على وفرتها في الحقول المجاورة.

وتخزن حبوب اللقاح في العيون السداسية بعد عجنها بالعسل لتستعمل في غذاء اليرقات والمتعارف عليه بخبز النحل ^[51].



الشكل 4.I. عملية جني حبوب اللقاح [52]

ويمكن للإنسان جمع حبوب اللقاح بطرق عديدة حيث يمكن تركيب مصيدة على مدخل الخلية تسمح بمرور النحل السارح وتعيق دخول كتل حبوب اللقاح العالقة بأرجله فتسقط هذه الكتل وتنفذ خلال شبك المصيدة الى صندوق في اسفل الخلية ، فيقوم النحال بفك المصيدة وجمع حبوب اللقاح المتجمعة فيه ، ويمكن ايضاً وضع مصيدة مكان قاعدة الخلية بصفة مؤقتة حيث تتركب وتزال بعد جمع حبوب اللقاح التي تتساقط من النحل السارح بفعل الشبك في درج خشبي في قاعدة المصيدة، كما هو موضح في الشكل 5.I.



الشكل 5.I. حبوب لقاح تم جنيها من طرف الانسان [53]

4.2.I. الخواص الفيزيائية (الظاهرية):

تتفاوت ألوان وأحجام حبوب اللقاح بحسب مكوناتها، فكلما كانت كمية المعادن فيها أكثر، كان لونها أدكن، ويصبح لونها أفتح إن كانت نسبة الرطوبة فيها أكثر، وكلما تعرضت للشمس أكثر، أصبح لونها أفتح، أما حجم الحبوب فيتراوح ما بين (2 - 5) ملمتر.

أما رائحة الحبوب، فتعتمد على أصل الحبوب، ومن أي نبات كان، وكلما كانت الرائحة أقوى، كانت الحبوب طازجة بطريقة أفضل، وعادة ما تكون الرائحة طيبة ودائمة.

أمّا طعم الحبوب، فيمكن أن يكون واحداً من أنواع الطعم التالية:

- الطعم الحامضي : وهذا يعني أن أصل الحبوب من نباتات دوار الشمس، أو الأشجار العملاقة التي تنمو في التربة الحمضية، مثل: أشجار الصنوبر والقيقب، وكذلك نبات الهدال.
- الطعم الحلو : ويكون أصل الحبوب من أشجار الفواكه، مثل: الليمون، والبرتقال والجريب فروت، وغيرها من أشجار الحمضيات.
- الطعم المر : ويكون أصل الحبوب من نباتات الفصيلة الصليبية، مثل: الملفوف والخردل والفجل، واللفت، وغيرها.

الطعم المالح : وهذا ليس له دلالة معينة [54].

5.2.I. المكونات الأساسية لحبوب اللقاح:

لا يزال التركيب الكيميائي والبيولوجي لحبوب اللقاح قيد البحث والدراسة ، ولكننا نستطيع أن نحدد علمياً محتويات حبوب اللقاح التي تجلبها النحلة إلى الخلية ، و تختلف هذه المكونات باختلاف المصدر النباتي الذي تنتمي إليه الحبوب ، لذلك تختلف ألوان حبوب اللقاح من زهرة لأخرى [14] ، وتتركب حبوب اللقاح من المكونات الآتية:

- الماء: بنسبة تتراوح بين 10% - 12% وذلك بالنسبة للحبوب الطازجة ، و 4% بالنسبة للمجففة (وتمثل 5% أقصى حد ممكن) ، وتجفيف حبوب اللقاح يتطلب معدات متخصصة والتي يراعى أن تصل فيها درجة الحرارة إلى 40C° وهى الدرجة الموازية لحرارة الخلية، وذلك حفظاً على عدم إتلاف بعض المكونات الحيوية التي تتأثر بالحرارة .
- السكريات: وتمثل 35%.
- الدهون: وتمثل 5%.
- البروتينات : وتمثل 25% (مع وجود نسبة كبيرة من الأحماض الأمينية) .
- ومما هو جدير بالذكر ان حبوب اللقاح والغذاء الملكي هما من المواد الطبيعية الغنية بالأحماض الأمينية ، وهذا ما يجعل لهما خواصا علاجية مؤثرة سواء بطريقة مباشرة أو غير مباشرة [48].

- الفيتامينات: تحتوي حبوب اللقاح على الكثير من الفيتامينات (A, C, E, B6, B12,).
- المعادن: تحتوي حبوب اللقاح على عدد كبير من المعادن الضرورية ، ولكل معدن من هذه المعادن دور رئيسي وأساسي في التفاعلات العديدة والتي تدخل في عمليات الأيض الغذائي للخلية ، ومن هذه المعادن: الكالسيوم (Ca)، والكلور (Cl)، والمغنسيوم (Mg).
- الإنزيمات والخمائر: تحتوي حبوب اللقاح على عدد كبير من الإنزيمات والخمائر التي تستخدم كعوامل مساعدة في التفاعلات الكيماوية وخصوصاً الاميليز والانفرتاز و الفوسفاتيز.
- بعض العناصر الأخرى: مثل مادة الروتين التي تدخل في تركيب الشعيرات الدموية وتزيد من قوة التصاق خلاياها ببعضها البعض ، وفي حالة نقص هذه المادة فان الثغرات الموجودة بين الخلايا تصبح واسعة مما يزيد ارتشاح السوائل منها ، وهو ما يعرف بالارتشاح المائي (Odema) [48].

6.2.I. دور حبوب اللقاح في خلية النحل:

ترجع أهمية حبوب اللقاح لما لها من دور أساسي وكبير في الخلية و إستمراريتها في الحياة حيث أن النحل يعتمد في غذائه على الرحيق كمصدر للكربوهيدرات ، وحبوب اللقاح كمصدر للبروتينات ويستخدمه النحل في تغذية اليرقات، ويكون استهلاك الخلية عالياً بحلول فصل الربيع لأن الملكة تكون في فترة النشاط القصوى لها.

7.2.I. الأهمية الطبية لحبوب اللقاح:

لحبوب اللقاح القدرة على حل كثير من المشاكل و الاضطرابات المرضية وكذلك علاج كثير من الأمراض التي تم تشخيصها ،بالإضافة إلى أن لها إمكانية المحافظة على الصحة الكاملة والعافية التامة. وسوف نوضح فيما يلي بعض الدواعى الرئيسية لحبوب اللقاح، والتي تعطى فيها نتائج ممتازة، ولها فيها خصائص مفصلة، وعلى ذلك فالخصائص المعهودة لحبوب اللقاح تجعلها مادة مفيدة تعطى نتائج طبية ايجابية في الوقاية و علاج بعض الأمراض:

- تقوية جهاز المناعة.
- الوقاية من ألتهاب القولون.
- يزيد عدد كريات الحمر في الدم ورفع نسبة الهيموجلوبين.
- يحوي مضادات حيوية ضد السلمونيليا.
- الوقاية من سرطان البروستاتا [55].
- الوقاية من تصلب الشرايين.

- علاج فقر الدم.
- علاج اضطرابات الغدد الصماء والتهابات الدماغ.
- المساعدة في علاج فيروسات الكبد.
- منع ترسب الدهون بالكبد وإزالة الكوليسترول والتخلص من الدهون الزائدة بالجسم لاحتوائها على الليسين.

3.I. عسل النحل:

1.3.I. تعريف عسل النحل:

عسل النحل هو سائل حلو كثيف القوام، لزج، يختلف في صفاته الطبيعية، وفي تركيبه الكيميائي باختلاف كل من الأزهار المستمد منها الرحيق وحبوب اللقاح، ونوع الشغالة التي جمعته، ووقت جمعه.

فعسل النحل عبارة عن مادة طبيعية ناتجة عن عمل نحل العسل على رحيق الأزهار، أو مفرزات النبات الحي، أو مخلفات الحشرات الماصة لنسغ النباتات على الأجزاء الحية للنبات، التي تجمعها شغالات النحل السارحة في معدتها وتفرز الإنزيمات المحللة عليها، والتي يكون البعض منها مصدرها الرحيق، بعد الجمع يتم تسليمها إلى شغالات الخلية التي بدورها تقوم بعملية تحويلها و وضعها في العيون السداسية وبعد نضجه يختم عليه بالأغطية الشمعية ليصبح في الأخير عسلا ناضجا [56].

2.3.I. تاريخ استعمال العسل:

إن الحفريات تشهد على وجود النحل على سطح الأرض قبل ظهور الإنسان ، النحل على هيئة ثابتة، موجود منذ حوالي 50 مليون سنة حسب تقديرات علماء الحفريات. فليس من المفاجئ أن اقتحامه لحياة الإنسان أُرخ في الفترة ما قبل التاريخ. منذ 12000 سنة عبر أول من رسم و نقش على سطوح و جدران الكهوف، فالشعوب قديما كانت تبدي إحتراما كبيرا للنحل و تميزه عن باقي المخلوقات و ذلك لما يتحصلون عليه من هاته الحشرة الصغيرة فكان السوماريين أول من ربي النحل قبل 5000 سنة ق.م. حيث وجدت كتابات على ألواح طينية تعود لـ4000 سنة ق.م. تدل على ذلك، كما وجدت وصفات للتداوي بالعسل ضمن تلك الكتابات. و استعمل اهل بابل العسل في علاج بعض الامراض كما هو مثبت و مدون في مسلة حمورابي.

و في مصر القديمة كانت النحلة من ضمن كتاباتهم على الرموز التذكارية المخددة لفراعتهم حيث كانت رمز للسلامة و الامن، ومن المعلوم أن المصريين القدامى، أول الشعوب التي عرفت بنجاح "النحلة

المتنقلة" حيث كانوا يحملون خلايا النحل على قوارب يجوبونها نهر النيل من أقصى الجنوب إلى أقصى الشمال حيث كانت النباتات تزهر قبل الجنوب بأكثر من ستة أسابيع، وفي أقدم وثيقة وجدت على أوراق البردي تعود إلى 3500 سنة خلت وجد كتاب تحضير الأدوية لكل أمراض الجسم وفيه كثير من الوصفات كان فيها العسل المادة الرئيسية وذكروا أن العسل يساعد على شفاء الجروح ومعالجة أمراض المعدة والأمعاء والكلبي، وطبقوه على شكل مراهم في علاج أمراض العين. الشكل I.6.



الشكل I.6. جداريات فرعونية قديمة عن إستعمال عسل النحل تعود الى 3000 سنة ق.م [57-58]

ومنذ 2000 عاما ، المؤلف الصيني " Shen Nong's Book of Herbs " أشار إلى أن العسل و شهد النحل و خبز النحل من المواد المصنفة الأولى من حيث عدم سموميتها " و التي يمكن أخذها بصفة إعتيادية لعلاج الأمراض و الإعتناء بالصحة و منذ 2000 عاما ق.م ، بالصين في " الإثنان و خمسون وصفة " كتبت على لفافات حريرية ، إثنان منها متعلقة بالإستعمال الطبي لخبز النحل و العسل.

وكان الفيلسوف اليوناني أرسطاطاليس خبيراً بالطب وقد مدح بإطناب النحل، وبيّن أن العسل يملك خواص ذاتية فريدة من نوعها وأنه يقوي الصحة ويطيل العمر، كما أن أبو قراط يعتمد على العسل في غذائه الخاص ويعالج به كثيراً من الأمراض كالجروح والإلتهابات البلعومية، وله شراب محضر من العسل يصفه كمهدئ للسعال وماص للرطوبة.

أما المؤرخ بليني صاحب كتاب "التاريخ الطبيعي" فقد أشار إلى الخواص الشفائية الممتازة للعسل في معالجة الجروح وتقرحات الفم.

وللعسل عند المسلمين نظرة خاصة ومكانة جلى كطعام له نوع من القدسية في نفوسهم، وإن رسول الله صلى الله عليه وسلم تصديقاً لما أنزل الله في كتابه أصرّ على كثير ممن راجعه من الصحابة يسألونه الدواء أن يتداووا بالعسل. وفي كتاب القانون في الطب لابن سينا عشرات الوصفات التي يدخل فيها العسل.

فكيف يوصف العسل بكل هذا الوصف لولا ان رأى القدماء بأعينهم النتائج الباهرة للمعالجة بالعسل، و الذي تجلى في الاهتمام الكبير به في العصور الحديثة، فكانت من ثمراتها أن دخلت بعض مركباته كأدوية علاجية و لا زال البحث جاري عن الخصائص العلاجية لمكوناته [59,60].

I.3.3. إنتاج العسل:

من المعروف أنفا أن أصل العسل هو الرحيق المأخوذ من الأزهار.

أ. تعريف الرحيق:

هو عبارة عن سائل سكري تفرزه غدد توجد على عدة أجزاء من الزهرة ويوجد عادة في قاع الزهرة، حيث تقوم الغدد الرحيقية بعملية فسيولوجية معقدة لإنتاج الرحيق وذلك بالمواد التي تزوده بها من عصارة اللحاء.

ب. مكونات الرحيق:

يتركب الرحيق من مايلي:

- حوالي 60% ماء.
- 30- 35% سكر سكروز، فركتوز وجلوكوز ومواد أخرى، وتختلف طبيعة تركيب هذا الأخير إختلافا واضحا وفقا لنوعية النبات.

تتراوح كمية الرحيق في الزهرة ما بين 5 - 1 mg حسب نوع الزهرة، وتتنوع كمية إنتاجه وفقا لإشتراطات معينة نذكر منها:

- للتوقيت دورا مهما في إفراز الرحيق، حيث أنسب وقت لذلك يكون في وسط النهار ونهاية فترة بعد الظهيرة.
- رطوبة الأرض تؤثر بطريقة مباشرة في إنتاج الرحيق ويرجع السبب مبدئيا إلى جذور النباتات التي تمتص الماء من التربة الذي يؤدي بدوره إلى تخفيف السكريات الموجودة في الأنسجة النباتية، كما أن

جفاف التربة يبسط من إنتاج الرحيق، فأنسب وقت لتزايد الرحيق يكون في فترة تساقط الأمطار التي يعقبها جو حار ومشمس [61].

ج. جمع الرحيق:

تشارك في جمع الرحيق مجموعتين من الشغالات الأولى تبحث عن المصادر الغنية بالرحيق وتقوم بجمعه ثم نقله إلى الخلية، أما الثانية فتستقبل هذا الرحيق وتضعه في الأقراص الشمعية الخاصة.

تمتص النحلة الرحيق وتخزنه في معدتها الخاصة بالعسل، حيث تنتقل النحلة من زهرة إلى أخرى دون توقف حتى تكتمل حملتها ثم تعود إلى الخلية محملة بالرحيق. الشكل 7.I.



الشكل 7.I. يوضح نحلة تمتص الرحيق من زهرة الخزام [62].

وفي الخلية تستقبل النحلة نحلة أخرى تتلقى منها الرحيق، وتستعد لزيارة نفس الأزهار بعد أن أصبحت معلومة لديها.

د. تحويل الرحيق إلى عسل:

تقوم النحلة بتحويل الرحيق إلى عسل من خلال القيام بعدة عمليات تحويل معقدة لتركيز المحلول السكري.

أثناء عودة الشغالة إلى الخلية محملة بالرحيق وتحت تأثير أنزيم الأنفرتاز الذي تفرزه الغدد اللعابية للنحلة يتم تحويل السكريات الثنائية إلى أحادية وأنزيم الأميلاز الذي يحول المواد النشوية إلى مواد أبسط تعقيداً وفي الوقت ذاته تنخفض نسبة الرطوبة للعسل بتبخير نسبة كبيرة من ماء الرحيق أثناء هذه الرحلة، وعند وصول الشغالة إلى الخلية تتسلم شغالة الخلية منها الرحيق وتنقله إلى جدار الخلية السداسية، وتقوم بعض الشغالات بتهوية الخلية بإخراج الهواء منها، وخلال ثلاثة أيام يصبح تركيز العسل حوالي 80%

وبتبخير الماء الزائد ينضج العسل فتقوم الشغالات بتغطيته في العيون السداسية بغطاء شمعي و هذا ما يطلق عليه العسل المختوم. الشكل 8.I.



الشكل 8.I. أطر العسل المختوم [63].

4.3.I. تخزين العسل:

يعتبر عسل النحل مادة غذائية قيمة ذات أهمية خاصة نظرا لما يتمتع به من ميزات عديدة، حيث أن أهم ميزة للعسل قدرته على الإحتفاظ بكل صفاته الطبيعية لمئات السنين، ولكن يجب العناية بالعسل عند حفظه خصوصا للتغيرات المناخية العديدة، فمن أهم الطرق والأدوات التي تساعد في حفظ العسل بطريقة صحيحة:

- **أواني الحفظ:** نظرا لإمتصاص العسل للروائح يجب عدم حفظه في أواني ذات روائح سابقة، كما يحفظ العسل في أوعية زجاجية أو فخارية، وذلك لتجنب إتحاد العسل مع المعادن أو الزنك والتي تنتج هذه الأخيرة مواد سامة.
- **الرطوبة:** تزداد نسبة الماء في العسل عند تعرضه للرطوبة، لذا يجب إغلاق الأواني جيدا، فعند إرتفاع نسبة الرطوبة في العسل تؤدي إلى تخمره.
- **الحرارة:** عند إرتفاع درجة الحرارة عن 12°C فإن ذلك يؤدي إلى تحلل الفيتامينات، وكذلك فقدان ما به من إنزيمات.
- **الضوء:** عند تعرض العسل للضوء القوي يفقده المادة الموجودة به والمانعة لتشكيل الكولسترول، وتحلل المادة القاتلة للجراثيم [64].

5.3.I. الخواص الفيزيائية (الظاهرية):

- **اللون:** بالنسبة للون العسل؛ فاللون الأساسي في العسل ناتج عن مكوناته الذائبة من أصل النباتي مفروزة من الرحيق و هي عبارة عن مستخلصات الكلوروفيل و الكاروتين و و غيرها. ويتفاوت لون العسل من الأبيض الشفاف إلى البني الداكن و يتأثر اللون بمصدر الرحيق و فترة التخزين و درجة الحرارة؛ فكلما طالت فترة التخزين و عُرض العسل لحرارة عالية أصبح لون العسل مائلاً للبني أكثر.
- **كثافة العسل النوعية:** تقدر كثافة العسل بحوالي 1.42 و تتأثر كثافة العسل النوعية بنسبة الرطوبة الموجودة فيه تأثراً عكسياً.
- **الرائحة:** تتنوع رائحة العسل وفقاً لمصادر الرحيق، وغالباً ما تقوم شغالة النحل بتجميع الرحيق من مصادر متنوعة لتنتج غالباً عسلاً ذا خليط من هذه الروائح.
- **الطعم:** من الطبيعي أن يتميز العسل بطعم السكر الذي يختلف مذاقه أيضاً وفقاً لمصادر الرحيق.
- **القوام أو اللزوجة:** قد يكون العسل صلباً أو سائلاً، ويتوقف القوام على مقدار ما يحتويه العسل من جلوكوز أو فركتوز، وأيضاً على درجة الحرارة ومحتواه المائي.
- **الأس الهيدروجيني pH:** و يتراوح ما بين 3.2 و 5.5 أي أنه ينتمي إلى الدرجات الحمضية الخفيفة. ودرجة حموضة العسل ترتبط عموماً بمصدره:
 - الأس الهيدروجيني لعسل الأزهار (عسل الرحيق) أقل من 4.
 - الأس الهيدروجيني لعسل الغابات (الندوة العسلية) أكثر من 5.
 - وانخفاض الأس الهيدروجيني للعسل يجعله يتحلل بسهولة. ولذلك فإن عسل الأزهار أكثر حساسية للضوء والحرارة والرطوبة من عسل الغابات.
- **التبلور:** على عكس الشائعات التي تقول بأن العسل الذي يتبلور يكون سيء. فإن تبلور العسل عملية طبيعية. والبلورات الدقيقة علامة جودة ونوعية مرتفعة. وهذا التبلور يرتبط بعوامل عديدة:
 - نسبة السكر: يحدث التبلور بشكل أسرع كلما كانت نسبة الغلوكوز أعلى من 28%.
 - نسبة الماء: العسل بنسبة ماء تتراوح بين 15 و 18% يتمتع بقابلية تبلور ممتازة.
- **التوصيل الكهربائي:** هذا التوصيل مرتبط بمحتوى العسل من المواد المعدنية. [65]

6.3.I. المكونات الأساسية للعسل:

يتكون العسل من أنواع مختلفة من السكريات والتي تمثل النسبة الأكبر، والكثير من الأملاح المعدنية والبروتين، كما يحتوي تقريبا على جميع الأحماض الأمينية المختلفة والفيتامينات والإنزيمات، وبشكل عام:

- 73 - 83 % سكريات.
- 15 - 20 % ماء.
- 0.2 % أحماض عضوية.
- 0.4 % مركبات آزوتية.
- 0.1 % معادن.
- خمائر و إنزيمات مثل الأميلاز و الانفرتاز و غيرها.
- مواد أخرى. [66]

7.3.I. صور عسل النحل:

- **العسل السائل:** وهو عسل النحل الطبيعي الذي أستخلص من الأقراص الشمعية التي خزّن بها، فقد يعامل بالحرارة لتأخير أو منع التبلور.
- **عسل شبه سائل:** وهو عسل النحل الطبيعي السائل، والذي لم يتعرض للحرارة وترك ليتبلور أو يتحبب بدرجة حرارة أقل من 12°C.
- **العسل القشدي:** وهو عسل النحل الطبيعي السائل، الذي يسخن في درجة حرارة 60°C ثم خفضت حرارته إلى 25°C وأضيف له كمية من عسل متبلور، كما يحفظ في درجة حرارة أقل من 4°C حتى يتبلور.
- **العسل الجاف على صورة مسحوق:** خال من الرطوبة، ويمكن إضافة الماء له.
- **أقراص العسل:** هي الطريقة الطبيعية التي يقوم النحل بتخزين العسل بها داخل الخلية، منها أقراص وقطاعات الشمع العسلية، والعسل الذي به شمع.

8.3.I. أنواع العسل:

عسل النحل يختلف باختلاف الرحيق المستمد من أزهار النباتات مع إختلاف أماكنها.

1.8.3.I. حسب مكان النباتات ومسكن النحل:

- **العسل الجبلي:** هو الذي يأتي به النحل من النباتات والأعشاب الجبلية، وهو أرقى وأعلى أنواع العسل.

- **عسل الأشجار:** هو الذي يأتي به النحل من زهور النباتات والزرورع التي يزرعها الإنسان، ولكن مسكنه يكون الأشجار.
- **عسل النحل العادي:** هو الذي يأتي به النحل من زهور النباتات والزرورع التي يزرعها الإنسان، و مسكنه من المناحل التي يصنعها الإنسان له، وهو أقل أنواع العسل جودة .

2.8.3.I. حسب المصدر النباتي:

- **العسل الزهري:** أو الرحيقي، هو العسل الذي ينتج عن عمل النحل على رحيق الأزهار، ويوجد نوعين من العسل:
 - ✓ أحادي الزهرة: وهو ناتج عن نوع رحيق واحد من الأزهار.
 - ✓ متعدد الزهرة: وهو ناتج عن رحيق أزهار نباتات مختلفة.
- **عسل الندوة العسلية:** هو العسل الذي ينتج من عمل النحل على المفرزات السكرية للحشرات الماصة لنسغ النبات أو مفرزات الأجزاء الحية للنباتات، ويعتبر عسل الندوة نوع خاص من العسل شائع في بعض الدول مثل ألمانيا يعرف بعسل الغابة السوداء و عسل مانوكا في نيوزلندا [67]. **الشكل 9.I.**



الشكل 9.I. نحلة تجمع عسل الندوة، [أ]: من إفرازات أشجار الزان و [ب]: من إفرازات حشرة [Aetalion reticulatum] [68-69]

9.3.I. الأهمية الطبية للعسل:

للعسل أهمية طبية كبيرة و هو يساهم في الوقاية و العلاج للعديد من الامراض [70]، من أهم الفوائد الطبية لعسل النحل هي:

- علاج اضطرابات الجهاز الهضمي لأنه مقاوم للتخمير الهضمي من جهة و يزيد من نشاط الأمعاء من جهة أخرى.
- العسل في النظام الغذائي اليومي يساعد تجنب مشاكل فقر الدم [71].
- من الثابت أن النحل يفرز بعض العناصر التي تمنع نمو خلايا حبوب اللقاح الموجودة في العسل و تحول دون انقسامها و التي هي عبارة عن الجامينات المذكورة للنباتات قبل تخزينها. و لهذا يعتقد البعض أن العسل يمكن ان يقي من مرض السرطان [72].
- الوقاية سرطان البروستاتا [73].
- الوقاية من سرطان القولون [74].

الفصل الثاني

المواد و طرق العمل

II. المواد و طرق العمل:**1.II. المواد الكيميائية:**

المواد الكيميائية المستعملة في الجزء العملي كلها تحليلية من انتاج مؤسسات: Alfa Aesar ، Merck ، Biochem Chemopharma ، Sigma-Aldrich.

2.II. الأجهزة:

أثناء إنجازنا هذا العمل تم الاستعانة بالتجهيزات الموجودة على مستوى مخبري : مخبر تكنولوجيا الموارد الصحراوية بجامعة الشهيد حمة لخضر بالوادي، و مخبر تزقية و تثمين الموارد الصحراوية بجامعة قاصدي مرباح بورقلة.

تم إستعمال جهاز المطيافية فوق البنفسجية و المرئية (UV-1800) و جهاز قياس pH و الناقلية و جهاز قياس قرينة الانكسار (Refractometry) للتحاليل الروتينية ، كما تم تقدير السكريات بجهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء نوع (RP-HPLC)، مرفق بمضختين (Pompe A et Pompe B) نوع (LC 20 AL) لنقل الطور المتحرك تحت ضغط ، مرفق ببرنامج تشغيل (LC Solution).

- نوع عمود الفصل (NH₂) ، (250mm x 4.5mm, 5 µm).
- الكاشف أحادي اللون (الأشعة فوق البنفسجية) نوع SPD-20A

3.II. العينات:

تتوزع خلايا تربية النحل التي أخذت منها العينات على اغلب مناطق الجزائر و ذلك مراعات للتنوع المناخي و التضاريسي، فقد تم الحصول على العينات من منطقة الشمال و الغرب و الوسط و الشرق و الجنوب في فترة ممتد بين 2011-2013، في الجدول 1.II. العينات المأخوذة و تاريخ الحصول عليها، علما أن أغلب العينات المدروسة تم أخذها من خلايا تربية النحل تحت إشراف المربين و بعضها تم أستلامها من مربو النحل لتعذر الوقوف على جنيها من الخلايا مباشرة. العينات هي بروبوليس، حبوب لقاح و عسل.

الجدول 1.II. العينات المدروسة و تاريخ جنيها

| العسل | | حبوب اللقاح | | البروبوليس | | | |
|-------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|---------|---|
| تاريخ الجني | رمز العينة | تاريخ الجني | رمز العينة | تاريخ الجني | رمز العينة | المناطق | |
| 2012 | H1 | 2012 | P1 | 2012 | PR1 | تبيازة | 1 |
| 2012 | H2 | 2011 | P2 | 2011 | PR2 | عنابة | 2 |
| 2011 | H3 | 2012 | P3 | 2012 | PR3 | تلمسان | 3 |
| 2011 | H4 | 2011 | P4 | 2012 | PR4 | سطيف | 4 |
| 2012 | H5 | 2013 | P5 | 2012 | PR5 | الوادي | 5 |

4.II. خصائص المناطق التي أخذت العينات منها:

أخذت العينات من مناطق ذات تنوع مناخي و جغرافي، مع مراعات الكثافة السكانية و المحيط الصناعي الذي ربما يؤثر على خلايا النحل و بالتالي منتجاته محل الدراسة.

1.4.II. الجغرافية:

من حيث الجغرافيا و التضاريس فهناك عينات أخذت من خلايا نحل بالسهول و أخرى بالجبال و أخرى بالهضاب و أخرى بالصحراء. يعني تم مسح اغلب أنحاء الجزائر شرق-غرب و شمال-جنوب كما هو موضح على الجدول التالي:

جدول 2.II. أهم خصائص المناطق التي اخذت منها العينات.

| | الجهة | المنطقة | الارتفاع عن سطح البحر | خصائص التربة | الكثافة | تواجد المنشآت الملوثة | النشاط الزراعي | الغطاء الغابي |
|---|--------|---------|-----------------------|--------------|------------|-----------------------|----------------|---------------|
| 1 | الشمال | تبيازة | 110 | رملية صخرية | عالية جدا | منخفض | عالي | كثيف |
| 2 | الشرق | عنابة | 1000-800 | كلسية طينية | متوسطة | عالي | متوسط | عالي |
| 3 | الغرب | تلمسان | 830 | طينية صخرية | متوسطة | عالي | عالي | كثيف |
| 4 | الوسط | سطيف | 1100 | طينية | متوسطة | متوسط | متوسط | كثيف |
| 5 | الجنوب | الوادي | 80-25 | رملية | منخفضة جدا | منخفضة جدا | عالي | خفيف جدا |

جدول 2.II. أعلاه يحوي عدة عوامل تتعلق بالمحيط الذي اخذت منه العينات حيث أن هاته العوامل لها علاقة مباشرة أو غير مباشرة بخلايا النحل و انتاجها، فمثلا المحيط الصناعي أو نوعية التربة نستطيع أن

تكون سبب في خمول خلايا النحل او نشاطها كأن يكثُر النسيج الصناعي و بالتالي زيادة التلوث الذي يؤثر على مصادر عيش النحل، هواء و تربة و ماء، كذا زيادة الكثافة السكانية.

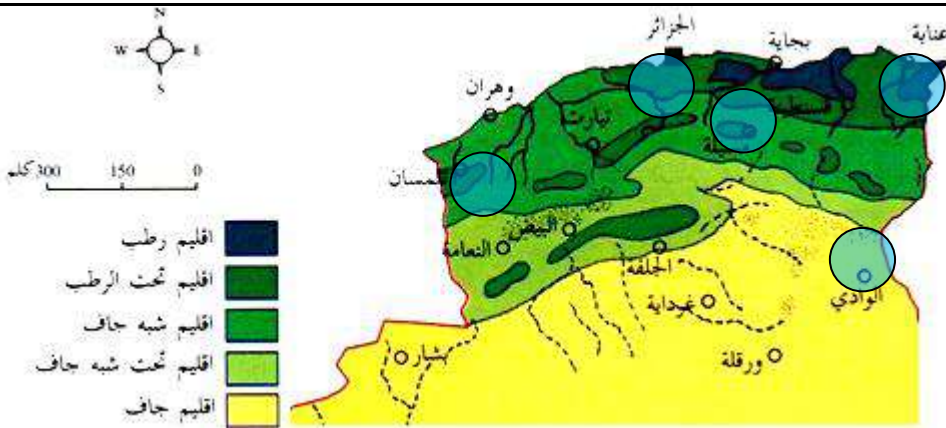
التربة و المناخ يعتبران العاملان الاساسيين المؤثران في الغطاء النباتي و تنوعه فمثلا في المناطق الجافة ذات الحرارة المرتفعة صيفا و التربة الرملية تنمو هناك العديد من النباتات العطرية ذات الخصائص الطبية، حيث تمثل هذه النباتات مصدر رعي مهم للنحل.

أما الغطاء الغابي و الزراعي فكلما زاد الغطاء الغابي زاد من انتاجية و حيوية النحل و العكس صحيح، و قد يكون الغطاء الزراعي عامل سلبي إذا اعتمد على المبيدات الزراعية أي أن أي زيادة فيه هي زيادة للتلوث بالمبيدات الزراعية.

كل تلك العوامل هي مؤشر لبيئة النحل، و ربما يكون النحل أيضا مؤشر لتلك البيئة و هو ما اعتمد رسميا في العديد من دول العالم.

II.2.4. المناخ:

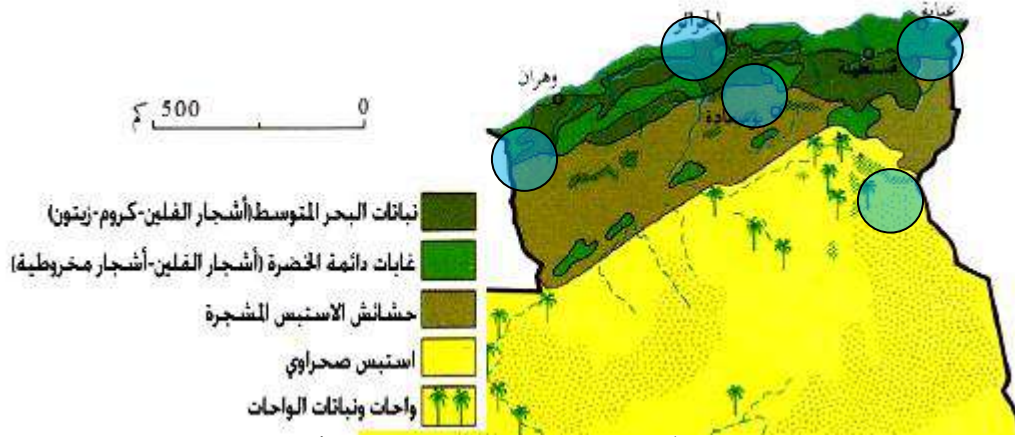
بنتوع الجغرافيا ينتوع المناخ و بالجزائر ثلاث اقاليم مناخية مهمة : رطب، شبه الجاف و الجاف. العينات أخذت من الأقاليم الثلاثة كما هو موضحي الخريطة في الشكل II.1.



الشكل II.1. خريطة الأقاليم المناخية للمناطق التي أخذت منها العينات

II.3.4. الغطاء النباتي:

الغطاء النباتي أهم شيء بالنسبة للنحل، فكلما إزدادت كثافته و تنوعه، زادت منتجات النحل و تنوعت فائدتها. و الشكل II.2. يوضح خريطة الغطاء النباتي للمناطق التي أخذت منها العينات.

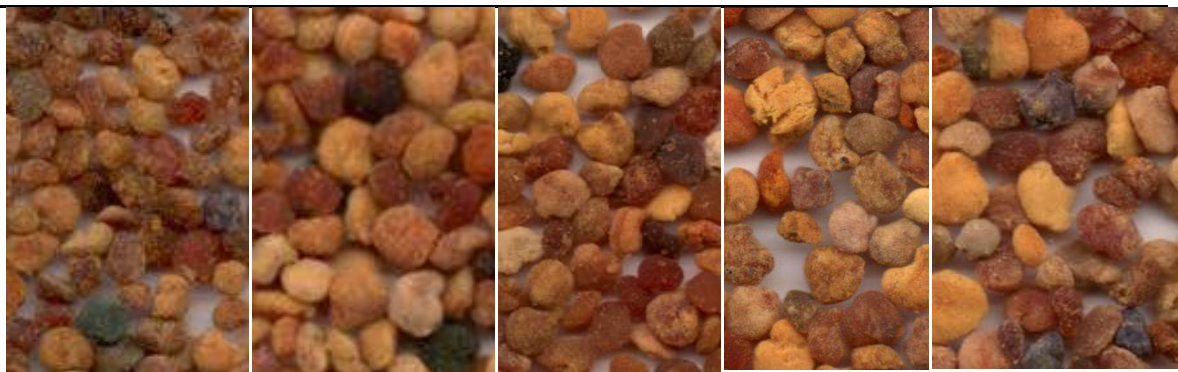


الشكل 2.II. خريطة الغطاء النباتي للمناطق التي أخذت منها العينات

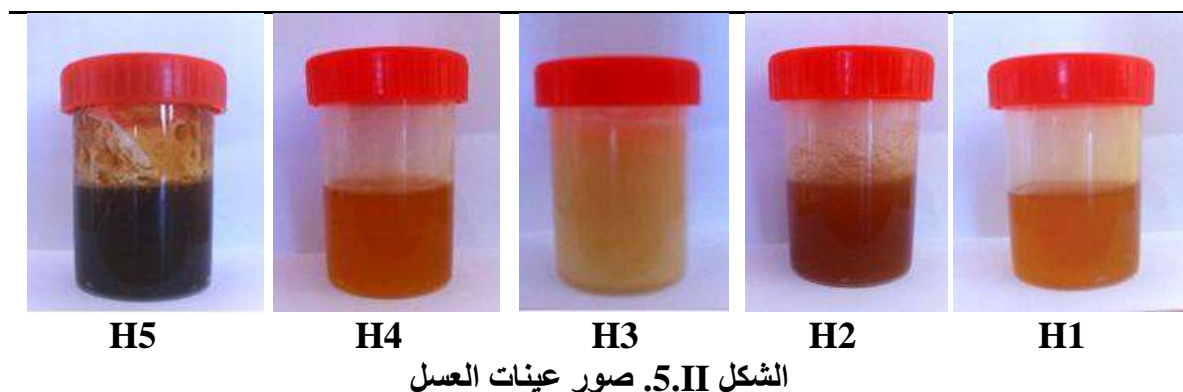
العينات موضحة في الشكل 3.II. و الشكل 4.II. و الشكل 5.II. و هي صور يمكننا ان نتعرف من خلالها على بعض الخصائص الظاهرية.



الشكل 3.II. صور عينات البروبوليس



الشكل 4.II. صور عينات حبوب الفاح



5.II. التقييم الحسي لمنتجات النحل:

يشمل التقييم الحسي لمنتجات النحل، الرائحة، اللون، الطعم و خصائص أخرى ظاهرة كالملمس عند البروبوليس و التجانس عند حبوب اللقاح و التبلور عند العسل [75:76].

6.II. الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للعينات:

تم الكشف عن الخصائص الفيزيائية بثلاث تكرارات لكل عينة وفق الطرق التالية:

1.6.II. تقدير الكثافة:

تعد الكثافة خاصية فيزيائية مهمة، فكثافة العسل تبدي الثقل النوعي وهي أكبر من كثافة الماء، تعتمد هذه الكثافة أيضا على المحتوى المائي للعسل. تبلغ كثافة العسل في المتوسط (1.4g.cm^{-3}) عند درجة حرارة 20°C وتتغير هذه الكثافة عند الخزن غير الجيد أو عند إهمال إحكام غلق الأوعية الحاوية للعسل وخاصة في المناطق الرطبة. إن الكثافة والوزن النوعي للعسل تتناسبان تناسباً عكسياً مع المحتوى الرطوبي للعسل أي أن قيمتها تقل بزيادة المحتوى الرطوبي للعسل والعكس صحيح. تم تقدير الكثافة حسب طريقة (Singh) [77].

2.6.II. تقدير الرطوبة :

رطوبة العسل هو معيار الجودة في العسل الذي يحدد قدرة العسل ليبقى مستقراً ومقاوماً للتلف. تحديد الرطوبة عن طريق جهاز قياس قرينة الأنكسار (Refractometry) لا يعطي محتوى الماء الحقيقي ويعطي قيم أقل من طريقة كارل فيشر. ومع ذلك فهي طريقة سهلة، بسيطة جداً وقابلة للتكرار تستعمل بنجاح حتى الوقت الحاضر [78].

يتم تحديد المحتوى المائي لحبوب اللقاح بالطريقة الوزنية [79].

3.6.II. تقدير الشدة اللونية:

من مواصفات العسل الأخرى أن لونه وطعمه قابل للتغيير، تحت ظروف طبيعية إذا ما حفظ في درجة حرارة غير مناسبة. يتم تحديد الشدة اللونية للعسل بالإعتماد على سلم pfund بعد قياس إمتصاصية الأشعة الضوئية للمحلول العسلي عند طول موجي $\lambda_{max} = 635\text{nm}$.

أخذنا المحاليل المحضرة بتركيز 50% بإذابة كتلة قدرها 2g من العسل في حجم 4ml ماء عالي النقاوة، و بعد مزجها بواسطة جهاز المزج، يتم قياس الشدة اللونية لعينات العسل المدروسة عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 635\text{nm}$ و بتطبيق علاقة التحويل لـ pfund التالية [80]:

$$nm \text{ Pfund} = -38.7 + 371.39 \times Abs$$

4.6.II. قياس الأس الهيدروجيني (pH):

يتم قياس الاس الهيدروجيني الـ pH لمحلول العسل ذو تركيز 20% بواسطة جهاز الـ pH metre و تتم قراءتها مباشرة من الجهاز [78]، نفس العملية تكرر بالنسبة لحبوب اللقاح.

5.6.II. تقدير التوصيل الكهربائي (EC):

تعدّ قيم التوصيل الكهربائي من مؤشرات الجودة في العسل وهي المؤشر الأكثر أهمية والتحليل الأسرع الذي تم اعتماده مؤخراً في قياس جودة الأعسال العالمية، وتدل قيمة التوصيل الكهربائي على المحتوى من أيونات الأملاح السالبة والموجبة والبروتينات، وهو يعتبر معياراً جيداً لتحديد فيما إذا كان العسل تم جمعه من الرحيق أم لا. لذلك اقترحت المواصفات الدولية عام 2000 على إدخال قيمة الـ EC في الاختبارات الروتينية للعسل وأن لا تتجاوز قيمتها عن (0.8 mS.cm^{-1}) .

تقاس التوصيلية الكهربائية عند درجة حرارة 20°C لمحلول العسل بتركيز 10% بواسطة جهاز قياس الناقلية الكهربائية، و ذلك بغمس المسرى داخل المحلول المراد قياسه، حيث تتم قراءتها مباشرة من الجهاز عند ثبات القيمة في درجات حرارة مختلفة [78].

يتم تصحيح قيم الناقلية الكهربائية عند درجة حرارة 20°C وفق العلاقات التالية:

في حالة قياس الناقلية الكهربائية عند درجة حرارة أكبر من 20°C :

$$\lambda_{20} = \lambda_n - (n - 20) \times \lambda_n \times 0.032$$

في حالة قياس الناقلية الكهربائية عند درجة حرارة أقل من 20°C:

$$\lambda_{20} = \lambda_n + (n - 20) \times \lambda_n \times 0.032$$

☞ λ_n : الناقلية الكهربائية عند درجة حرارة n.

6.6.II. تقدير الأحماض الكلية :

تقدر كمية الأحماض الموجودة في العسل و حبوب الطلع بإستعمال القانون التالي بعد معايرتها بمحلول هيدروكسيد الصوديوم.

$$X = \frac{1000 \times C \times V}{m}$$

- C: تركيز محلول هيدروكسيد الصوديوم 0,05N.

- V: حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير.

- m: كتلة العسل الذائبة.

بعد تحضير محاليل العسل و حبوب اللقاح المخففة تتم معايرتها بمحلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH ذو تركيز 0,05N بإستعمال كاشف فينولفتالين، من ثم يتم حساب كمية الأحماض الموجودة في العينات بعد معرفة الحجم اللازم لذلك [81].

7.6.II. تقدير كمية المواد الغير ذائبة:

و هي المواد الصلبة الغير ذوابة في الماء، و تقدر كميتها بالطريقة التي أقرتها اللجنة الدولية للعسل

[82].

8.6.II. تقدير السكريات:

قُدر الغلوكوز والفركتوز والسكروز والمالتوز و بواسطة جهاز HPLC وفق الشروط في الجدول 3.II. يعتمد تقدير السكريات في العينات على إستعمال المنحنيات القياسية للسكريات المراد تقديرها، وذلك بإستخراجها من المعادلات المتحصل عليها من هذه المنحنيات [83].

الجدول 3.II. الشروط المطبقة في جهاز (HPLC) لفصل السكريات المدروسة.

| | |
|---------------------------------------------|------------------|
| المزيج من (80% أسيتونتريل و 20% ماء) | الطور المتحرك |
| (NH ₂) ، (250mm x 4.5mm, 5 μm). | العمود |
| UV-Visibl | الكاشف |
| 1ml/min | معدل التدفق |
| λ = 190 nm | طول الموجة |
| 30 min | الزمن |
| 35 °C | درجة حرارة الفرن |
| 20 μl | حجم الحقنة |

تم الحصول على مجموعة من المنحنيات الكروماتوغرافية الخاصة بكل سكر، حيث أن كل سكر يتميز بزمن إستبقاء ومساحة عيارية، كما يتميز بها أي مركب تم فصله بجهاز HPLC، ف:

- ✓ زمن الإستبقاء T_R : هو الزمن اللازم لخروج المركب من عمود الفصل و وصوله إلى الكاشف حيث لكل مركب زمن بقاء يميزه عن غيره ومنه يتم التحديد النوعي.
- ✓ المساحة العيارية A : وهي مساحة القمة الناتجة عن المركب والتي يتم تحديدها من قبل الكاشف، ومنها يتم التحديد الكمي.

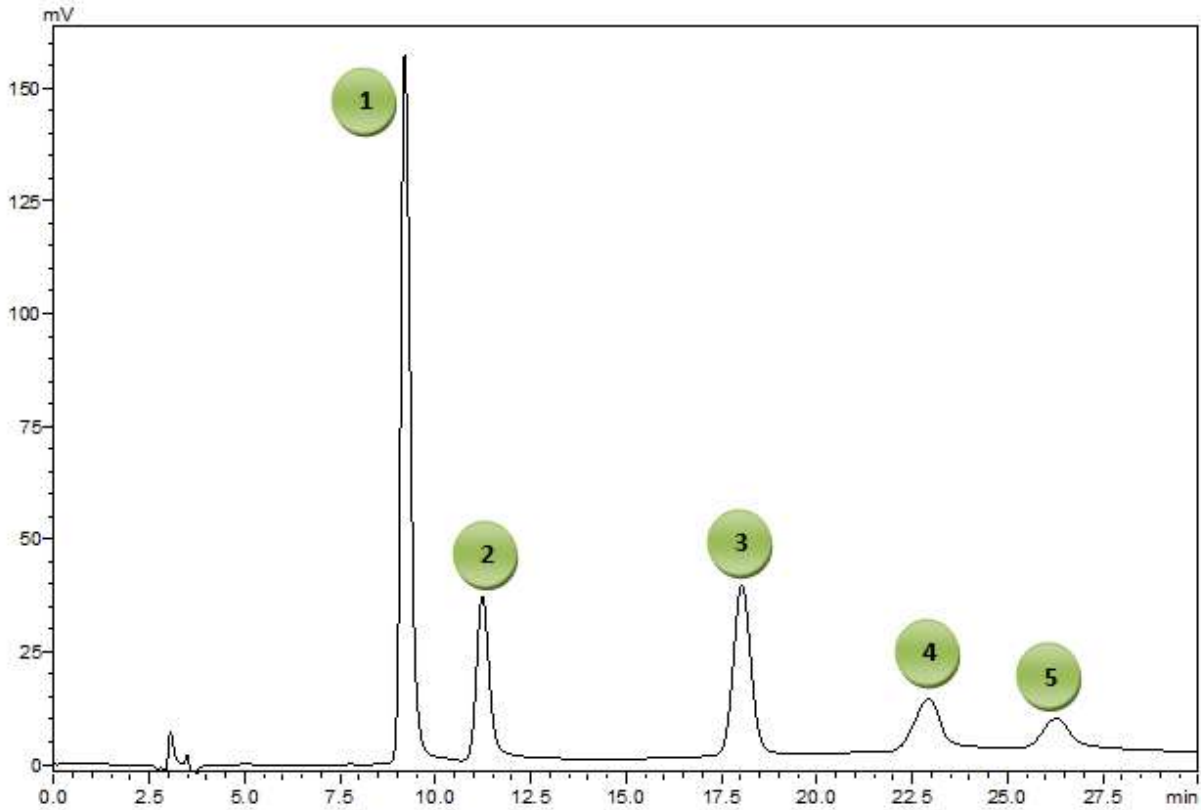
في الجدول 4.II. نلخص زمن استبقاء كل سكر من عمود الفصل على حدى:

الجدول 4.II. زمن استبقاء السكريات المدروسة.

| 4 | 3 | 2 | 1 | نوع السكر |
|----------|---------|----------|----------|------------------------|
| المالتوز | السكروز | الغلوكوز | الفركتوز | زمن الخروج T_R (min) |
| 22.695 | 17.974 | 11.206 | 9.183 | |

1.8.6.II. تمثيل المنحنيات القياسية:

تم تحضير مزيج للفركتوز، للغلوكوز، للسكروز، و المالتوز ، و بعد ضبط الجهاز بنفس الشروط السابقة تم حقن هذه المحاليل السكرية المخففة على التوالي من الأصغر إلى الأكبر في جهاز HPLC.



الشكل 6.II. الكروماتوغرام الممثل للسكريات المدروسة.

من الشكل 6.II. نلاحظ خروج السكريات الأحادية قبل الثنائية و هذا راجع إلى الوزن الجزيئي المتفاوت بينهما، حيث يعتبر الوزن الجزيئي عاملاً مهماً جداً في تحديد عملية الفصل لذا فإن المركب القطبي ذا الوزن الجزيئي الكبير سيتحرك خلال العمود بصورة أبطأ من مركب قطبي وزنه الجزيئي صغير، كما أن خروج الفركتوز قبل الجلوكوز راجع إلى الوظيفة الألدهيدية التي تكون أكثر قطبية من الوظيفة الكيتونية.

2.8.6.II. تقدير السكريات في العسل و حبوب اللقاح:

تم تحضير محاليل مختلفة لعينات العسل بتركيز 0,1g/ml، و حبوب اللقاح بتركيز 0,2g/ml حيث تم ترشيح هذه الأخيرة للتخلص من الشوائب، بعدها تم حقن هذه المحاليل في جهاز HPLC مع الحفاظ على نفس الشروط السابقة، من ثم تم الحصول على مجموعة من المنحنيات الكروماتوغرافية التي تم من خلالها حساب تركيز السكريات المدروسة في العينات وذلك بالإسقاط على المنحنيات القياسية.

9.6.II. تقدير كمية البروتينات:

مصدر البروتينات في العسل هو الرحيق وحبوب اللقاح أو الغذاء الملكي الذي قد يضاف للعسل عند اشتراك الشغالات في إنتاجه، وكلما زادت نسبة البروتين في العسل زادت نسبة جودته، وارتفعت قيمته الغذائية، وحسنت صفاته.

يتم تقدير كمية البروتينات في العسل وحبوب اللقاح تبعاً لطريقة (Lowry) [84]، والتي تعتمد على استعمال الألبومين كمحلول قياسي عند الطول الموجي $\lambda_{\max} = 750\text{nm}$.

قبل تحضير المنحنى القياسي للألبومين، تم أولاً تحضير المحاليل التالية:

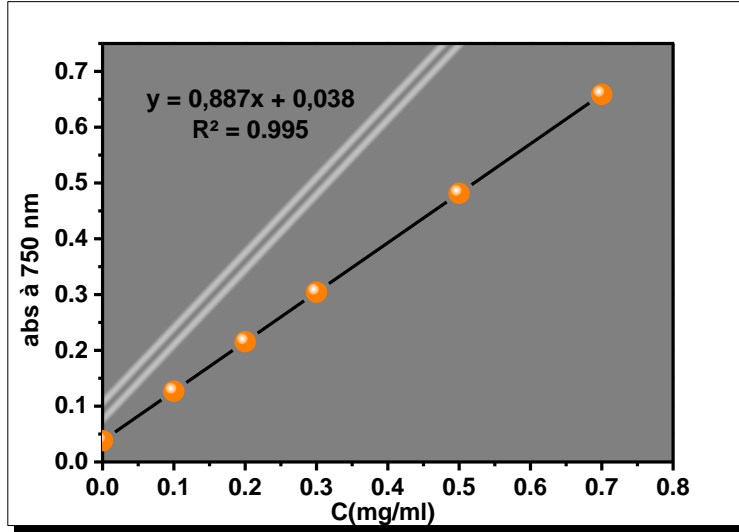
- المحلول (A): تم إذابة 1g من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 في 50ml من (0,1N) NaOH.
- المحلول (B): مزج كل من المحلولين كبريتات النحاس $(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O})$ (50%) وسيترات الصوديوم (0,1%).
- المحلول (C): تمديد محلول الفولين (Réactif de Folin-ciocalteai) بأخذ 4,1ml من كاشف الفولين ذو تركيز (0,2N) مع 4,1ml ماء عالي النقاوة.
- المحلول (D): مزج 50ml من المحلول (A) مع 1ml المحلول (B).

1.9.6.II. المنحنى القياسي للألبومين:

ويتم ذلك عملياً بتحضير محاليل بتركيزات مختلفة للألبومين تكون محصورة ما بين $(1-0)\text{mg/ml}$ ، ثم بإضافة 2ml من المحلول (D) و 0,2ml من المحلول (C) لكل 200 μl من التراكيز المحضرة، تتم قراءة الإمتصاصية الضوئية عند الطول الموجي $\lambda_{\max} = 750\text{nm}$.

و نتحصل على المنحنى القياسي للألبومين برسم تغير الإمتصاصية الضوئية بدلالة التركيز $A=f(C)$ ،

الشكل 7.II.



الشكل 7.II. المنحنى القياسي للألبومين

2.9.6.II. حساب كمية البروتينات في العينات:

بعد تحضير محاليل العسل و حبوب الطلع بتركيز 1%، يتم إضافة 2ml من المحلول (D) لكل 200µl من المحاليل المحضرة كما و يتم مزجها من أجل التجانس، تترك هذه الأخيرة في الظلام لمدة 10 min، و بعد ذلك يضاف لها 200 µl من المحلول (C) و تترك كذلك في الظلام لمدة 30min، تتم قراءة الإمتصاصية الضوئية عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 750nm$.

و يستخدم المنحنى القياسي للألبومين في حساب تركيز البروتينات في العينات بعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لها.

10.6.II. تقدير كمية الليبيدات:

تم تقدير الليبيدات بإستعمال تركيب سوكسلي وفق طريقة (Puker) [85-86].

7.II. التحليل الاحصائي:

التحليل الاحصائي تم ببرنامج XL-STAT ، حيث تم تصنيف العينات و ميزاتها بالطرق التالية:

1. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA) Principal Component Analysis
2. طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC) Agglomerative Hierarchical Clustering

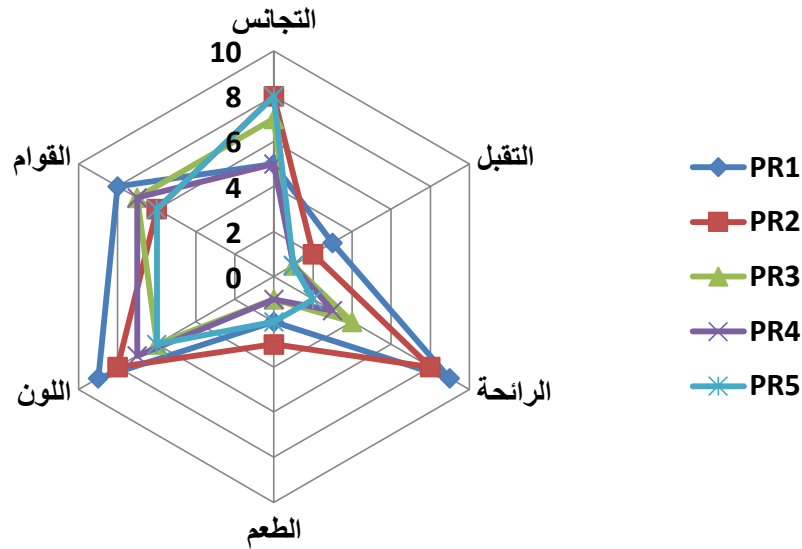
الفصل الثالث

النتائج و المناقشة

III.النتائج و المناقشة:

1.III.التقييم الحسي لمنتجات النحل:

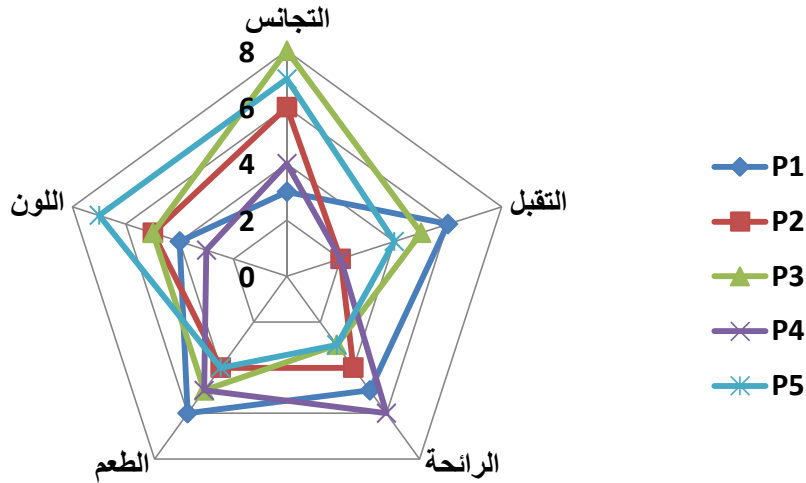
تم تمثيل نتائج التقييم الحسي وفق المنحنى الشبكي [87،88]، وقد أعطيت الدرجات الحسية لكل صفة كما في الشكل III.1. و الشكل III.2. و الشكل III.3.



الشكل III.1. التقييم الحسي للبربوليس.

من الملاحظ في الشكل III.1. أن عينات البربوليس تكاد تكون متقاربة في الخصائص الحسية المدروسة فالطعم و درجة التقبل ضعيفة جدا و هذا مؤشر على أن البربوليس لا يمكن إستهلاكه بحالته الخام لذلك ينصح بمزجه بإضافات تجعله قابل للاستهلاك كإضافته للعسل و غيره، كما نلاحظ أن هناك فروق معتبرة في قوة الرائحة أي عطرية العينات فالعينتين PR1 و PR2 أكثر عطرية من باقي العينات.

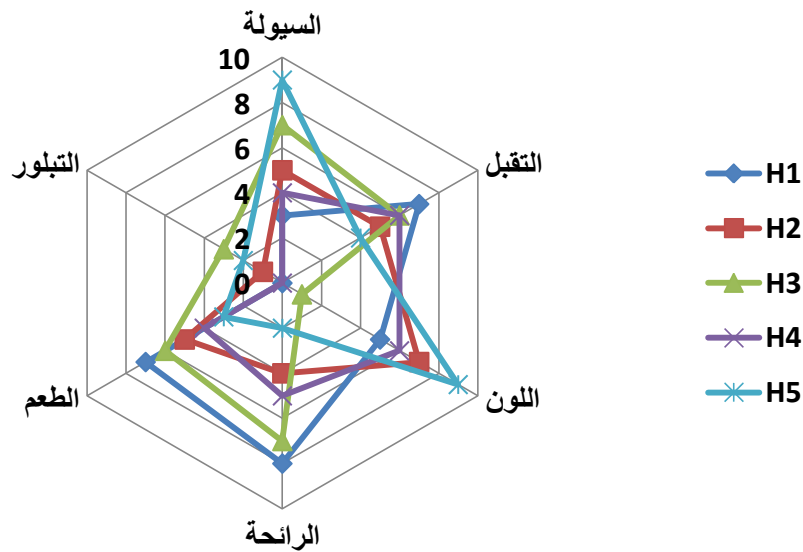
يمكننا من خلال الدرجات الحسية ترتيب العينات وفق لمجموع الدرجات، فمجموع درجات العينات هي 36، 35، 26، 25، 24 درجة للعينات PR1،PR2،PR3،PR5،PR4 على التوالي، يعكس هذا الترتيب جودة و نوعية البربوليس المدروس.



الشكل 2.III. التقييم الحسي لحبوب اللقاح

من الملاحظ في الشكل 2.III. أن عينات حبوب اللقاح متفاوتة في الخصائص الحسية المدروسة فالطعم و درجة التقبل من متوسطة الى مقبولة و هذا مؤشر على أن حبوب اللقاح يمكن إستهلاكه بحالته الخام أو بإضافات تجعله أكثر تقبلا للإستهلاك، أما الرائحة فهي عطرية متوسطة لأغلب العينات، كما نلاحظ أن هناك فروق معتبرة في تجانس و لون العينات فمن أكثر العينات تجانسا هي P3 تليها P5.

مجموع درجات العينات هي 26، 25، 24، 21، 20 درجة للعينات P3، P5، P1، P2، P4 على التوالي، يعكس هذا الترتيب جودة و نوعية حبوب اللقاح المدروس.



الشكل 3.III. التقييم الحسي للعسل

من الملاحظ في الشكل III.3. أن عينات العسل متفاوتة في الخصائص الحسية المدروسة فالطعم و درجة التقبل من مقبولة الى جيدة ، أما الرائحة فهي عطرية متوسطة الى جيدة ، كما نلاحظ أن درجة تبلور العينات ضعيفة جدا، بعكس القوام فهو أكثر سيولة خاصة العينات P5 تليها P3.

مجموع درجات العينات هي 30، 30، 29، 27، 25 درجة للعينات H4،H2،H5،H3،H1 على التوالي، يعكس هذا الترتيب جودة و نوعية العسل المدروس.

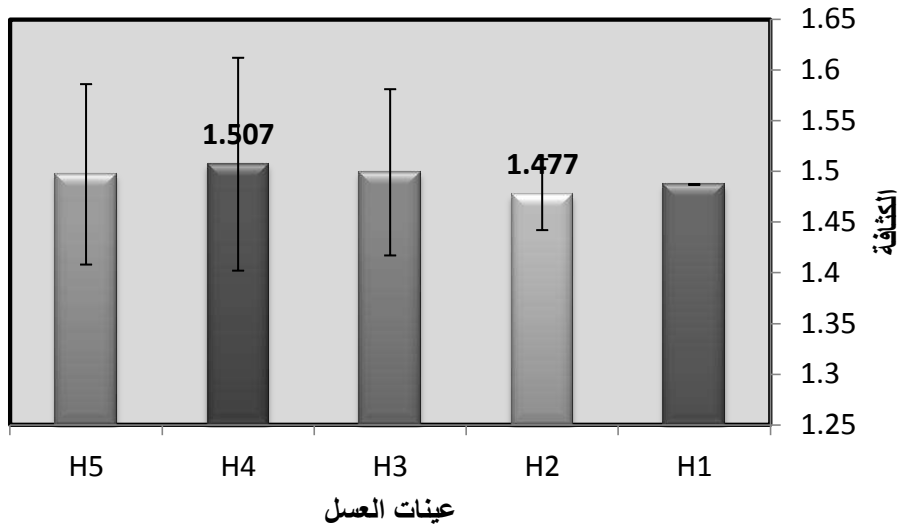
التقييم الحسي للعينات المدروسة يمكننا من تحديد مدى قابلية العينات للإستعمال المباشر أو غير المباشر، كما يُمكن من خلاله تصنيف منتجات النحل محليا و دوليا، هذا مع ملاحظة ان النتائج المتحصل عليها كانت قريبة و تشابه الكثير من الدراسات، خاصة الدراسات المتعلقة بمنتجات النحل الاوروبية [175].

كخلاصة لنتائج التقييم الحسي يمكن أن نصنف بربوليس تيبازة كأحسن و اجود بروبوليس ضمن العينات المدروسة، و حبوب لقاح منطقة تلمسان كأحسن منتج ضمن عينات حبوب اللقاح، و عيني عسل تيبازة و تلمسان أجود عينات العسل المدروسة.

III.2. الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للعينات:

III.1.2. تقدير الكثافة:

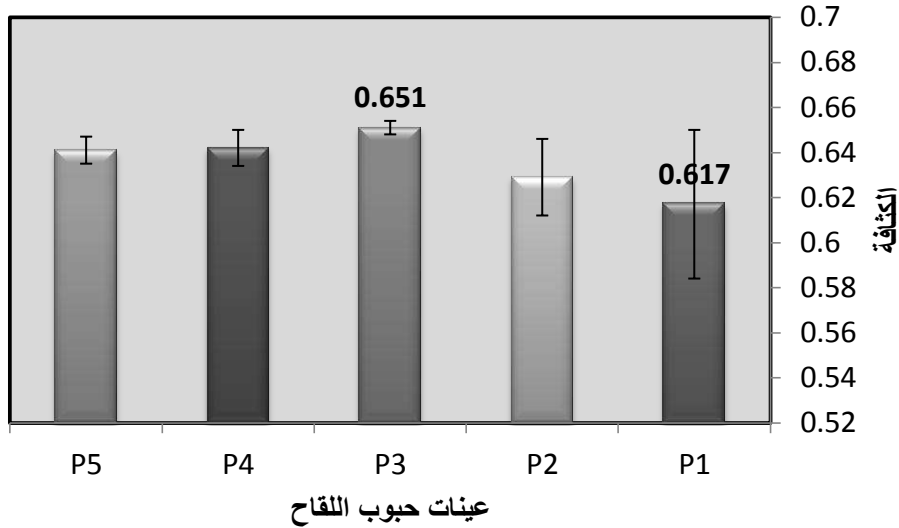
العسل: تعتبر الكثافة مؤشر مهم لجودة و نوعية العسل، فهي من العوامل التي يتم على أساسها تصنيفه، الملاحظ من خلال التمثيل البياني الشكل III.4. أن كثافة عينات العسل المدروس تتراوح بين $[1.477-1.507]^3$ و هي قيم متقاربة الى حد ما و تتوافق مع نتائج عدة دراسات، مثل نتائج العسل الباكستاني التي تراوحت كثافته بين $[1.401-1.460 \text{ g.cm}^{-3}]$ [189]، كما تعد كثافة العينات المدروسة أكبر من كثافة عينات نيجيريا التي تتراوح بين $[1.17-1.410 \text{ g.cm}^{-3}]$ [190] و عينات أثيوبيا و ليبيا التي لم تتجاوز 1.42 g.cm^{-3} [191-92]، و هي بالمقابل أقل من عينات الهند التي تجاوزت 1.560 g.cm^{-3} [193].



الشكل 4.III. التمثيل البياني لكثافة العسل

لا ارتفاع كثافة العسل دلالة على نضجه، فكلما كانت الكثافة عالية كان العسل أنضج، يمكن أيضا ربط النتائج المتحصل عليها بالمناخ السائد، في الشكل.00. كثافة عسل المناطق الداخلية H3 و H4 و H5 أكبر من المناطق الساحلية H1 و H2، لأنه من المعروف أن الرطوبة في المناطق الساحلية أعلى من الداخلية و بالتالي تؤثر على رطوبة العسل التي كلما ارتفعت نقصت الكثافة.

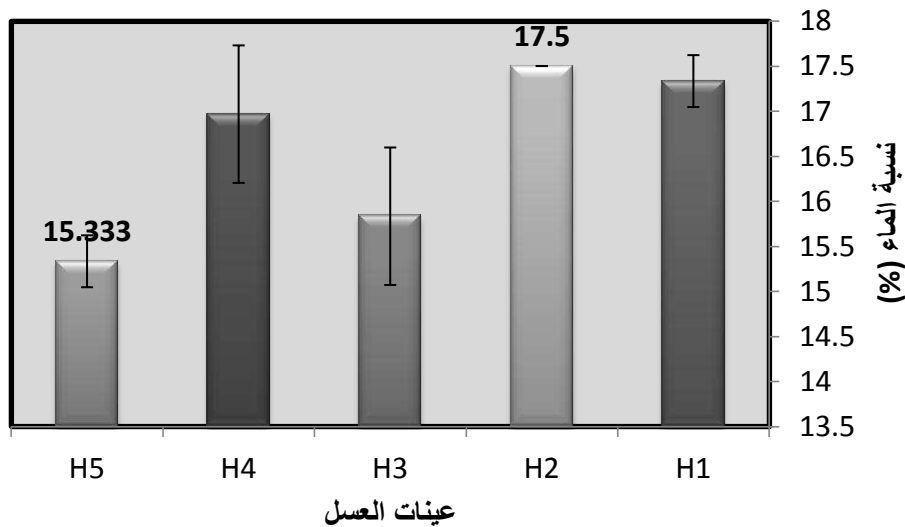
حبوب اللقاح: يمكن أن تكون الكثافة الظاهرية لحبوب اللقاح معيار لتصنيفه، فالكثافة هنا لها عدة دلالات منها محتوى البروتينات و السكريات، فكلما ارتفعت نسبة السكريات زادت كثافة حبوب اللقاح، كذا الرطوبة. من الملاحظ في الشكل 5.III. أن الكثافة الظاهرية لحبوب اللقاح المدروسة تتراوح بين $[-0.654 \text{ g.cm}^{-3}$ و $0.617]$ و هي قيم متقاربة عموما.



الشكل 5.III. التمثيل البياني لكثافة حبوب اللقاح

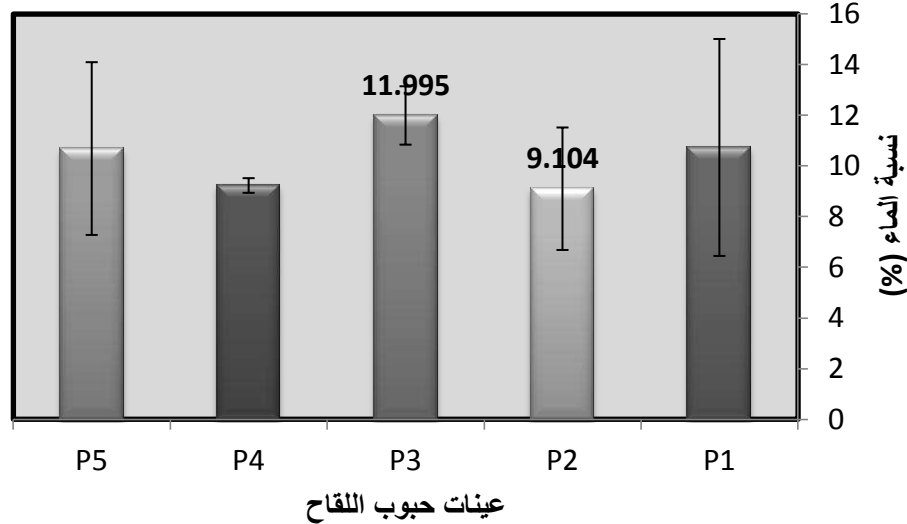
2.2.III. تقدير الرطوبة:

العسل: تتراوح الرطوبة في العسل المدروس بين [15.33-17.5%] و هي قيم أقل من القيم الحدية التي حددتها منظومة الدستور الغذائي و هي أن تكون الرطوبة أقل من 20% [94]، النتائج في الشكل 6.III. موافقة و قريبة مما وجده الباحث (Akbulut) بالنسبة للعسل التركي و المتراوحة بين [15.08-16.9%] [95]، كما أن النتائج المتحصل عليها كانت أكبر من قيم الرطوبة التي تحصل عليها الباحث (Khalil) المتراوحة بين [11.59-14.13%] و هي لبعض أنواع العسل الجزائري، يعود الاختلاف في نسبة الرطوبة الى عوامل عديدة منها مناخ المنطقة، و موسم جني العسل، و درجة نضجه، و ظروف تخزينه [96].



الشكل 6.III. التمثيل البياني لنسبة المحتوى المائي لعينات العسل

حبوب اللقاح: في الشكل 7.III. من الواضح أن نسبة الماء أو الرطوبة متوافقة مع الكثير من الدراسات السابقة إضافة أن قيمها متقاربة حيث كانت العينة P1 أكثر رطوبة من العينات الأخرى بقيمة 10.73% ، أما أقلها رطوبة فهي العينة P2 برطوبة 9.1%، و هي قيم متوافقة مع ما وجده الباحث (Campos) حيث كانت الرطوبة 10% بالنسبة لحبوب اللقاح البلغارية و 8% لحبوب اللقاح الإرجواي [48].

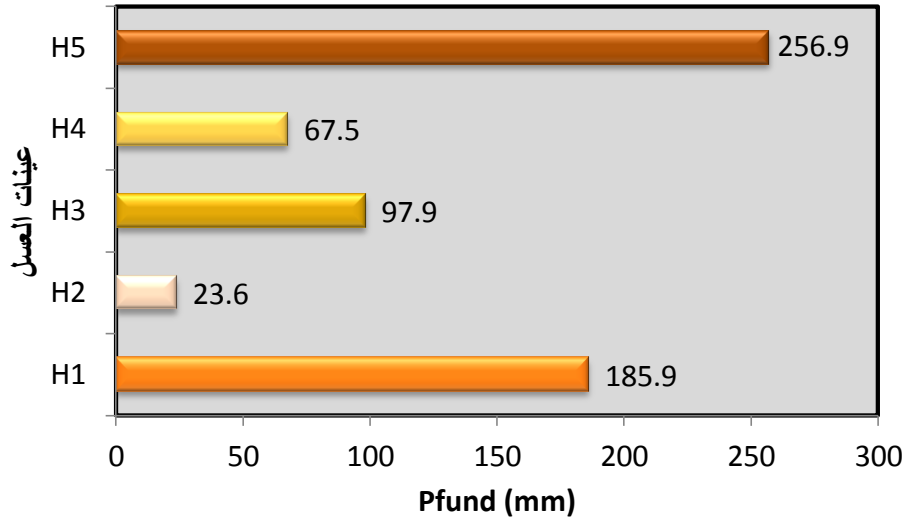


الشكل 7.III. التمثيل البياني لنسبة المحتوى المائي لعينات حبوب اللقاح

3.2.III. تقدير الشدة اللونية:

يعتبر اللون احد المعايير الدولية لتصنيف العسل، فلون العسل يعكس الصفات الطبيعية التي تنقل إليه من رحيق الأزهار مثل الكاروتين والكلوروفيل والزانثوفيل. والعسل الفاتح في أغلب الاحيان يكون ذا قيمة غذائية أعلى من العسل الغامق الذي ربما اكتسب لونه نتيجة قدم الصناديق و الاطر او طرق الاستخلاص او ظروف التخزين من الملاحظ في الشكل 8.III. تنوع و إختلاف ألوان العينات بين الابيض المائي و الاصفر الداكن، فالعينتان H1 و H5 حسب التصنيف هما ذا لون أصفر داكن (Dark amber) لأن الشدة اللونية لهما أكبر من 114mm، أما العينة H3 فذات لون أصفر (Amber) لأن الشدة اللونية لها محصورة بين [85-114mm]، أما العينة H4 فهي ذات لون أصفر فاتح (Light amber) لان الشدة اللونية محصورة بين [50-85mm]، العينة الاخيرة H2 ذات لون أبيض (White) لان الشدة اللونية محصورة بين [34mm-17] [97]، يعود الاختلاف الى التنوع الجغرافي و المناخى للعينات المدروسة.

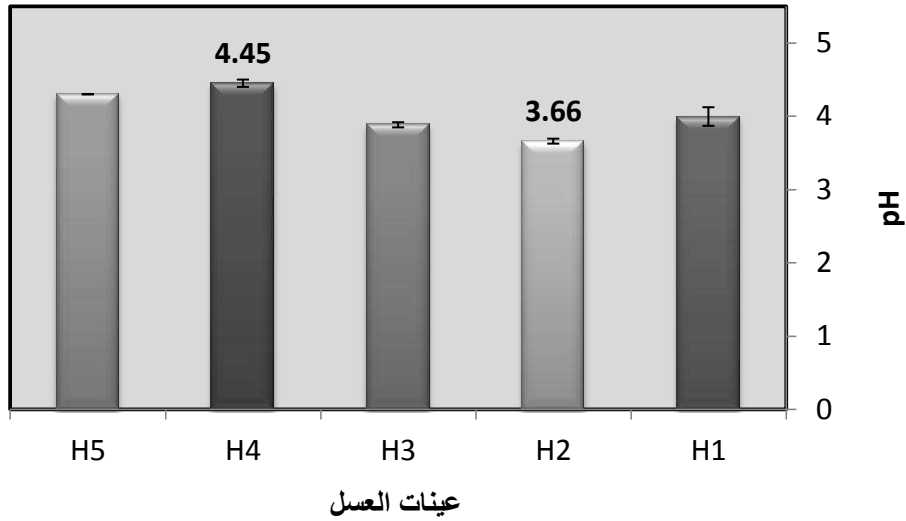
نتائج الشدة اللونية تتوافق مع الدراسات السابقة على العسل الجزائري حيث تراوحت بين [107-150mm] أي بين اللون الاصفر الداكن و الاصفر (Dark amber-amber) لعسل العاصمة [96]، و تراوحت بين [27-92mm] أي بين اللون الاصفر و الابيض (Amber- White) لمنطقة المدية [98].



الشكل 8.III. التمثيل البياني لقيم الشدة اللونية على سلم Pfund واللون الموافق لعينات العسل

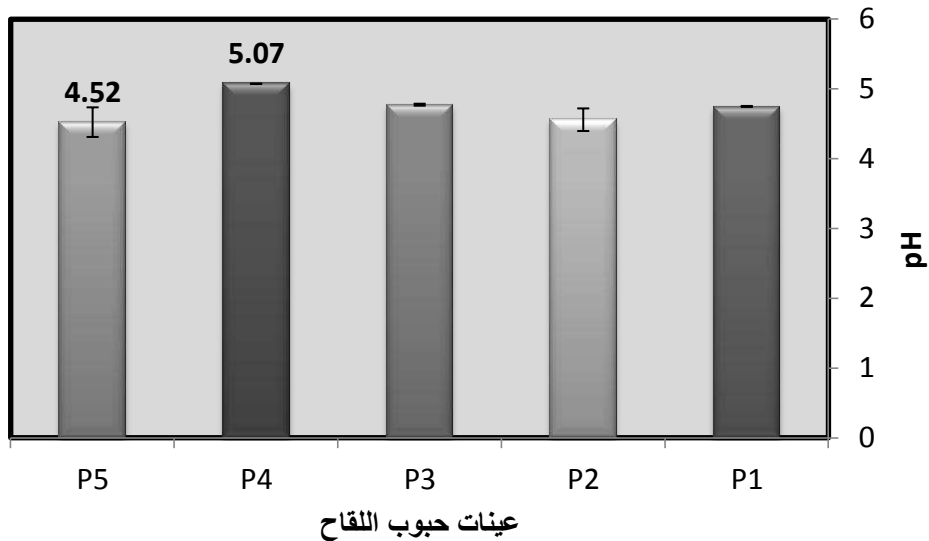
4.2.III. قياس الأس الهيدروجيني (pH):

العسل: يعتبر العسل من المواد الطبيعية ذات الحموضة المتوسطة، حيث يرتبط الأس الهيدروجيني به بكمية الاحماض العضوية التي يحتويها، من الواضح في الشكل 9.III. أن العينات المدروسة تتراوح فيها قيمة الأس الهيدروجيني بين 4.45 للينة H4 و 3.66 للينة H3، و هي قيم متقاربة مع نتائج دراسات سابقة للمدن الساحلية و الشرقية للجزائر حيث تراوحت بين [3.74-5.54] و ايضا نتائج عينات الغرب الجزائري التي تراوحت بين [4.00-4.60] [99]، و النتائج مقارنة لنتائج العسل الهندي و البرازيلي و اسباني و التركي [93-95]، و هي أكبر من قيم الاس الهيدروجيني لعسل نيجيريا [100].



الشكل 9.III. التمثيل البياني للأس الهيدروجيني للعسل

حبوب اللقاح: يعتبر الاس الهيدروجيني معيار مهم لتصنيف حبوب اللقاح فهو دليل على مقدار الاحماض و المعادن في فيها، الاس الهيدروجيني للعينات المدروسة تراوح بين [4.52-5.07] كما في الشكل 10.III. و هي نتائج قريبة من نتائج دراسات سابقة حيث تروح الاس الهيدروجيني فيها بين [4.1-5.9] لحبوب اللقاح الامريكية [101-102]، كذلك تراوح الاس الهيدروجيني لحبوب اللقاح البرتغالية بين [4.3-5.2] [103].

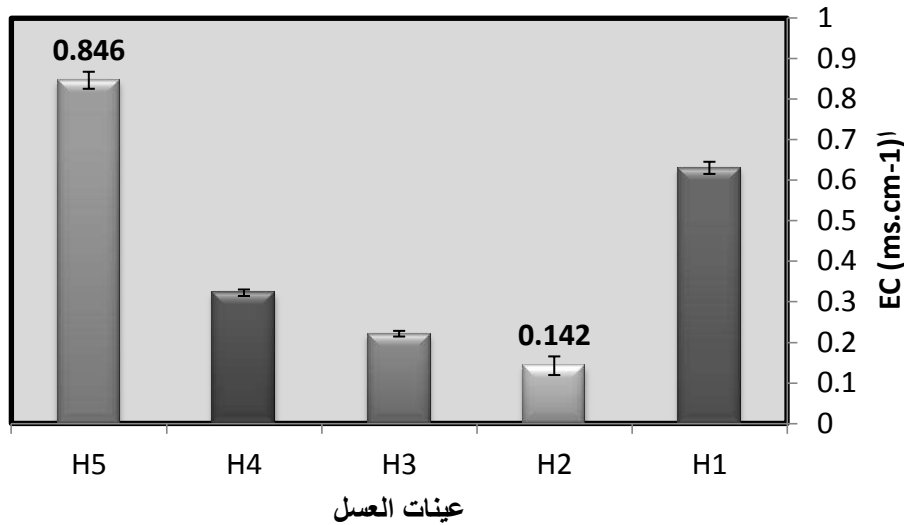


الشكل 10.III. التمثيل البياني للأس الهيدروجيني لحبوب اللقاح

5.2.III. تقدير التوصيل الكهربائي (EC):

يعتبر التوصيل الكهربائي معيار جودة هام في عسل النحل لتحديد أصله النباتي، هذا المقياس يعتمد على محتوى العسل من المعادن و الاحماض، فكلما زاد محتوى العسل من المعادن و الاحماض زاد توصيله الكهربائي. و نجد أن عسل الأزهار يحتوي على معادن أقل من عسل الندوة.

الملاحظ في الشكل 11.III. أن التوصيل الكهربائي لعينات العسل المدروس تتراوح بين [0.142-0.846 mS.cm⁻¹] و هي قيم متميزة جدا خاصة قيمة العينة H5 التي تجاوزت 0.8 mS.cm⁻¹ حيث تشير المعايير و الدراسات السابقة أن العسل الذي تتجاوز فيه الناقلية الحد السابق يعتبر عسل ندوة، لان عسل الندوة معروف بارتفاع نسبة المعادن و الاحماض و ذلك راجع لأصله النباتي، هذه النتائج تتوافق مع نتائج الدراسة التي أجرتها (Amri) على عينات سكيكدة، عنابة، سوق أهراس، قالمة و تبسة و التي تراوحت بين [0.147-1.050 mS.cm⁻¹] [104]، كما أظهرت دراسة أخرى لعينات من منطقة عنابة أنها لم تتجاوز 0.41 mS.cm⁻¹ [105]، و اخرى لعينات العاصمة تجاوزت 0.806 mS.cm⁻¹ [96].

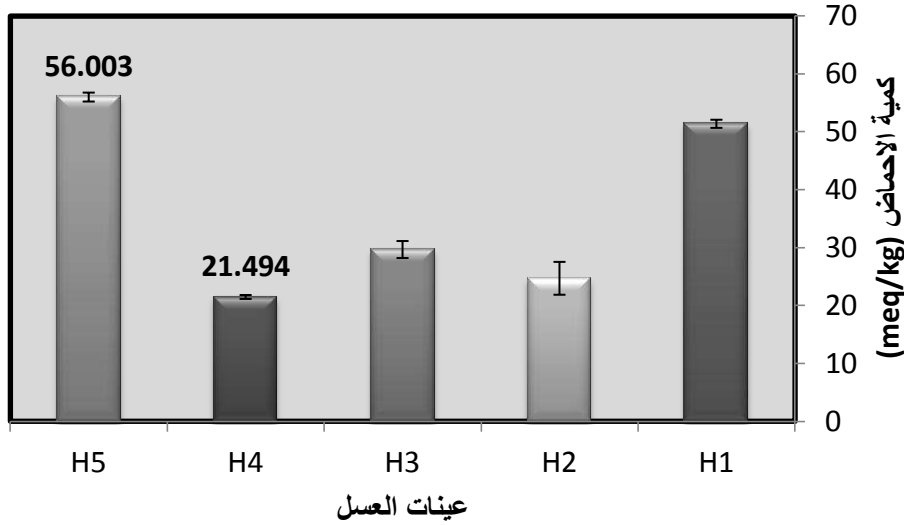


الشكل 11.III. التمثيل البياني للناقلية الكهربائية للعسل

6.2.III. تقدير الاحماض الكلية:

العسل: يحتوي عسل النحل العديد من الأحماض العضوية والمعدنية والأمينية، وبالرغم من أن هذه الأحماض تمثل نسبة ضئيلة جداً في تركيب العسل إلا أن لها تأثير على الطعم، كما تعد كمية الاحماض معيار لتحديد و تصنيف أنواع العسل، في الشكل 12.III. تراوحت كمية الاحماض في العينات المدروسة بين [21.494-56.003 meq/kg] و هي قريبة من نتائج الدراسات السابقة لعسل الشرق الجزائري التي تراوحت بين [34.363-54.317 meq/kg] [104]، كما انها اكبر من كمية الاحماض في العسل التركي و

الايروبي التي تراوحت بين [16.41-26.2 meq/kg] و بين [16.23-18.2 meq/kg] على التوالي [106,107]

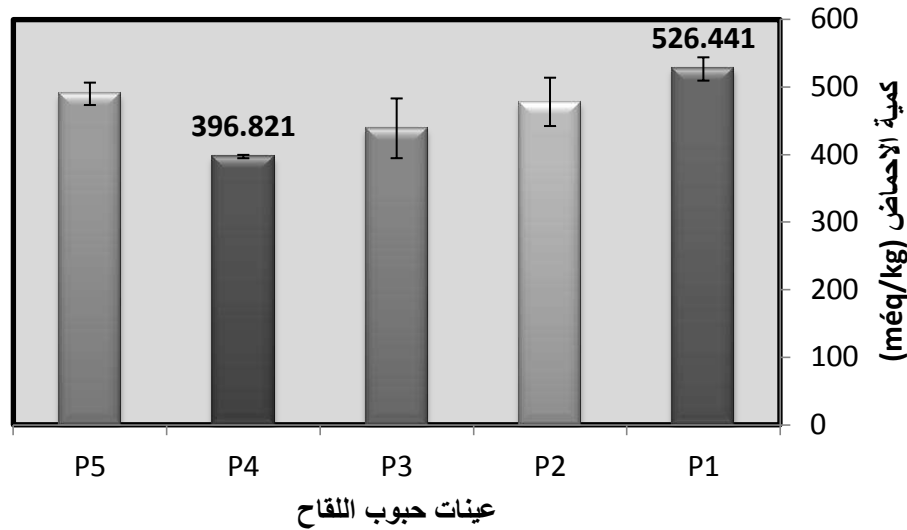


الشكل 12.III. التمثيل البياني لكمية الاحماض الكلية في العسل

نلاحظ أيضا أن العينتان H5 و H1 قد تجاوزتا القيم الحدية المقررة من منظمة الدستور الغذائي (CODEX) و منظمة الغذاء العالمي (FAO) و هي 50 meq/kg، و هو مؤشر سلبي للعينتان من حيث النوعية [108].

حبوب اللقاح:

تعتبر كمية الاحماض في حبوب اللقاح معيار مهم أيضا شأنها شأن العسل لكنه أقل أهمية لذلك لم تجعله منظمة الدستور الغذائي و لا منظمة الغذاء العالمي ضمن المعايير و لم تحدد له قيم حدية، مع ذلك قامت بعض الدول بجعله معيار مهم لتصنيف حبوب اللقاح حيث جعلت البرازيل له قيمة حدية هي 300 meq/kg [109].

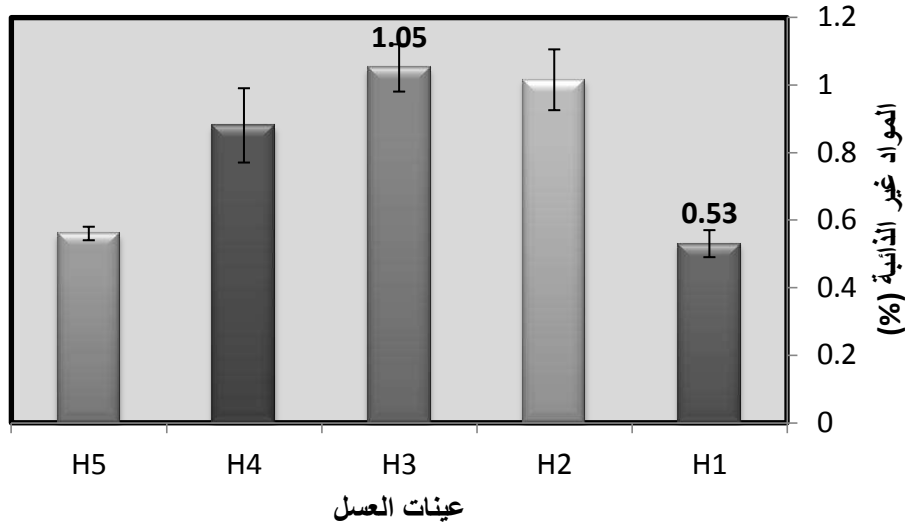


الشكل 13.III. التمثيل البياني لكمية الاحماض الكلية في عينات حبوب اللقاح

الملاحظ في الشكل 13.III. أن كمية الاحماض في حبوب اللقاح مرتفعة نسبيا حيث تتراوح بين [396.821-526.441 meq/kg] و القيم كلها تفوق القيمة الحدية التي وضعتها البرازيل، و هي أيضا أكبر بكثير من قيم دراسة سابقة حول حبوب لقاح شمال البرازيل حيث لم تتجاوز كمية الاحماض بالعينات 165.0 meq/kg^[110]، يرجع الاختلاف في كمية الاحماض الى إختلاف المراعي التي تتوزع في مناطق جغرافية مختلفة نباتيا و مناخيا.

7.2.III. تقدير كمية المواد الغير ذائبة:

العسل: تعتبر كمية المواد الصلبة الغير ذائبة في العسل معيار مهم لتصنيفه، في العادة يكون مصدر المواد الصلبة الغير ذائبة هي شوائب و التي تكون في معظمها حبوب اللقاح، او شوائب ناتجة عن عدم احترام طرق استخلاص العسل من الأطر، و قد حددت منظمة الدستور الغذائي (CODEX) القيمة الحدية لكمية المواد غير الصلبة بـ 0.1%.

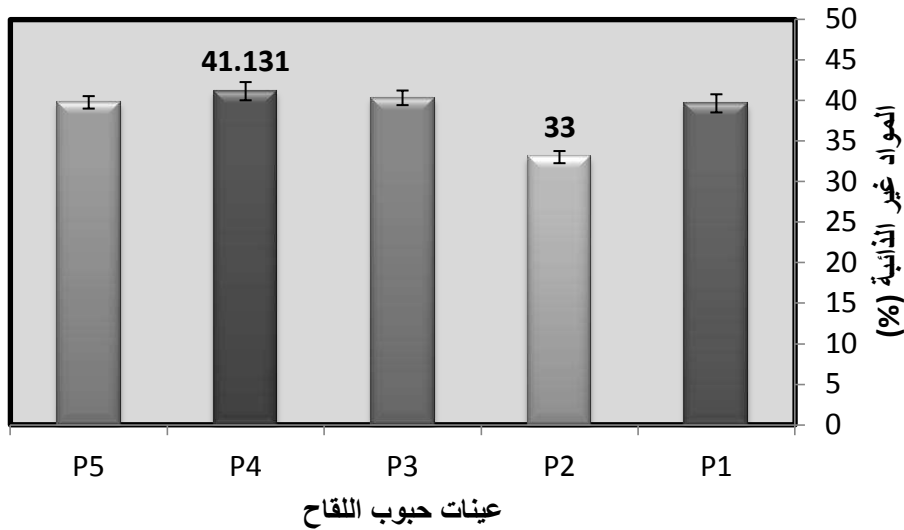


الشكل 14.III. التمثيل البياني لنسبة المواد غير الغذائية للعسل

النتائج المتحصل عليها في الشكل 14.III. قيمها تفوق القيم الحدية، حيث تتراوح بين [0.53-1.05%] و هي قيم كبيرة مقارنة مع نتائج الدراسة التي أجراها (Khalil) و التي لم تتجاوز فيها النسبة 0.039% [96].

في الصناعة يتم ترشيح العسل للتخلص من الشوائب ولزيادة صفاء مظهره، وبذلك تُزال معظم حبوب اللقاح منه. من وجهة النظر الغذائية ليس لهذه المسألة أهمية لأن محتوى العسل من حبوب اللقاح هو أقل من 0.01% من المحتوى الكلي، لكنه مهم لتحديد المصدر النباتي والجغرافي للعسل.

حبوب اللقاح: تعتبر المواد الصلبة غير الذائبة في الماء معيار إضافي لا يرقى لما هو عليه في العسل، لكنه يمكن أن يعطينا نظرة عن محتوى العينات من الألياف و المركبات الغير ذائبة في الماء، تراوحت المادة الصلبة الغير ذائبة في حبوب اللقاح بين [33-41.131%] كما هو موضح في الشكل 15.III.

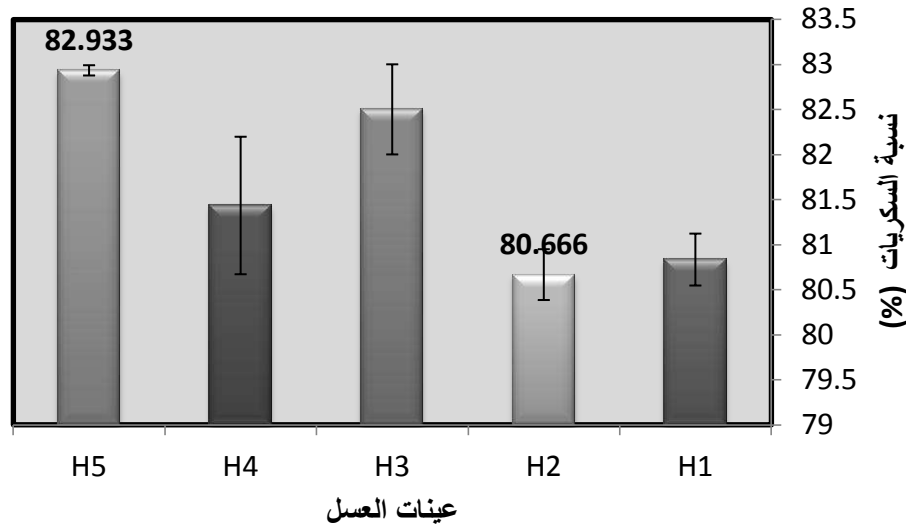


الشكل 15.III. التمثيل البياني لنسبة المواد غير الذائبة في حبوب اللقاح

8.2.III. تقدير السكريات:

السكريات الكلية:

تُعدّ السكريات في العسل هي المسؤولة عن بعض الصفات التي يتميز بها عسل النحل: كالحلاوة واللزوجة وارتباطه بالماء والتبلور والطاقة، كما أن التركيز العالي من السكريات له تأثير كبير في إيقاف نشاط أنواع كثيرة من البكتريا وكثير من الأنواع الفطرية. تتراوح نسبة السكريات الكلية في العينات المدروسة بين [80.66-82.93%] كما في الشكل 16.III. و هي أكبر من القيم التي تحصل عليها (Khalil) في دراسته لبعض أنواع العسل الجزائري حيث كانت النتائج تتراوح بين 70 و 62.8%، كما أن نتائجنا كانت متوافقة مع نتائج دراسة عسل جزر موريتي و تركيا المتراوحة بين 82.17 و 79.44% [111].



الشكل 16.III. التمثيل البياني لنسبة السكريات الكلية في العسل

من خلال النتائج الموضحة في الجدول 1.III. نلاحظ أنه:

تراوحت نسبة الفركتوز في عينات العسل المدروسة بين [38.506-42.205%] و هي كميات موافقة لنتائج الدراسات السابقة، مثل نتائج الدراسة التي اجريت على مجموعة من الاعسال الجزائرية حيث تراوحت نسبة الفركتوز بين [34.00-49.10%] ^[112]، كما تراوحت نسبة الفركتوز في العسل الاسباني بين [35.90-42.10%] و العسل المغربي [35.07-45.18%] ^[113-114].

تراوحت نسبة الغلوكوز في عينات العسل المدروسة بين [28.740-32.704%] و هي كميات موافقة لنتائج الدراسات السابقة، مثل نتائج الدراسة التي اجريت على مجموعة من الاعسال الجزائرية حيث تراوحت نسبة الفركتوز بين [21.20-35.20%] ^[112]، كما تراوحت نسبة الغلوكوز في العسل الاسباني بين [29.20-38.70%] و العسل المغربي [23.70-39.31%] و يلاحظ أن القيم الحدية العليا أكبر من القيمة الحدية العليا للعينات، و العكس ملاحظ في القيم الحدية الدنيا ^[113-114].

تراوحت نسبة السكروز في عينات العسل المدروسة بين [0.000-9.535%] و هي كميات متباينة جدا خاصة نتيجة العينة H4 التي تجاوزت المعايير المقررة من منظمة الدستور الغذائي التي تنص على أن نسبة السكروز لا تتجاوز 5% ، نلاحظ أيضا أن العينة H5 لا يوجد بها أثر للسكروز، ام بقية العينات فهي متوافقة مع عدة دراسات سابقة كدراسة العسل المغربي التي تراوحت به نسبة السكروز بين [0.24-2.98%] و العسل الاسباني [0.05-3.33%] ^[113-114].

تراوحت نسبة المالتوز في عينات العسل المدروسة بين [0.103- 4.742%] و هي كميات متباينة لكنها متوافقة مع العديد من الدراسات السابقة كدراسة الاعسل الجزائرية التي تراوحت نسبة المالتوز فيها بين [0.00- 5.40%] ^[112]، و العسل الاسباني الذي تراوحت النسبة فيه بين [2.33- 7.00%] و العسل البرتغالي الذي تراوحت النسبة فيه بين [1.26- 3.32%] ^[113-115].

الجدول 1.III. نسبة السكريات الاحادية و الثنائية في عينات العسل.

| رقم العينة | الفركتوز (%) | الغلوكوز (%) | السكروز (%) | المالتوز (%) | الفركتوز+ الغلوكوز | الفركتوز/ الغلوكوز |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----------------------|-----------------------|
| H1 | 40.040 | 29.392 | 01.921 | 00.103 | 69.432 | 1.362 |
| H2 | 40.810 | 32.704 | 02.934 | 4.742 | 73.514 | 1.247 |
| H3 | 40.755 | 28.740 | 00.652 | 03.033 | 69.495 | 1.418 |
| H4 | 38.506 | 28.816 | 09.535 | 04.062 | 67.322 | 1.336 |
| H5 | 42.205 | 29.287 | ND | 01.847 | 71.492 | 1.441 |

المجموع الكمي بين الفركتوز و الغلوكوز تراوح بين [67.322-73.514%] و هي نتائج متوافقة مع نتائج العسل المكسيكي الذي تراوح فيه المجموع بين [67.9-71.87%]، و كذلك العسل البرتغالي الذي تراوح المجموع فيه بين [60.723-79.334%] ^[115-116].

كما أن النسبة (الفركتوز/الغلوكوز) كانت بين [1.247-1.441%] و هي أيضا متوافقة مع نتائج دراسة عسل المدية الذي تراوح بين [1.20-1.59%]، و هي أكبر من نتائج عسل المكسيك الذي تراوح بين [1.15-1.28%] ^[98]. عادة هاته النسبة ترتبط بخاصية تبلور العسل فكلما كانت هاته النسبة أكبر كان تعرض العسل للتبلور أقل.

الجدول 2.III. نسبة السكريات الاحادية و الثنائية في عينات حبوب اللقاح.

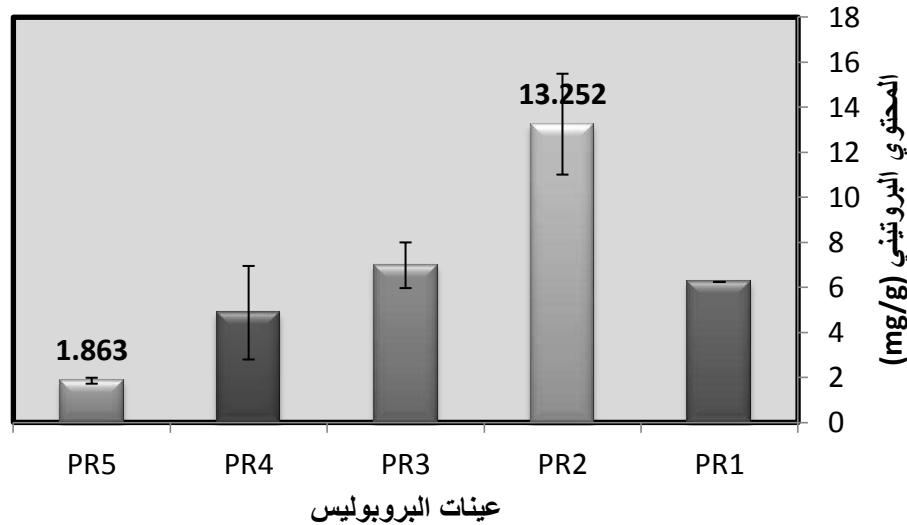
| رقم العينة | الفركتوز (%) | الغلوكوز (%) | السكروز (%) | المالتوز (%) | مجموع السكريات (%) |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------------|
| P1 | 20.027 | 10.205 | 03.735 | 04.387 | 38.354 |
| P2 | 15.414 | 09.401 | 12.936 | ND | 37.751 |
| P3 | 11.856 | 8.562 | 10.085 | ND | 30.503 |
| P4 | 14.665 | 9.012 | 9.87 | ND | 33.547 |
| P5 | 14.752 | 11.214 | 10.447 | 02.664 | 39.077 |

أما السكريات في حبوب اللقاح فهي موضحة في الجدول 2.III. حيث تراوحت نسبة الفركتوز في عينات حبوب اللقاح المدروسة بين [11.856-20.027%] و هي كميات موافقة لنتائج الدراسات السابقة،

مثل نتائج الدراسة التي اجريت على عينات الصين و اسبانيا و رومانيا و فلسطين حيث تراوحت نسبة الفركتوز بين [15.9-19.9%]. كما تراوحت نسبة الغلوكوز في العينات بين [8.562-11.214%] و هي أيضا موافقة للنتائج كل من الصين و اسبانيا و رومانيا و فلسطين التي تراوحت بين ن [8.2-13.1%]. أما السكروز فقد كانت النسبة تتراوح بين [3.735-12.936%] و هي قيم أقل من نتائج الصين و اسبانيا و رومانيا و فلسطين التي تراوحت بين ن [14.8-18.4%]. و تراوحت نسبة المالتوز في حبوب اللقاح [0.00-4.387%] ^[117]. كما كان مجموع السكريات بين [30.503-39.077%] و هي قيم متوسطة مقارنة مع نتائج حبوب اللقاح لجنوب افريقيا التي تراوحت بين [34.7-59.5%] ^[118]

9.2.III. تقدير كمية البروتينات:

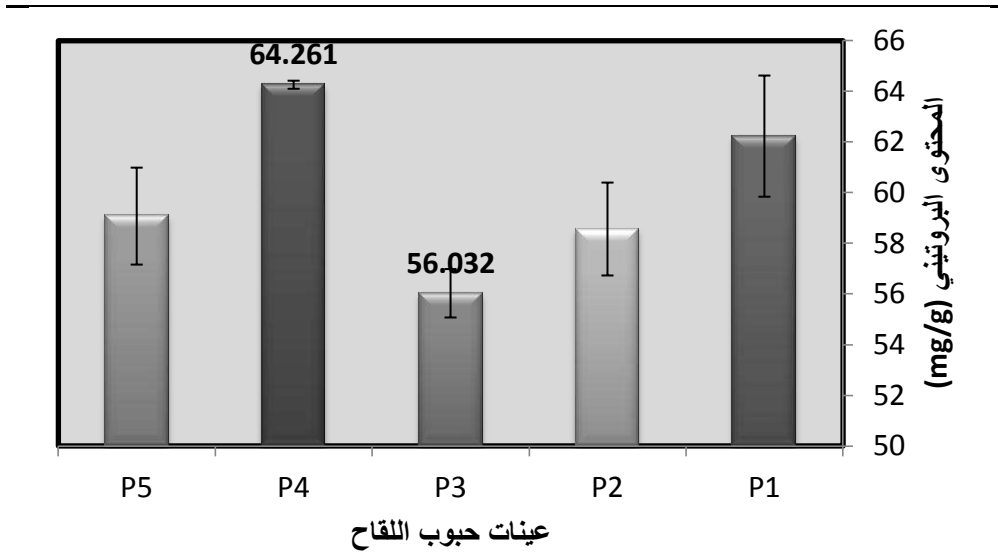
البروبوليس: يعتبر البروبوليس من أفقر منتجات خلية النحل للبروتين، و ذلك جلي في الشكل 17.III. حيث تبلغ أكبر كمية من البروتين 1.32% و هي للعينة PR2، و أقل قيمة هي 0.18% للعينة PR5، و النتيجة متوافقة مع ما تحصل عليه باحث منتجات النحل (Bogdanov) حيث اقترح اثناء وضعه للتركيبية العيارية للبروبوليس أن كمية البروتين فيه في حدود 1%.



الشكل 17.III. التمثيل البياني لكمية البروتينات في البروبوليس

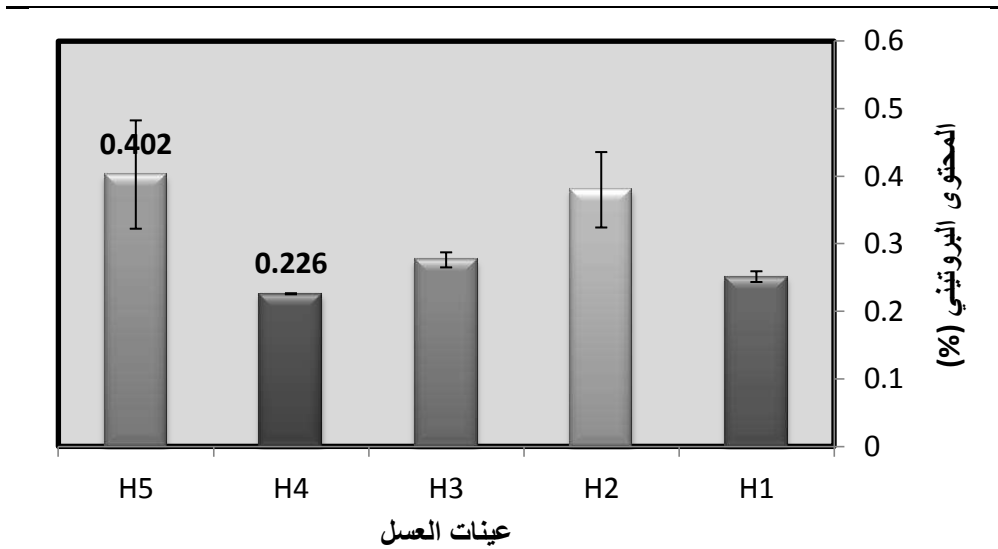
حبوب اللقاح: يعتبر المحتوى البروتيني لحبوب اللقاح أهم معيار يقيم به، فحبوب اللقاح هي مصدر البروتين لمجتمع النحل، و يصنف كغذاء غني بالبروتينات، من خلال النتائج المتحصل عليها في هاته الدراسة من الواضح ان العينات المدروسة لم تكن بها نسبة البروتينات بذلك القدر الكافي التي جاءت بها بعض الدراسات السابقة، حيث أن أكبر محتوى تحصلنا عليه هو 6.42% للعينة P4 بينما تحصل الباحث (Sameer S.)

(Ketkar) على نسبة 13.77% لحبوب اللقاح الهندية. كما تجاوزت نسبة البروتينات 44.44% في عينات حبوب اللقاح البرازيلية [119].



الشكل 18.III. التمثيل البياني لكمية البروتينات في عينات حبوب اللقاح

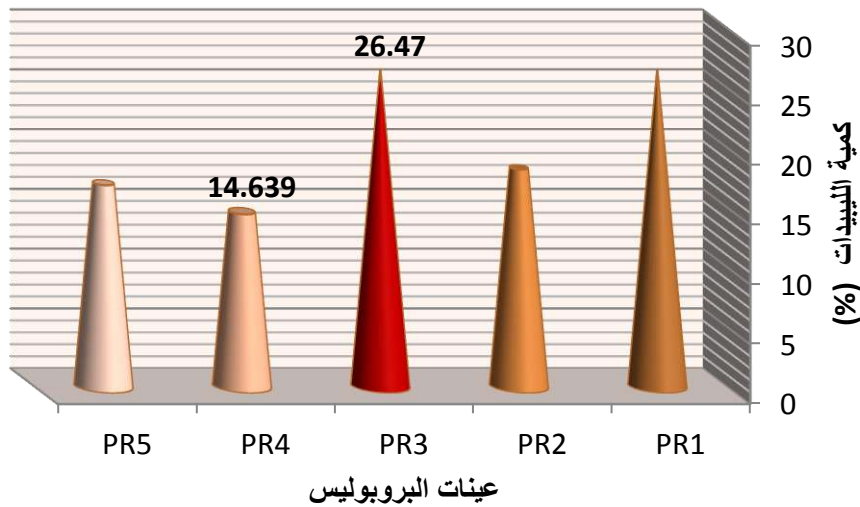
العسل: من خلال الشكل 19.III. نلاحظ أن كميات البروتين في عينات العسل المدروسة متفاوتة، لكنها قيم معتبرة مقارنة مع دراسات أخرى حيث بلغت أعلى قيمة من البروتين 0.4%، وهي موافقة للنتائج التي تحصل عليها (Khalil) حيث وجد أن كمية البروتين تتراوح بين 0.4 و 0.3% للعسل الجزائري [96]، كما أنها أكثر من الكميات الموجودة في عسل تركيا [95].



الشكل 19.III. التمثيل البياني لكمية البروتينات في العسل

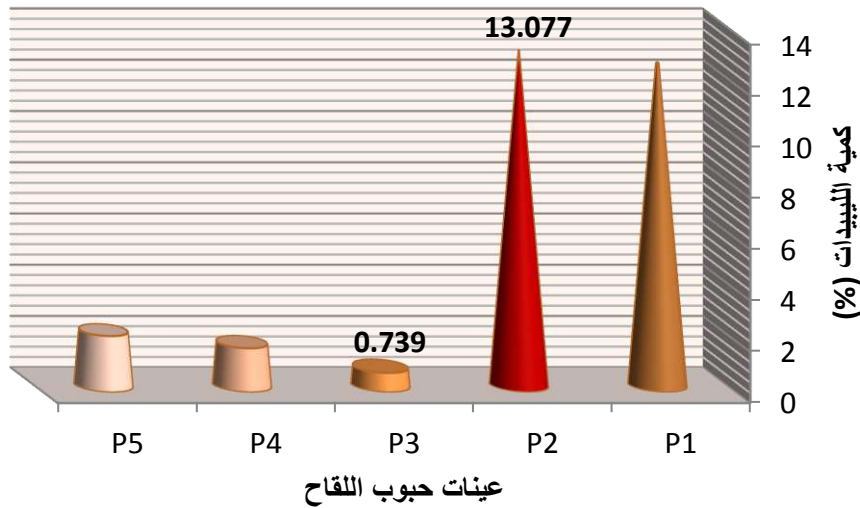
10.2.III. تقدير كمية الليبيدات:

البروبوليس: من خلال الشكل 20.III. يظهر هناك تقارب نسبي في كمية الليبيدات حيث كانت اكبر قيمة للعيونة PR3 و التي بلغت 26.47% و أقل قيمة هي للعيونة PR4 بلغت 14.34%، بمقارنة هاته النتائج مع دراسات سابقة يظهر أن كل القيم المتحصل عليها جاءت أكبر من الكمية التي تحصلت عليها الباحثة (Losiane Paviani) و هي 10.52% لعيونة البروبوليس البرازيلي [120]، مع ملاحظة أن المستخلص الايثيري يعتبر خليط من الاحماض الدسمة و الشموع و نادرا ما يتطرق له في دراسة البروبوليس.



الشكل 20.III. التمثيل البياني لكمية الليبيدات في البروبوليس

حبوب اللقاح: من خلال التمثيل البياني لكمية الليبيدات أو المستخلص الايثيري الشكل 21.III. يظهر أن هناك تباين واضح بين هاته القيم في مجموعتين هما (P1, P2) و (P3, P4, P5) حيث كانت أكبر قيمة هي 13.077% و أقلها 0.739% للعينتين P2 و P3 على التوالي، و هي قيم متوافقة مع نتائج الباحثة (F.H. MODRO) التي جاءت أيضا متباينة بين [1.78-6.55%] [121].



الشكل 21.III. التمثيل البياني لكمية الليبيدات في حبوب اللقاح

11.2.III. تحليل إحصائي:

1.11.2.III. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA):

و هي تقنية هدفها تلخيص البيانات بتجميع المتغيرات المترابطة مع بعض لتشكيل عنصرا (عاملاً) يغطي أكبر نسبة من التباين في مجموعة المتغيرات . انها لا تنقص شيئاً من البيانات ، بل تختزلها و تحولها من مجموعة من المتغيرات المنفردة الى متغيرات جديدة (تسمى عناصر ، أو عوامل) بعدد أقل يمكن استيعابها ببسر (من أحد عشر متغيراً الى اثنين مثلاً) .

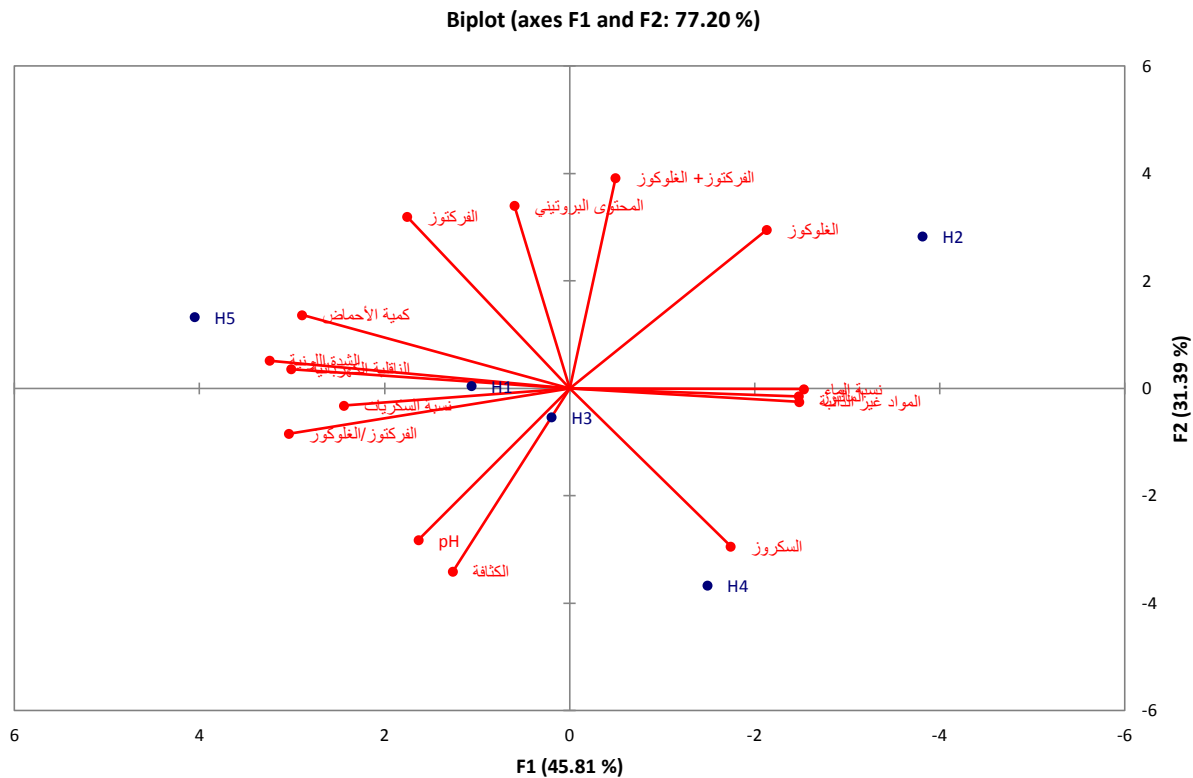
من أجل التحليل الاحصائي لنتائج و بيانات عينات العسل يمكننا استخدام كل النتائج الفيزيوكيميائية المتحصل عليها و تمثل 15 متغيراً.

الجدول 3. III. مصفوفة العلاقة الثنائية بين الخصائص الفيزيوكيميائية للمسل.

| الفركتورز /الفركتورز | الفركتورز + | الفركتورز - | الفركتورز + | الفركتورز - | المحتوى البروتيني | كمية الأحماض | نسبة السكريات | نسبة الماء | الشفرة اللونية | المواد غير الذائبة | النفاذية الكهربائية | pH | العلاقة |
|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------|-----------------|------------------|---------------|-------------------|-----------------------|------------------------|----|---------|
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | العلاقة |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | pH |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.822 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.523 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.167 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.442 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.015 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.423 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.186 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.524 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.355 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.405 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.595 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.188 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.100 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.286 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.482 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.347 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.861 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.411 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.005 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.658 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.807 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.462 |
| | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | | | | | | | | | | | | | 0.601 |

الفركتورز+الفركتورز
الفركتورز/الفركتورز

من الجدول 3.III. يتضح أن هناك علاقات ترابط قوي بين الثنائيات التالية:
 الناقلية الكهربائية، الشدة اللونية.
 الناقلية الكهربائية، كمية الاحماض.
 كمية المالتوز، المواد غير الذائبة.
 كمية الاحماض، الشدة اللونية.
 نسبة الفركتوز/الغلوكوز، الشدة اللونية.
 نسبة الفركتوز/الغلوكوز، نسبة السكريات.
 نسبة الفركتوز، المحتوى البروتيني.
 نسبة الغلوكوز، الفركتوز+الغلوكوز.



الشكل 22.III. منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) لعينات العسل.

من خلال الشكل 22.III. يمكن تصنيف العينات الى مجموعتين على الاكثر:

1. مجموعة تحوي العينات H1 و H3 و H5 و هي تتميز بإرتفاع العوامل التالية و تقاربها: الكثافة، pH، نسبة الفركتوز الى الغلوكوز، نسبة السكريات، المحتوى البروتيني، الناقلية الكهربائية، الشدة اللونية، كمية الاحماض، الفركتوز. و تتميز ايضا بإنخفاض قيمة العوامل التالية: نسبة الماء، السكروز، المواد غير الذائبة، الغلوكوز، المالتوز، الفركتوز+الغلوكوز.

2. مجموعة تحوي H2 و H4 تتميز بعكس المجموعة الاولى أي ارتفاع العوامل الفيزيوكيميائية التالية: نسبة الماء، السكروز، المواد غير الذائبة، الغلوكوز، المالتوز، الفركتوز+الغلوكوز. و انخفاض باقي العوامل.

كان بالإمكان إستنتاج معلومات أكثر من منحنى تحليل العنصر الرئيسي لو كان عدد العينات أكثر، حيث يمكن أن يتم تصنيف العينات جغرافيا.

من أجل التحليل الاحصائي لنتائج و بيانات عينات حبوب اللقاح يمكننا استخدام كل النتائج الفيزيوكيميائية المتحصل عليها و تمثل 07 متغيرات.

الجدول 4.III. مصفوفة العلاقة الثنائية بين الخصائص الفيزيوكيميائية لحبوب اللقاح.

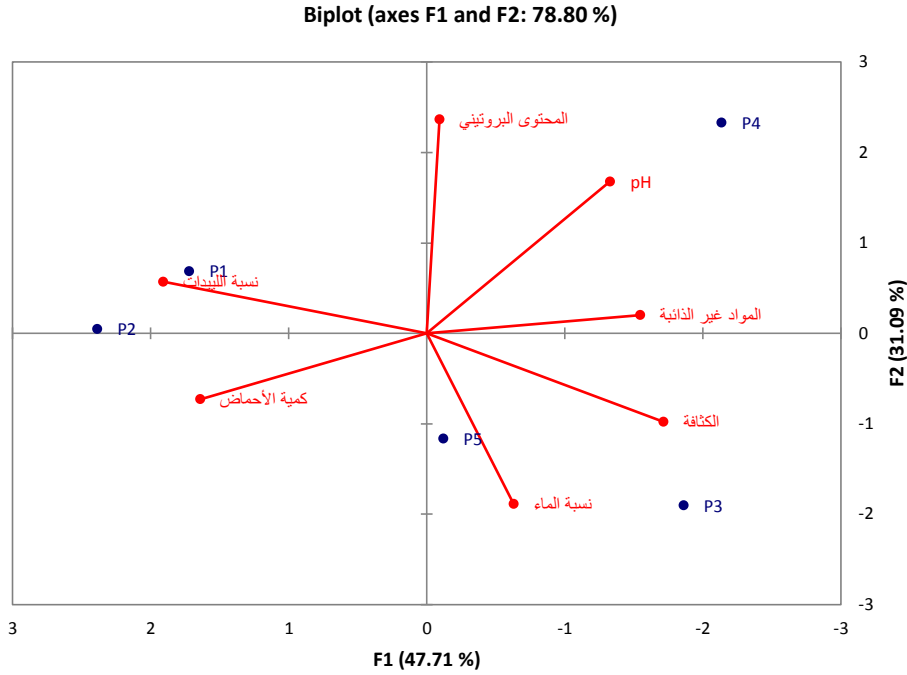
| الكثافة | pH | المواد غير الذائبة | نسبة الماء | كمية الأحماض | المحتوى البروتيني | نسبة الليبيدات |
|--------------------|--------|--------------------|------------|--------------|-------------------|----------------|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| الكثافة | 0.219 | | | | | |
| pH | 0.383 | 0.585 | | | | |
| المواد غير الذائبة | 0.333 | -0.154 | 0.492 | | | |
| نسبة الماء | -0.739 | -0.705 | -0.304 | 0.204 | | |
| كمية الأحماض | -0.416 | 0.624 | 0.312 | -0.578 | -0.140 | |
| المحتوى البروتيني | -0.911 | -0.369 | -0.703 | -0.383 | 0.674 | 0.131 |
| نسبة الليبيدات | | | | | | 1 |

من خلال الجدول 4.III. يتضح أن هناك علاقات ترابط ايجابية بين الثنائيات التالية:

المواد غير الذائبة، pH.

المحتوى البروتيني، pH.

نسبة الليبيدات، كمية الاحماض.



الشكل 23.III. منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) لعينات حبوب اللقاح.

من خلال الشكل 23.III. يمكن أن نلاحظ أن هناك مجموعتان على الأكثر هما:

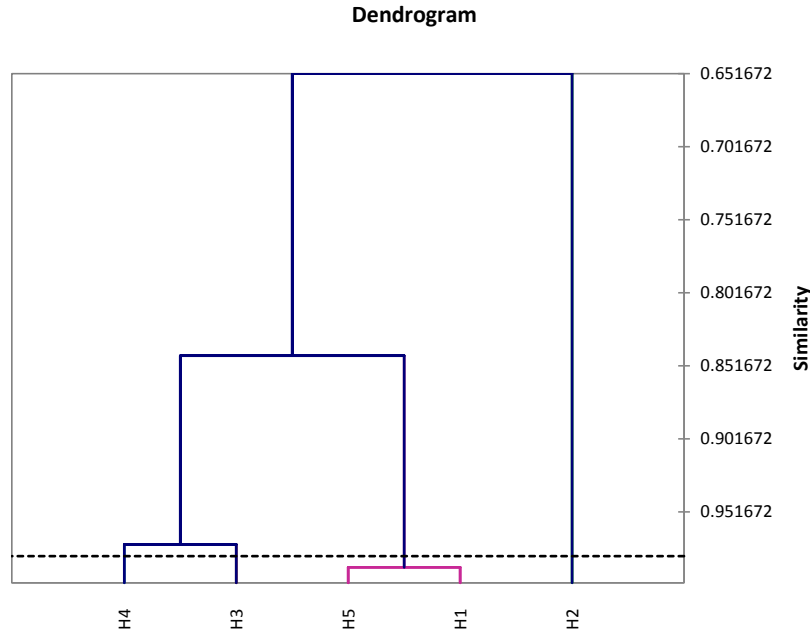
1. مجموعة تحوي P1 و P2 و تتميز بارتفاع نسبة الليبيدات و الاحماض، و بإنخفاض pH و الكثافة و المواد غير الذائبة.
2. مجموعة تحوي P3 و P5 و تتميز بارتفاع نسبة الماء و الكثافة.
3. اما العينة P4 فنتميز بارتفاع قيمة pH و المحتوى البروتيني و المواد غير الذائبة.

2.11.2.III. طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC):

التحليل العنقودي يعتبر أحد تقنيات التحليل الاحصائي متعدد المتغيرات، و هذا النوع من التحليل عبارة عن إجراءات تهدف الى تصنيف مجموعة حالات او متغيرات و ترتيبها داخل عناقيد بحيث تكون الحالات المصنفة داخل عنقود معين متجانسة فيما يتعلق بخصائص محددة و تختلف عن حالات اخرى موجودة في عنقود آخر.

تم استعمال هذا التحليل لتصنيف عينات العسل وفق الخصائص الفيزيوكيميائية فكانت النتيجة كما في

الشكل 24.III.

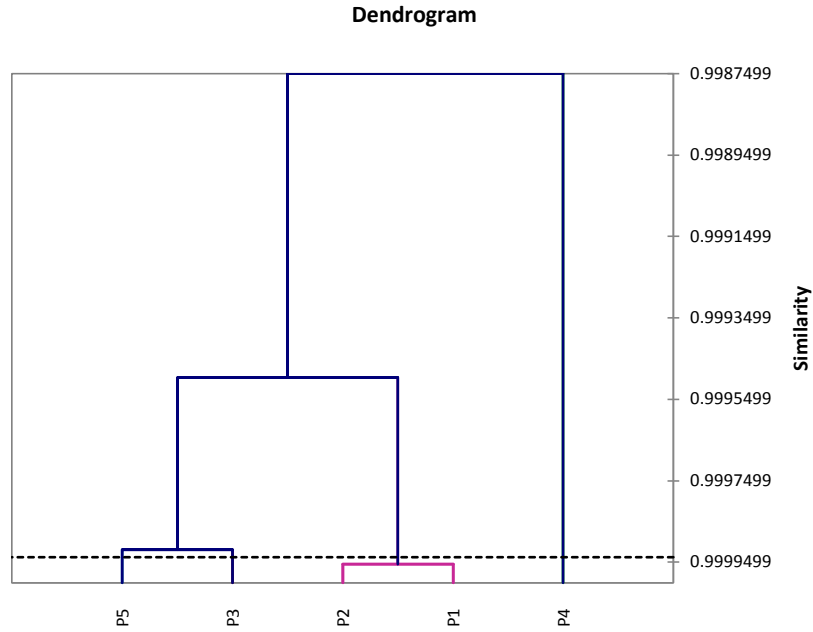


الشكل III.24. التمثيل العنقودي لعينات العسل.

من الواضح في الشكل III.24. أنه يوجد ثلاث عناقيد هي كالتالي:

1. العنقود الاول و يمثل المجموعة المكونة من العينتين H1 و H5 و هي المجموعة الاكثر تجانسا و تشابها من بين المجموعات.
2. العنقود الثاني و يمثل المجموعة المكونة من العينتين H3 و H4 و هما ايضا متشابهتان بنسبة كبيرة.
3. العنقود الثالث و يمثل العينة H2 و هي عينة تختلف كثير عن العينات في المجموعة الاولى و الثانية.

نفس التحليل قمنا به على عينات حبوب اللقاح، فكانت النتيجة كما هو موضح في الشكل III.25.



الشكل III.25. التمثيل العنقودي لعينات حبوب اللقاح.

من الواضح في الشكل III.25. أنه يوجد ثلاث عناقيد هي كالتالي:

1. العنقود الاول و يمثل المجموعة المكونة من العينتين P1 و P2 و هي المجموعة الاكثر تجانسا و تشابها من بين المجموعات.
2. العنقود الثاني و يمثل المجموعة المكونة من العينتين P3 و P5 و هما ايضا متشابهتان بنسبة كبيرة.
3. العنقود الثالث و يمثل العينة P4 و هي عينة تختلف عن العينات في المجموعة الاولى و الثانية.

من الملاحظ ايضا من المنحنى أن الاختلاف بين المجموعات أو العينات طفيف جدا فأقل نسبة تجانس هي 99.87% و هي تدل على أن هناك تشابه كبير بين كل عينات حبوب اللقاح المدروسة.

1. Pietta, P. G., Gardana, C., & Pietta, A. M. (2002). Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*, 73, S7-S20.
2. FARRE, R. FRASQUET, I. SÁNCHEZ, A. (2004). Propolis and human health. *Ars Pharmaceutica*, 45, 121-43.
3. Sales, A., Alvarez, A., Areal, M. R., Maldonado, L., Marchisio, P., Rodríguez, M., & Bedascarrasbure, E. (2006). The effect of different propolis harvest methods on its lead contents determined by ET AAS and UV-visS. *Journal of hazardous materials*, 137(3), 1352-1356.
4. Bankova, V. S., Popov, S. S., & Marekov, N. L. (1982). High-performance liquid chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *Journal of Chromatography A*, 242(1), 135-143.
5. Makashvili, Z. A. (1978) From the history of propolis. In Remarkable hive product : Propolis. Scientific data and suggestions concerning its composition, properties and possible use in therapeutics. APIMONDIA standing Commission on Beekeeping technology and Equipment, Bucharest.
6. Melliou, E., Stratis, E., & Chinou, I. (2007). Volatile constituents of propolis from various regions of Greece—Antimicrobial activity. *Food chemistry*, 103(2), 375-380.
7. Marcucci, M. C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2), 83-99.
8. Banskota, A. H., Tezuka, Y., Adnyana, I. K., Ishii, E., Midorikawa, K., Matsushige, K., & Kadota, S. (2001). Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine*, 8(1), 16-23.
9. Castaldo, S., & Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, S1-S6.
10. Vanhaelen, M., & Vanhaelen Fastré, R. (1979). Propolis. I. Origine, micrographie, composition chimique et activité thérapeutique. *Journal de pharmacie de Belgique*, 34(5), 253-259.
11. J. Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 1383-1392.
12. Gardana, C., Scaglianti, M., Pietta, P., & Simonetti, P. (2007). Analysis of the polyphenolic fraction of propolis from different sources by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(3), 390-399.
13. Bankova, V. S., de Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3-16.
14. Krell R. Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin N°. 124. Rome 1996.
15. Collecte-propolis, <http://www.museedelabeille.fr/wp-content/uploads/2011/02/collecte-propolis.jpg> (accessed 24/09/2015).
16. Virtual Beekeeping Gallery. http://www.apiservices.com/rfa/articles/pictures/propolis_5.jpg (accessed 24/09/2015).
17. da Silva, F. C., da Fonseca, C. R., de Alencar, S. M., Thomazini, M., de Carvalho Balieiro, J. C., Pittia, P., & Favaro-Trindade, C. S. (2013). Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioprocess Processing*, 91(1), 28-36.
18. Bankova, V. S., Popov, S. S., & Marekov, N. L. (1983). A study on flavonoids of propolis [A resinous hive product collected by bees, is known to have been used in folk medicine as early as 300 BC, Bulgaria]. *Journal of natural products (USA)*, 46, 471

19. St. Nikolov, E. Georgieva, V. Vasilev, S. Todorov and S. Drianska, in Proceedings of The International Congress of Apiculture, Grenoble, 8-14 September 1975, Apimondia, Bucharest, 1976, p. 235.
20. Nakamura, S., & Miyake, T. (1996). *U.S. Patent No. 5,561,116*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
21. Schulten, H. R., Simmleit, N., & Mueller, R. (1989). Characterization of plant materials by pyrolysis-field ionization mass spectrometry: high-resolution mass spectrometry, time-resolved high-resolution mass spectrometry, and Curie-point pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry of spruce needles. *Analytical Chemistry*, 61(3), 221-227.
22. Mantovani, R. P., Rall, V. L. M., Batalha, J. E. N., Fernandes, A. A. H., & Fernandes Junior, A. (2008). Anti-coagulase-negative Staphylococcus activity of ethanolic extracts of propolis from two Brazilian regions and synergism with antimicrobial drugs by the E-test method. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 14(2), 357-365.
23. Greenaway, W., May, J., Scaysbrook, T., & Whatley, F. R. (1991). Identification by gas chromatography-mass spectrometry of 150 compounds in propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 46(1-2), 111-121.
24. Kartal, M., Yıldız, S., Kaya, S., Kurucu, S., & Topçu, G. (2003). Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(1), 69-73.
25. Kujungiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., & Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of ethnopharmacology*, 64(3), 235-240.
26. Strehl, E., Volpert, R., & Elstner, E. F. (1994). Biochemical activities of propolis-extracts III. Inhibition of dihydrofolate reductase. *Zeitschrift für Naturforschung c*, 49(1-2), 39-43.
27. Wang, L., Mineshita, S., Ga, I., Shigematsu, T., & Matsuno, T. (1993). Antiinflammatory effect of propolis. *Jpn J Pharmacol Ther*, 24, 223-224.
28. Amoros, M., Lurton, E., Boustie, J., Girre, L., Sauvager, F., & Cormier, M. (1994). Comparison of the anti-herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-but-2-enyl caffeate. *Journal of natural products*, 57(5), 644-647.
29. Brumfitt, W., Hamilton-Miller, J. M., & Franklin, I. (1989). Antibiotic activity of natural products: 1. Propolis. *Microbios*, 62(250), 19-22.
30. F. Dominique « La Propolis et son utilisation en Pharmacie »(Thèse no79 Clermont 1 (1982)).
31. Takaisi-Kikuni, N. B., & Schilcher, H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta medica*, 60(3), 222-227.
32. Fuliang, H. U., Hepburn, H. R., Xuan, H., Chen, M., Daya, S., & Radloff, S. E. (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus. *Pharmacological Research*, 51(2), 147-152.
33. Drogovoz, S. M., Tikhonov, A. I., Slyshkov, V. V., & Sal'nikova, S. I. (1993). [The liver-protective properties of the pediatric drug form of propolis in animals of different age groups]. *Ekspperimental'naia i klinicheskaia farmakologiya*, 57(4), 39-42.
34. Ahn, M. R., Kunimasa, K., Ohta, T., Kumazawa, S., Kamihira, M., Kaji, K., ... & Nakayama, T. (2007). Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis: major component artepillin C inhibits in vitro tube formation and endothelial cell proliferation. *Cancer letters*, 252(2), 235-243.

35. Kimoto, T., Arai, S., Aga, M., Hanaya, T., Kohguchi, M., Nomura, Y., & Kurimoto, M. (1996). Cell cycle and apoptosis in cancer induced by the artepillin C extracted from Brazilian propolis. *Gan to kagaku ryoho. Cancer & chemotherapy*, 23(13), 1855.
36. Chen, C. N., Wu, C. L., & Lin, J. K. (2007). Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compounds propolin A and propolin B from Taiwanese propolis. *Cancer letters*, 245(1), 218-231.
37. Shimizu, K., Das, S. K., Hashimoto, T., Sowa, Y., Yoshida, T., Sakai, T., ... & Kanazawa, K. (2005). Artepillin C in Brazilian propolis induces G0/G1 arrest via stimulation of Cip1/p21 expression in human colon cancer cells. *Molecular carcinogenesis*, 44(4), 293-299.
38. Padmavathi, R., Senthilnathan, P., Chodon, D., & Sakthisekaran, D. (2006). Therapeutic effect of paclitaxel and propolis on lipid peroxidation and antioxidant system in 7, 12 dimethyl benz (a) anthracene-induced breast cancer in female Sprague Dawley rats. *Life sciences*, 78(24), 2820-2825.
39. Hayacibara, M. F., Koo, H., Rosalen, P. L., Duarte, S., Franco, E. M., Bowen, W. H., ... & Cury, J. A. (2005). In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1), 110-115.
40. Uzel, A., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., & Gençay, Ö. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological research*, 160(2), 189-195.
41. Scheller, S., Dworniczak, S., Waldemar-Klimmek, K., Rajca, M., Tomczyk, A., & Shani, J. (1999). Synergism between ethanolic extract of propolis (EEP) and anti-tuberculosis drugs on growth of mycobacteria. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 54(7-8), 549-553.
42. Li, Y. J., Lin, J. L., Yang, C. W., & Yu, C. C. (2005). Acute renal failure induced by a Brazilian variety of propolis. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(6), e125-e129.
43. Noelker, C., Bacher, M., Gocke, P., Wei, X., Klockgether, T., Du, Y., & Dodel, R. (2005). The flavanoid caffeic acid phenethyl ester blocks 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. *Neuroscience letters*, 383(1), 39-43.
44. Okutan, H., Ozcelik, N., Yilmaz, H. R., & Uz, E. (2005). Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. *Clinical Biochemistry*, 38(2), 191-196.
45. Hu, F., Hepburn, H. R., Li, Y., Chen, M., Radloff, S. E., & Daya, S. (2005). Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(3), 276-283.
46. Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. R., & Peterson, P. K. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(2), 158-163.
47. Ito, J., Chang, F. R., Wang, H. K., Park, Y. K., Ikegaki, M., Kilgore, N., & Lee, K. H. (2001). Anti-AIDS agents. 48. 1 Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from Brazilian propolis. *Journal of Natural Products*, 64(10), 1278-1281.
48. Campos, M.R.G.; Bogdanov, S.; de Almeida-Muradian, L.M.B.; Szczesna, T.; Mancebo, Y.; Frigerio, C.; Ferreira, F. Pollen composition and standardisation of analytical methods. *J. Apicult. Res.* 2008, 47, 156-163.
49. Lobreau-Callen, D., & Damblon, F. (1994). Spectre pollinique des miels de l'abeille *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) et Zones de Végétations en Afrique Occidentale Tropicale et Méditerranéenne. *Grana*, 33(4-5), 245-253.
50. Collins, K. The effects of Bee Pollen on Energy and Weight Loss. http://www.vanderbilt.edu/AnS/psychology/health_psychology/beepollen.htm (accessed 24/09/2015).

51. Thorp, R. W. (1979). Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 788-812.
52. Bee pollen photo, <http://keepingbee.org/wp-content/uploads/2012/10/Bee-pollen-supplements2.jpg> (accessed 24/09/2015).
53. 1 . Bee pollen photos, http://www.mekshat.com/pix/upload06/images/2014/04/mk298239_221.jpg (accessed 24/09/2015).
54. Odoux, J. F., Feuillet, D., Aupinel, P., Loublier, Y., Tasei, J. N., & Mateescu, C. (2012). Territorial biodiversity and consequences on physico-chemical characteristics of pollen collected by honey bee colonies. *Apidologie*, 43(5), 561-575.
55. Furusawa, E., Chou, S. C., Hirazumi, A., & Melera, A. (1995). Antitumour potential of pollen extract on Lewis lung carcinoma implanted intraperitoneally in syngeneic mice. *Phytotherapy Research*, 9(4), 255-259.
56. EEC (2002) Council Directive, of 20-12-2001 relating to honey, 2001/100/EEC, Annex 1, Official Journal of the European Communities No. L 10/47 Bruxelles, Belgium.
57. Abeille egypte antique, http://www.catoire-fantastique.be/img/animaux/abeille/pabasa_recolte_miel.jpg (accessed 24/09/2015).
58. Abeille egypte antique, http://www.catoire-fantastique.be/img/animaux/abeille/pabasa_ruches.jpg (accessed 24/09/2015).
59. Ruttner, F. (1992). *Natural history of honey bees*. Ehrenwirth Verlag.
60. Graham, J. M. (1992). *The hive and the honey bee*. Dadant & Sons.
61. Winston, M. L. (1991). *The biology of the honey bee*. Harvard University Press.
62. Honey Bee Lavendar Nectar, http://lafozi.com/files/images/honey_bee_lavendar_nectar-wide.jpg (accessed 24/09/2015).
63. KOVAN VE PETEKLERİMİZ, http://static.wixstatic.com/media/7ca274_6a41fbfeb3d14f9d8beb2a27c16264d5.jpg_srz_640_480_85_22_0.50_1.20_0.00_jpg_srz (accessed 24/09/2015).
64. Haydak, M. H. (1970). Honey bee nutrition. *Annual review of entomology*, 15(1), 143-156.
65. Vit, P., Oddo, L. P., Marano, M. L., & De Mejias, E. S. (1998). Venezuelan stingless bee honeys characterized by multivariate analysis of physicochemical properties. *Apidologie*, 29(5), 377-389.
66. White, J. W., & Doner, L. W. (1980). Honey composition and properties. *Beekeeping in the United States Agriculture Handbook*, 335, 82-91.
67. Almeida-Neto M, Izzo TJ, Raimundo RLG, Rossa-Feres DC, 2003. Reciprocal interference between ants and stingless bees attending the honeydew-producing homopteran *Aetalion reticulatum* (Homoptera: Aetalionidae). *Sociobiology* 42: 369-380
68. New Zealand's Southern Beech Forests, <http://www.midlandshoney.com/about-us/honeydew-science> (accessed 24/09/2015).
69. Stingless bee foraging from Homopteran, <http://labs.biology.ucsd.edu/nieh/TeachingBee/altfood.htm> (accessed 24/09/2015).
70. Jeffrey, A. E., & Echazarreta, C. M. (1996). Medical uses of honey. *Rev Biomed*, 7(1), 43-49.
71. Al-Waili N.S. (2003) Effects of daily consumption of honey solution on hematological indices and blood levels of minerals and enzymes in normal individuals, *Journal of Medicinal Food* 6, 135-140.
72. Orsolio N. (2009) Honey and Cancer, *JAAS* 1, 93-103.
73. Tsiapara A., Jaakkola M., Chinou I., Graikou K., Tina Tolonen V.V.a.P.M. (2009) Bioactivity of Greek honey extracts on breast cancer (MCF-7), prostate cancer (PC-3) and

- endometrial cancer (Ishikawa) cells: Profile analysis of extracts, *Food Chem.* 116, 702-708.
74. Jaganathan S., Mandal M. (2009) Honey Constituents and their apoptotic effect in colon cancer cells, *JAAS* 1, 29-36.
 75. Piana, M. L., Persano Oddo, L., Bentabol, A., Bruneau, E., Bogdanov, S., & Guyot Declerck, C. (2004). Sensory analysis applied to honey: state of the art. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S26-S37.
 76. Dias, L. G., Pereira, A. P., & Estevinho, L. M. (2012). Comparative study of different Portuguese samples of propolis: Pollinic, sensorial, physicochemical, microbiological characterization and antibacterial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 50(12), 4246-4253.
 77. Singh, N., & Bath, P. K. (1997). Quality evaluation of different types of Indian honey. *Food Chemistry*, 58(1), 129-133.
 78. Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C. (2002). Harmonised methods of the international honey commission. *Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld*.
 79. de Arruda, V. A. S., Pereira, A. A. S., de Freitas, A. S., Barth, O. M., & de Almeida-Muradian, L. B. (2013). Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29(2), 100-105.
 80. Sant'Ana, L. D. O., Buarque Ferreira, A. B., Lorenzon, M. C. A., Berbara, R. L. L., & Castro, R. N. (2014). Correlation of total phenolic and flavonoid contents of Brazilian honeys with colour and antioxidant capacity. *International Journal of Food Properties*, 17(1), 65-76.
 81. Association of Official Analytical Chemists. (1995). Official Methods of Analysis. Washington
 82. Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., von der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl, G., ... & Vit, P. (1999). Honey quality and international regulatory standards: review by the International Honey Commission. *Bee world*, 80(2), 61-69.
 83. Rahman, N. A., Hasan, M., Hussain, M. A., & Jahim, J. (2008). Determination of glucose and fructose from glucose isomerization process by high performance liquid chromatography with UV detection. *Modern Applied Science*, 2(4), p151.
 84. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J biol Chem*, 193(1), 265-275.
 85. Lepage, M., & Boch, R. (1968). Pollen lipids attractive to honeybees. *Lipids*, 3(6), 530-534.
 86. Puker, A., Abot, A. R., Matias, R., Rodrigues, S. R., & Pinto, A. M. (2010). Propolis Produced by Africanized Honeybees in the Cerrado-Pantanal Ecotone: Effects of Seasonality in Production and Physico-Chemical Characteristics. *Sociobiology*, 56(1), 149-162.
 87. Galán-Soldevilla, H., Ruiz-Pérez-Cacho, M. P., Jiménez, S. S., Villarejo, M. J., & Manzanares, A. B. (2005). Development of a preliminary sensory lexicon for floral honey. *Food Quality and Preference*, 16(1), 71-77.
 88. O'Mahony, M. (1986). *Sensory evaluation of food: statistical methods and procedures* (Vol. 16). CRC Press.
 89. Nasiruddin Khan, M., Qaiser, M., Raza, S. M., & Rehman, M. (2006). Physicochemical properties and pollen spectrum of imported and local samples of blossom honey from the Pakistani market. *International journal of food science & technology*, 41(7), 775-781.
 90. Babarinde, G. O., Babarinde, S. A., Adegbola, D. O., & Ajayeoba, S. I. (2011). Effects of harvesting methods on physicochemical and microbial qualities of honey. *Journal of food science and technology*, 48(5), 628-634.

91. Owayss, A. A. (2005). Physicochemical analysis for standardizing quality criteria of Libyan Eucalyptus (*Eucalyptus* sp.) honey. *Egypt J. Appl. Sci*, 20, 247-255.
92. Gebremedhin, G., Tadesse, G., & Kebede, E. (2013). Physicochemical characteristics of honey obtained from traditional and modern hive production systems in Tigray region, northern Ethiopia. *Momona Ethiopian Journal of Science*, 5(1), 115-128.
93. Ahmed, J., Prabhu, S. T., Raghavan, G. S. V., & Ngadi, M. (2007). Physico-chemical, rheological, calorimetric and dielectric behavior of selected Indian honey. *Journal of Food Engineering*, 79(4), 1207-1213.
94. Codex Alimentarius Commission. Revise codex standard for honey. Codex Standards 12-1982, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001)1, COMESA/FDHS 002:2004.
95. Akbulut, M., Özcan, M. M., & Çoklar, H. (2009). Evaluation of antioxidant activity, phenolic, mineral contents and some physicochemical properties of several pine honeys collected from Western Anatolia. *International journal of food sciences and nutrition*, 60(7), 577-589.
96. Khalil, M. I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M. A., Islam, M. N., ... & Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17(9), 11199-11215
97. White Júnior, J. W., & Graham, J. (1975). The hive and the honey bee. *Dandant & Sons. Inc. Hamilton, Illinois*, 491-530.
98. Zerrouk, S., Boughediri, L., Carmen, M. S., Fallico, B., Arena, E., & Ballistreri, G. (2013). Pollen spectrum and physicochemical attributes of sulla (*Hedysarum coronarium*) honeys of Médéa region (Algeria). *Albanian J. Agric. Sci*, 12(3), 511-517.
99. Ahmed, M. (2012). The influence of botanical origin and physico-chemical parameters on the antifungal activity of Algerian honey. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*. 3(5), 132.
100. Babarinde, G. O., Babarinde, S. A., Adegbola, D. O., & Ajayeoba, S. I. (2011). Effects of harvesting methods on physicochemical and microbial qualities of honey. *Journal of food science and technology*, 48(5), 628-634.
101. HERBERT, E W JR; SHIMANUKI, H (1978) Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie*; 9(1); 33-40.
102. Vázquez, A., & Olofsson, T. C. (2009). The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *Journal of apicultural research*, 48(3), 189-195.
103. Feás, X., Vázquez-Tato, M. P., Estevinho, L., Seijas, J. A., & Iglesias, A. (2012). Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17(7), 8359-8377.
104. Amri, A., & Ladjama, A. (2013). Physicochemical characterization of some multifloral honeys from honeybees *Apis mellifera* collected in the Algerian northeast. *African Journal of Food Science*, 7(7), 168-173.
105. Nedji, N., & Loucif-Ayad, W. (2014). Antimicrobial Effects of Algerian Honey on Pathogenic Food-Related Bacteria. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 6(11), 1194-1200.
106. EREZ, M. E., KARABACAK, O., KAYCI, L., FIDAN, M., & Yılmaz, K. A. Y. A. (2015). Characterization of Multifloral Honeys of Pervari Region with Different Properties. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 2(1), 40-46.
107. Asadi-Dizaji, A., Moeni-Alishah, F., Yamini, Y., Ebrahimnezhad, Y., Yari, A. A., & Rouhnavaz, S. (2014, July). Physico-chemical Properties in Honey from Different Zonal of East Azerbaijan. In *Biological Forum* (Vol. 6, No. 2, p. 203). Research Trend.
108. Codex Alimentarius standard for honey, Ref.Nr.CL 1993/14SH- FAO and WHO, Rome 1993

109. Instrução Normativa nº3 de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Apitoxina, Cera de Abelha, Geleia Real, Geleia Real Liofilizada, Polen Apícola, Propolis e Extrato de Propolis. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 19 January 2001. Available online: <http://www.sfdk.com.br/imagens/lei/MA%20-%20Inst%20Norm%203.htm#AnexoV> (accessed on 24/08/ 2015).
110. Bárbara, M. S., Machado, C. S., Sodré, G. D. S., Dias, L. G., Estevinho, L. M., & de Carvalho, C. A. L. (2015). Microbiological Assessment, Nutritional Characterization and Phenolic Compounds of Bee Pollen from *Mellipona mandacaia* Smith, 1983. *Molecules*, 20(7), 12525-12544.
111. Özcan, M. M., & Ölmez, Ç. (2014). Some qualitative properties of different monofloral honeys. *Food chemistry*, 163, 212-218.
112. Makhoulfi, C., Kerkvliet, J. D., D'albore, G. R., Choukri, A., & Samar, R. (2010). Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie*, 41(5), 509-521.
113. Manzanares, A. B., García, Z. H., Galdón, B. R., Rodríguez, E. R., & Romero, C. D. (2011). Differentiation of blossom and honeydew honeys using multivariate analysis on the physicochemical parameters and sugar composition. *Food Chemistry*, 126(2), 664-672.
114. Chakir, A., Romane, A., Marcazzan, G. L., & Ferrazzi, P. (2011). Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*. (<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535211002747>).
115. Aazza, S., Lyoussi, B., Antunes, D., & Miguel, M. G. (2013). Physicochemical characterization and antioxidant activity of Commercial Portuguese honeys. *Journal of food science*, 78(8), C1159-C1165.
116. Mondragón-Cortez, P., Ulloa, J. A., Rosas-Ulloa, P., Rodríguez-Rodríguez, R., & Resendiz Vazquez, J. A. (2013). Physicochemical characterization of honey from the West region of México. *CyTA-Journal of Food*, 11(1), 7-13.
117. Qian, W. L., Khan, Z., Watson, D. G., & Fearnley, J. (2008). Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass spectrometry. *Journal of food composition and analysis*, 21(1), 78-83.
118. Human, H., & Nicolson, S. W. (2006). Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry*, 67(14), 1486-1492.
119. Ketkar, S. S., Rathore, A. S., Lohidasan, S., Rao, L., Paradkar, A. R., & Mahadik, K. R. (2014). Investigation of the nutraceutical potential of monofloral Indian mustard bee pollen. *Journal of integrative medicine*, 12(4), 379-389.
120. Losiane Paviani, Patricia Sacoda, Erika Saito, Fernando Cabral Extraction techniques of red and green propolis: extraction yield of phenolic compounds
121. Modro, A. F., Silva, I. C., & Luz, C. F. (2009). Analysis of pollen load based on color, physicochemical composition and botanical source. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 81(2), 281-285.

الباب الثاني

دراسة للمركبات المضادة

للأكسدة في منتجات النحل

الفصل الرابع

الإجهاد التأكسدي و مضادات

الأكسدة

1.IV. الإجهاد التأكسدي:

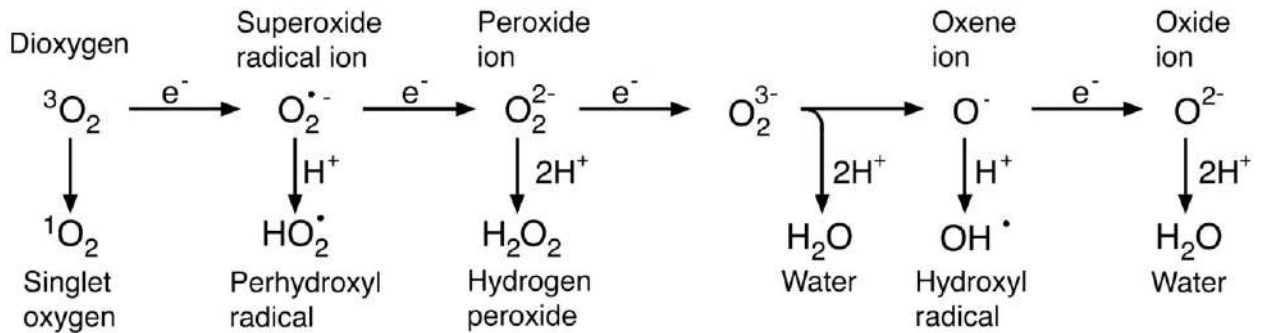
الإجهاد التأكسدي (Oxidative Stress) هو اختلال التوازن بين المؤكسدات و مضادات الاكسدة بالجسم. هذا الاختلال راجع الى الإنتاج المفرط للمؤكسدات و النقص في مضادات الأكسدة [1].

1.1.IV.المؤكسدات:

المؤكسدات أو الجذور الحرة هي جزيئات شديدة التفاعل (مشتقة عادة من الأكسجين) تحمل على مدارها الخارجي إلكترونات غير مزدوج أو أكثر. والجزيئات في هذه الحالة ميالة إلى إكتساب الإلكترونات على أو إلى انتزاعها من أي مركب تواجهه. وفي هذه الحالة تتحول المركبات التي فقدت الكترونا الى جذور حرة تبحث عن الاستقرار بادئة سلسلة من التفاعلات تتفاهم لتهاجم غشاء الخلية الحية ومكوناتها حتى جزئ الحمض النووي بالخلية (DNA) [1].

1.1.1.IV.أهم أنواع الأكسجين النشطة:

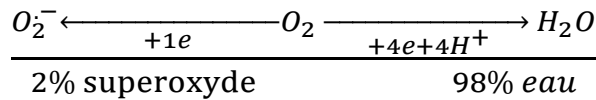
كثير من التفاعلات داخل الخلية يكون فيها الأكسجين الجزيئي المستقبل النهائي للإلكترونات مما ينتج عليه تشكل أنواع من الاكسجين النشطة ((Reactive oxygen species (ROS)) و التي يمكن أن تكون جذرية أو غير جذرية. الشكل 1.IV.



الشكل 1.IV. نشوء أنواع الاكسجين النشطة

1.1.1.1.IV. جذر فوق أكسيد (O_2^-) (Superoxide anion) :

يعتبر جذر فوق أكسيد (O_2^-) في طبيعة العملية التأكسدية داخل الخلية، إذ يمكنه أن يتحول الى أنواع أكسجينية أخرى، حيث ينتج هذا الجذر عن إرجاع جزيئة الأكسجين و هذا بإستقبالها لإلكترون واحد [2]. تقوم مجموعة من الانزيمات الإرجاعية بإنتاج (O_2^-)، حيث أنه أكثر من 20% الأكسجين الذي بالمتكوندري يتحول الى (O_2^-).

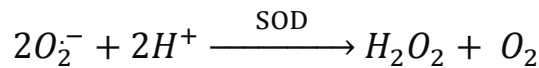


2.1.1.1.IV. الأكسجين الأحادي (1O_2) (Singlet oxygen) :

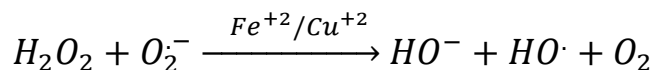
يعتبر الأكسجين الأحادي (1O_2) من الانواع الاكسجينية غير الجذرية، و يتميز بغياب الكترون حر في المدار الخارجي و بمميزات تأكسدية عالية ينتج عن طريق التحفيز الضوئي، كما يمكن أن ينتج عن إجهاد تأكسدي محفز بواسطة تنشيط بعض الخلايا، أو عن أكسدة الدهون، يلحق الاكسجين الاحادي (1O_2) أضراراً خلوية بتفاعله مع الدهون و البروتينات و الدنا (DNA) وذلك موقع نشوئه [3].

3.1.1.1.IV. بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) (Hydrogen peroxide) :

ينتج بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) عن عملية أكسدة جذر فوق أكسيد (O_2^-) بواسطة إنزيم (Super oxide dismutase (SOD)) حسب الآلية التالية:



يعتبر بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) من أنواع الأكسجين الأكثر سمية، لأن غياب شحنة عليه يسمح له بالعبور عبر الأغشية البيولوجية، كما يمكن (H_2O_2) أن يتحول الى جذر الهيدروكسيل ($OH\cdot$) في وجود بعض أيونات المعادن و فقا لتفاعل فنتون (Fenton) بتفاعله مع جذر فوق أكسيد (O_2^-) ، حسب الآلية التالية [3].

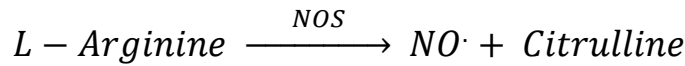


4.1.1.1.IV. جذر الهيدروكسيل ($OH\cdot$) (Hydroxyl radical):

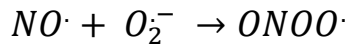
يعد جذر الهيدروكسيل ($OH\cdot$) الأكثر نشاطا و الأقل إستقرارا من بين مجاميع (ROS)، حيث يملك نصف عمر صغير جدا. يتفاعل ($OH\cdot$) مع العديد من الجزيئات التي تكون قريبة منه خاصة الدهون حيث يعمل على إزالة أو إضافة الهيدروجين لروابط غير مشبعة مما يؤدي الى مضاعفة الأضرار و زيادة بشكل كبير في السمية التي يحدثها (ROS) داخل الخلية الحية.

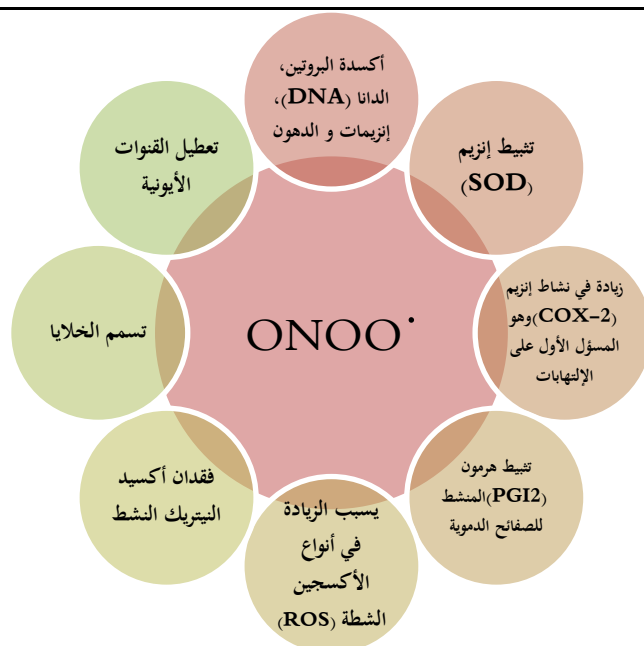
5.1.1.1.IV. جذر أكسيد النتريك ($NO\cdot$) (Nitric oxide):

ينشأ جذر أكسيد النتريك ($NO\cdot$) عن طريق أكسدة الأرجنين (L-arginine) بواسطة إنزيم (NOS) في وجود الأوكسجين، و يكون عادة في الخلايا العصبية حيث يكون له دور في نقل الإشارة العصبية.



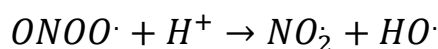
كما يمكن لجذر ($NO\cdot$) أن يتحد مع جذر فوق أكسيد (O_2^-) لإعطاء جذر بيروكسي نترت ($ONOO\cdot$) أنظر المعادلة 00، و الذي يعتبر مؤكسد قوي و عالي النشاطية، و الذي يمكنه إتلاف الأنسجة في حالة الإلتهابات المزمنة ^[4]. الشكل. 2.IV.





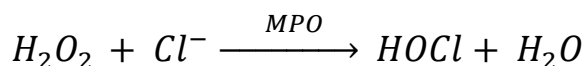
الشكل.2.IV. الأضرار التي تسببها زياد جذر البيروكسي نترت [5,6].

كما ينتج بيروكسي نترت في الأوساط الحمضية جذرين هما الهيدروكسيل ($HO\cdot$) و (NO_2).

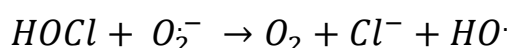


6.1.1.1.IV. كلوريد الهيدروكسيل ($HOCl$) (Chlorid hydroxyl):

يقوم أنزيم الميلوبيروكسيداز (MPO) بالخلايا المتعادلة بأكسدة أيونات (Cl^-) في وجود H_2O_2 لأنتاج جذر عالي النشاطية له قدرة على قتل البكتيريا و الأحياء الدقيقة يدعى كلوريد الهيدروكسيل ($HOCl$) وفق المعادلة التالية:



كما يمكن لـ ($HOCl$) أن يتفاعل مع جذر فوق أكسيد ($O_2^{\cdot-}$) لإعطاء جذر الهيدروكسيل ($OH\cdot$) وفق المعادلة التالية:



2.1.1.IV. مصادر أنواع الأكسجين النشطة:

تنشأ الجذور الحرة بشكل مستمر و بآليات مختلفة.

• المصادر الداخلية (Endogenous):

تنشأ أنواع الأكسجين النشطة داخل الخلية كآلية للحماية ضد الجزئيات الغريبة أو كجزء من نواتج عملية الأيض عبر العديد من الآليات الموجودة داخل الجسم [3].

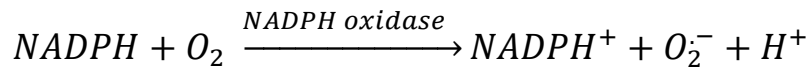
1.2.1.1.IV. الأغشية الميتكوندرية:

و الميتكوندرية هي بنى صغيرة جدا تقع داخل الخلايا وتعمل كمصانع تنتج الطاقة للخلايا على شكل ATP [الأتب، أو ثالث فسفات الأدينوزين] وهو الجزيء الذي يزود معظم العمليات الخلوية بالطاقة، ومثال ذلك ضخ الأيونات عبر أغشية الخلايا، وتقليص ألياف العضلات، وإنشاء البروتينات. ويتم اصطناع ATP عبر متواليات معقدة جدا من التفاعلات، ولكنها تفتضي بالضرورة نشاطا تقوم به سلسلة من المعقدات الجزيئية المنظرة في غشاء الميتكوندرية الداخلي. وبمساعدة الأكسجين، تستخلص هذه المعقدات الطاقة من المغذيات وتستخدمها في تصنيع ATP .

إن آلية الميتكوندرية في سحب الطاقة من المغذيات تؤدي أيضا إلى إنتاج جذور حرة كمُنْتَج ثانوي ، و يُعتقد أن الميتكوندرية هي المسؤولة عن تكوين أكثر الجذور الحرة في الخلايا. وأحد هذه المنتجات الثانوية هو جذر فوق أكسيد (O_2^-). وهذا الجذر مدمر بحكم صفاته الخاصة، ولكن بوسعه أن ينقلب إلى بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، الذي لا يُعدّ جذرا حرا من الوجهة التقنية، غير أنه يستطيع أن يشكل بسهولة وبسرعة جذر الهيدروكسيل الحر ($OH\cdot$) الشديد العدوانية [7].

2.2.1.1.IV. إنزيم (NADPH oxidase):

يتواجد إنزيم (NADPH oxidase) في العديد من الخلايا على مستوى الغشاء البلازمي، حيث يلعب دورا أساسيا في الإستجابة المناعية ضد العضيات الدقيقة و ذلك بإنتاج كميات عالية من جذر فوق أكسيد وفق المعادلة التالية [3].



تؤدي تنشيط (NADPH oxidase) و (MPO) في الحالات الالتهابية إلى نشأة ($HOCL$).

3.2.1.1.IV. إنزيم (XOR) Xanthine oxidoreductase:

يقوم إنزيم (XOR) بإنتاج O_2^- و H_2O_2 خلال عملية تحويل الهيبوكزانتين و الكزانثين الى حمض اليوريا كما يقوم (XOR) بإنتاج جذر $NO\cdot$ خلال عملية تحفيز إرجاع النترات و النتريت الى نتريت و $NO\cdot$ على التوالي [3].

• الخارجية (Exogenous):

تتولد الجذور الحرة داخل جسم الكائن الحي من عدة مصادر خارجية منها :

- الأشعة فوق البنفسجية تساهم في إنتاج (O_2^-) و $(OH\cdot)$ و $(^1O_2)$ [3].
- مبيدات الحشائش و الأفات، التبغ و بعض المركبات الموجودة ضمن الأطعمة تزيد في إنتاج الجذور الحرة عبر تنشيط بعض الإنزيمات.
- أكسدة الأدوية و الكحولات على مستوى الكبد تؤدي الى زيادة إنتاج الجذور الحرة.
- المخدرات التي تساهم في تنشيط إنزيمي (XOR) و (NOS) على مستوى الجلد.
- المواد التروكيماوية و المذيبات.
- أشعة أكس (X-rays) و الأمواج القصيرة (Microwaves).
- القوي الكهرومغناطيسية المنبعثة من خطوط الضغط العالي و المولدات الكهربائية و أجهزة الهاتف الخليوي و شاشات التلفاز و الحاسب الآلي.
- الغازات المنبعثة من عوادم السيارات.
- المعادن كالكروم (Cr) و النحاس (Cu) و الفانديوم (V) فهي محفزات قوية لتفاعلات الأوكسدة و إنتاج الجذور الحرة [3].

2.1.IV. تأثير الإجهاد التأكسدي على الجزيئات الداخلية:

1.2.1.IV. فوق أكسدة الليبيدات:

يصيب الإجهاد التأكسدي كل المكونات الخليوية، و تعد الليبيدات الأكثر تأثراً بهذه الظاهرة، تصيب فوق أكسدة الليبيدات الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة للأغشية الخليوية، مثل أسترات الكوليستيرول، الفوسفوليبيدات و الجليسيريدات الثلاثية. يمكن أن تحدث فوق أكسدة الليبيدات في الظروف الفيزيولوجية و تزداد حدة الحالات المرضية [3].

IV.2.2.1. أكسدة البروتينات:

يمكن أن تتأكسد أغلب الأحماض الإمينية بواسطة أنواع الأكسجين النشطة، و تعد كل من الأحماض الامينية الكبريتية و العطرية الأكثر حساسية. تؤدي أكسدة الأحماض الامينية الى تشكيل مجموعات الكربوكسيل و الكربونيل على البروتينات، لكن يمكن أن تؤدي الى ظهور تغيرات بنائية جد مهمة مثل التشابك داخل الجزيئات أو بينها. و قد تؤدي هذه الأضرار الى تغيرات في بنية البروتينات في حالة الإنزيمات يمكن أن تقود التغيرات على مستوى الموقع النشط الى تثبيطه [3].

IV.3.2.1. أكسدة الدنا (DNA):

تؤدي أكسدة المكونات المختلفة للدنا الى أربع أضرار محتملة :

- تغيرات على مستوى القواعد النووية.
- تغيرات على مستوى المواقع غير القاعدية.
- تشكل جسور بين الدنا و البروتين.
- كسر على مستوى السلاسل الأحادية و الثنائية .

هذه الاضرار تقود الى خطأ في القراءة خلال عملية الاستنساخ [3-8].

IV.3.1. الإجهاد التأكسدي و علاقته بالأمراض:

كلما زادت الجذور الحرة فان قدرتها على اختراق غشاء الخلية ونفاذها للداخل يكون اكبر و هنا يكون الضرر الذي تلحقه هذه الجذور اكبر وتصل الى الميتوكوندرية والكروموسومات اهم مكونات الخلية وتدمرها ، وبالرغم من ان الخلية لديها حمايه ذاتيه وخط دفاعي لافرازها مضادات الاكسده الذاتيه ولكن زيادة الجذور تضعف تلك القدره من مضادات الاكسده الذاتيه والانزيمات التي تفرزها الخلايا [9].

IV.4.1. الإجهاد التأكسدي و علاقته بالشيخوخة:

أُثِّمَت الجذور الحرة بالإسهام في حدوث الشيخوخة وذلك منذ عقد الخمسينات حينما قال [الدكتور هارمان من كلية الطب في جامعة نبراسكا] بأن تشكُّل هذه الجذور الحرة في أثناء الأيض [الاستقلاب] الطبيعي يمزق الخلايا تدريجياً ويوقع الفوضى فيها. ولكن في عقد الثمانينات بدأ العلماء يدركون أن الميتوكوندرية ربما كانت هي الأهداف التي تتلقى أكبر الضربات.

إن الضرر الذي يصيب الميتوكوندرية عن طريق الجذور الحرة يتدخل في نهاية المطاف في فعالية إنتاج ATP ويزيد من إنتاج الجذور الحرة. وهذه الزيادة في الجذور الحرة تقوم بدورها بتسريع الإصابة

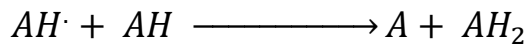
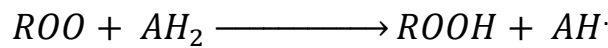
المؤكسدة لمكونات الميتوكوندرية، والتي تثبط إنتاج ATP إلى درجة أكبر. وفي الوقت نفسه، تهاجم الجذور الحرة المكونات الخلوية خارج الميتوكوندرية مؤدية بذلك إلى إضعاف أداء الخلية لوظيفتها. وما إن تصبح الخلايا أقل كفاءة حتى تتبعها في ذلك النُسج والأعضاء المؤلفة منها، ويغدو الجسم ذاته أقل قدرة على دحر التحديات التي تواجهه للحفاظ على استقراره. ويحاول البدن جاهدا إبطال التأثيرات المؤذية للعوامل المؤكسدة. وتملك الخلايا إنزيمات مضادة للمؤكسدات تزيل سمية الجذور الحرة، كما أنها تصنع إنزيمات أخرى تُصلح ما يفسده الضرر التأكسدي. ولكن ليس أي من هذه النُظُم فعالا 100%، لذا يحتمل أن تتراكم إصابة كهذه مع مرور الزمن [9].

2.IV. مضادات الأكسدة:

مضادات الأكسدة نظام دفاعي ضد الأكسدة التي تسببه أنواع الأكسجين النشطة لحماية الخلايا من اضرار هذه الأنواع وتتكون مضادات الأكسدة من بعض الانزيمات التي يصنعها الجسم بالإضافة الى بعض العناصر الغذائية التي يتناولها الانسان ضمن وجبته اليوميه وتعمل عناصر مضادات الاكسدة جميعها معا او بشكل منفرد ضد هذه الجذور الحرة كما تعمل مضادات الاكسدة في عدة جهات:

- فقد تقلل من الأكسجين النشط.
- او تكبح الجذور الحرة من الاكسدة.

وتعمل مضادات الأكسدة بالدرجة الأولى كمانحات للهيدروجين أو مستقبلات للجذور الحرة، أو أنها تتحد مع الجذر وتحوله إلى مركب مستقر كما هو موضح في الآلية التالية:



خلاصة القول أن مضادات الأكسدة تعتبر خط الدفاع الأول والأساسي للخلية وهي تلعب دورا أساسيا حيث تعمل بطريقة أنها تتعرض لهجمات الشقوق الحرة بدلا من مهاجمة خلايا جسم الإنسان.

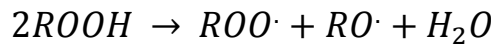
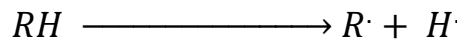
1.2.IV. آلية عمل مضادات الأكسدة:

لقد وضعت عدة نظريات لتفسير آلية عمل المواد المضادة للأكسدة، حيث تعمل مضادات التأكسد الأولية على إعاقة وقطع تفاعلات الانتشار وبالتالي تبطئ عملية التأكسد وتعود لتتسارع عند نفاذه، تعد

متعددات الفينول من أهم مضادات التأكسد وخاصة تلك التي تحمل زمرتي هيدروكسيل أو زمرة هيدروكسيل ومستبدل في المواقع اورتو أو بار، وهي فعالة بالتراكيز المنخفضة وبالدم الحيوانية أكثر من الدم النباتية.

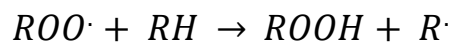
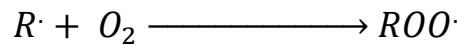
تتميز جذور المواد الدسمة بتفاعلية عالية وتدخل بسرعة في تفاعلات الانتشار من خلال سحب هيدروجين وبالتفاعل مع الأوكسجين، حيث أن المراحل الأساسية للأكسدة عن طريق الجذور الحرة تظهر في سلسلة التفاعلات المتمثلة في المرحلة الابتدائية والانتشار والمرحلة النهائية، ويتم التفاعل في وجود عوامل خارجية مثل الضوء والحرارة أو المواد الكيميائية موضحة كما يلي:

● المرحلة الابتدائية:

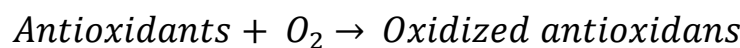
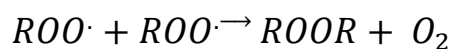
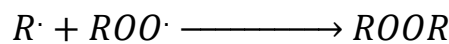
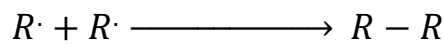


يحدث التأكسد بسرعة عالية بطاقة تنشيط منخفضة جد ولذلك يكون تركيز جذور الألكيل بيروكسي ROO أعلى بكثير من جذور الألكيل R وذلك في جميع المنظومات الغذائية الحاوية على الأوكسجين.

● مرحلة الانتشار:



● المرحلة النهائية:



و تنقسم مضادات الى مضادات الأكسدة الإنزيمية و مضادات الأكسدة الغير انزيمية.

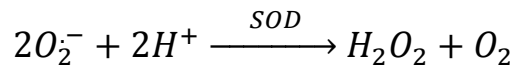
2.2.IV. مضادات الأكسدة الإنزيمية:

تعتبر الانزيمات المضادة للأكسدة خط دفاع اول للجسم ضد الجذور الحرة، وتعد احد الانظمة الخلوية المضادة للأكسدة وتعمل على التخلص من بقايا الاوكسجين الاحادي وتوجد بصورة مؤكسدة او مختزلة حيث تلعب هذه الانزيمات دورا فعالا في وقاية الجسم من التأثير المدمر للجذور الحرة و ينتج الجسم بعض الانزيمات المضادة للأكسدة : منها فوق أكسيد ديسموتاز (Super Oxide Dismutse) والجلوتاثيون GSH و الكاتلاز CAT و مكملات هذه المركبات متاحة لتزويد مخزون الجسم مره ثانيه وتدخل المعادن في تركيب هذه الانزيمات.

وتكفل الانزيمات المختلفة بفضل نشاطها المحفز سرعة حدوث عدد هائل من التفاعلات الكيميائية في الجسم او خارجه لذا تعتبر الانزيمات المحركات الحقيقة لجميع العمليات الحيوية .

• فوق أكسيد ديسموتاز (Super Oxide Dismutse):

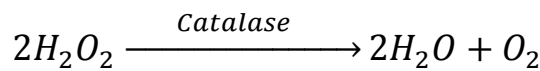
يعتبر هذا الانزيم من أهم الانزيمات الفاعلة كمضاد للأكسدة، فهو يقوم بإزالة جذور فوق الأوكسجين و ذلك بتسريع معدل إزالتها بحوالي أربع مرات بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم و النحاس و الزنك كما يوضحه التفاعل التالي:



و يعتبر فوق أكسيد ديسموتاز (SOD) عامل مؤكسد و مختزل في آن واحد، فإن هذا الإنزيم يقي الكائنات الحية الهوائية من التأثيرات الضارة لهذا الجذر [10].

• الكاتلاز (Calalase):

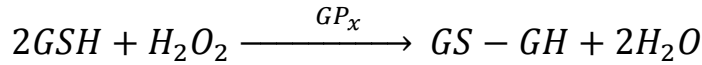
و يوجد في خلايا أنسجة الكائنات الراقية كالدّم و النخاع و الأغشية المخاطية و الكلى و الكبد. كما أن هذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو الأوكسيداز، فبينما يعمل الأوكسيداز على تكوين H_2O_2 يقوم الكاتلاز بتفكيكه الى ماء و أكسجين وفق الألية التالية:



حيث أن جزيئات الماء و الأوكسجين الناتجة ثابتة و مستقرة و لا تشكل أي ضرر على الخلايا [3].

• جلوتاثيون بيروكسيداز (Glutathione Peroxidase):

يوجد هذا الإنزيم في خلايا الدم الحمراء و الأنسجة الأخرى، و يقوم هذا الإنزيم بتحفيز تفكيك H_2O_2 بواسطة جلوتاثيون مختزل (GSH) ليعطي الجلوتاثيون المؤكسد (2GS) و الماء وفق الآلية التالية:



يقوم جلوتاثيون بيروكسيداز بحماية دهون الأغشية الحيوية و الهيموجلوبين ضد الأكسدة [11].

3.2.IV. مضادات الأكسدة غير الإنزيمية

1.3.2.IV. عديدات الفينول:

1.1.3.2.IV. تعريف:

عديدات الفينول هي مركبات طبيعية ذات مصدر نباتي تشكل حيزا كبيرا في حقل المنتجات الطبيعية نظرا لكثرة عددها ولتباين هياكلها، الأمر الذي يستدعي دراستها في مراجع متخصصة على هيئة مجموعات وفقا لهذه الهياكل.

والعنصر الأساسي المميز لها هو وجود حلقة بنزينية واحدة على الأقل، حاملة لمجموعة هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى (إيثر، أستر، سكر) غير أن تعريفا كيميائيا صرفا للفينولات بهذه الطريقة يعد غير كاف لتشخيص المركبات الفينولية النباتية [12]، إذ أن هناك منتجات أيضا ثانوية أخرى تشمل هذا التعريف أيضا ولكنها تنتمي إلى مجموعات كيميائية نباتية مختلفة مثل بعض القلويدات (كالمورفين Morphin) وبعض التربينات (كالتيمول Thymol) التي تضم في بنائها حلقة بنزينية ومجموعة هيدروكسيل فينولية مما يستوجب إدخال شرط الاصطناع الحيوي لحصر حدود هذه المجموعة [13]، و ليكون تعريف المركبات الفينولية أكثر ضبطا، يستوجب أن يكون على النحو التالي :

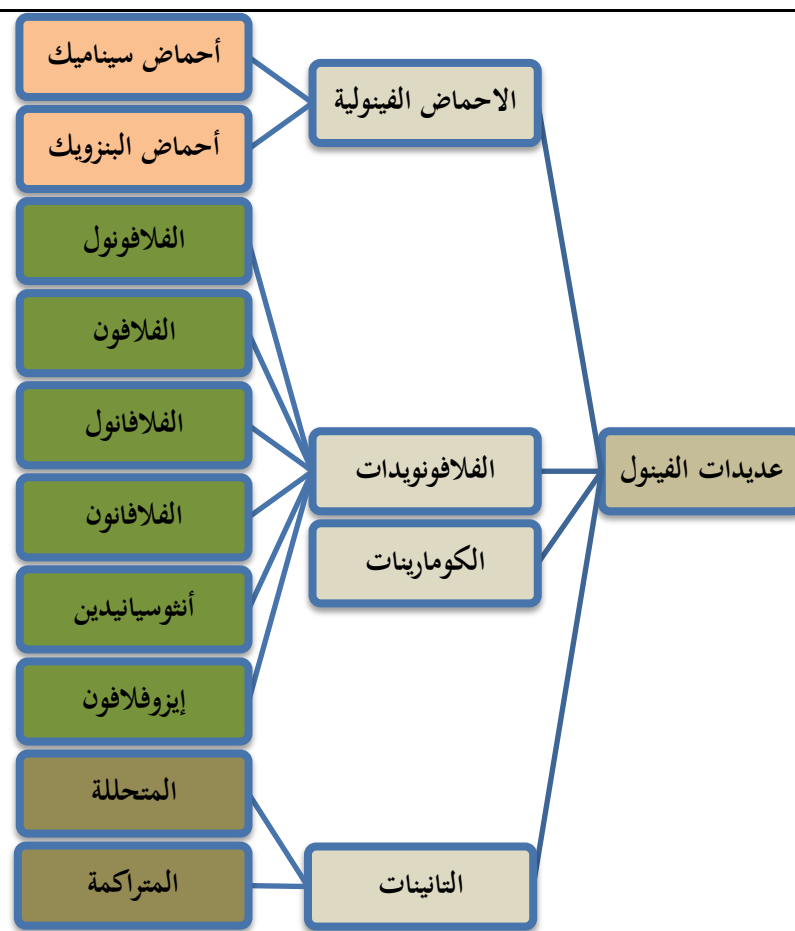
مشتق غير أزوتي حاوي على حلقة بنزين أو أكثر تحمل مجموعة هيدروكسيل حرة أو مرتبطة بوظيفة أخرى تكونت حلقاتها العطرية إما من حمض شيكيمييك أو عديد الأستات [14،15].

2.1.3.2.IV. أقسامها:

إن تصنيف المركبات الفينولية الطبيعية مقترحة من طرف العالم (HARBORNE) عام 1989 والعالم (Macheix) 1990 حيث وجدوا أن المركبات الفينولية تضم حوالي 8000 مركب مقسمة إلى عدة أصناف و أهم هذه الأصناف هي:

- الأحماض الفينولية: الأحماض المشتقة من حمض بنزويك، الأحماض المشتقة من حمض سيناميك.
- الفلافانويدات.
- التانينات، اللقنينات. بالإضافة إلى المركبات الأقل كثافة: الكومارينات، الستلبيينات.

و الشكل التالي الشكل 3.IV. يوضح هاته التصنيفات و تقاسيمها^[16،1]:



الشكل.3.IV. مخطط لتصنيف عديد الفينول

2.3.2.IV. الاحماض الفينولية:

تنقسم الاحماض الفينولية الى قسمين هما أحماض سيناميك و أحماض بنزويك. بما أن منتجات النحل ذات مصدر نباتي فإن أهم الاحماض الفينولية المتواجدة بها هي تلك التي يجنيها النحل من المحيط النباتي له سواء كانت رحيق، أو حبوب لقاح، أو بروبوليس، لذلك نرى تنوع كبير في هاته المركبات حسب مناطق رعي النحل [17].

1.2.3.2.IV. الأحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك:

تمتلك الأحماض الفينولية الهيكل (C₆-C₁) ومشتقات حامض البنزويك تعد واسعة الانتشار سواء مرتبطة أو حرة أو في حالة سكريات أو أسترات.

جدول 1.IV. بعض أحماض الفينولية المشتقة من حمض البنزويك و المتواجدة في منتجات النحل [18].

| R3 | R2 | R1 | الحمض الفينولي | الهيكل الأساسية |
|------|----|------|---------------------|-----------------|
| OH | OH | OH | Gallic acid | |
| H | OH | OH | Protocatechuic acid | |
| H | OH | H | p-HBA | |
| OCH3 | OH | OCH3 | Syringic acid | |
| OCH3 | OH | H | Vanillic acid | |

2.2.3.2.IV. الأحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك:

أغلبية الأحماض الفينولية من الهيكل (C₆-C₃)، حيث تنتشر الأحماض المشتقة من حمض السيناميك بكثرة ويعتبر حمض (ferulic) وحمض (caffeic) الأنواع الرئيسية الأكثر انتشارا لها يتواجد هذا الأخير بكثرة في البروبوليس و بنسب أقل في حبوب اللقاح و العسل، أما حمض (ferulic) فيتواجد بصفة أقل في منتجات النحل أقل. أما بقية الأحماض الأخرى مثل (2-coumaric acid) تعد الأقل تكرار و نادرا ما تكون حرة.

جدول 2.IV. بعض أحماض الفينولية المشتقة من حمض السيناميك و المتواجدة في منتجات النحل.

| R3 | R2 | R1 | الحمض الفينولي | الهيكل الأساسية |
|------|----|------|-----------------|-----------------|
| OH | OH | H | Caffeic acid | |
| H | OH | H | p-coumaric acid | |
| OCH3 | OH | H | Ferulic acid | |
| OCH3 | OH | OCH3 | Sinapic acid | |
| H | H | H | Trancinnamic | |

عندما يتأكسد حمض السناميك في الوضع أورثو للسلسلة الجانبية له وتكوين حلقة اللاكتون مع نزع جزيء من الماء سوف يؤدي ذلك لتكوين الكومارين الذي يعتبر فسيولوجيا أنشط الفينولات فهو المسئول عن تثبيط نمو الكائنات الدقيقة التي قد تهاجم النبات [19].

3.3.2.IV. الكومارينات:

أشتق اسم الكومارينات من كلمة (coumarou) و هو أسم لنبات (Dipteryx odorata Willd) من عائلة (Fabaceae) التي فصل منها الكومارين، تعتبر الكومارينات مركبات طبيعية تتواجد على شكل اجليكونات أو مرتبطة بجزيئة سكر مشكلة جليكوزيدات. تتشكل حلقتين سداسيتين إحداها عطرية والأخرى مغايرة.

يعتبر البروبوليس من أغنى منتجات النحل بالكومارينات حيث تم الكشف و التقدير للعديد منها مثل ما قام به (Hroboňová, K) حيث كشف و قدر -4 (esculin, daphnetin, fraxetin, umbelliferone, methylumbelliferone, 4-hydroxycoumarin, scoparone, coumarin, herniarin) [20]

جدول.3.IV. بعض الكومارينات المتواجدة في منتجات النحل.

| R3 | R2 | R1 | الكومارين | الهيكلية الأساسية |
|------|------|-----|-----------------------|-------------------|
| H | H | H | Coumarin | |
| OCH3 | H | H | Herniarin | |
| OH | H | CH3 | 4-methylumbelliferone | |
| OH | OCH3 | H | Scopoletin | |
| OH | H | H | Umbelliferone | |

4.3.2.IV. التانينات:

1.4.3.2.IV. تعريف:

هي مركبات ذات بنى معقدة وزنها الجزيئي من 500 إلى 3000 وحدة، تستعمل في الدباغة طعمها غير مستساغ ترسب الفلويديات والبروتينات، و هي ذات مصدر نباتي تتواجد في اللحاء و الثمرة و الاوراق و الجذور، وهي نوعان:

2.4.3.2.IV. التانينات المتحللة :

وهي عبارة عن جزيئات معقدة أسترات لسكر (عديد الهيدروكسي) وعدد متغير من جزيئات حمض الفينول، تحللها ينتج شفا سكريا، أغلب الأحيان يكون الغلوكوز وشفا فينوليا مشكلا أساسا من حمض الغاليك أو حمض الايلاجيك وتتميز بالذوبانية في الماء [21].

3.4.3.2.IV. التانينات المترابطة :

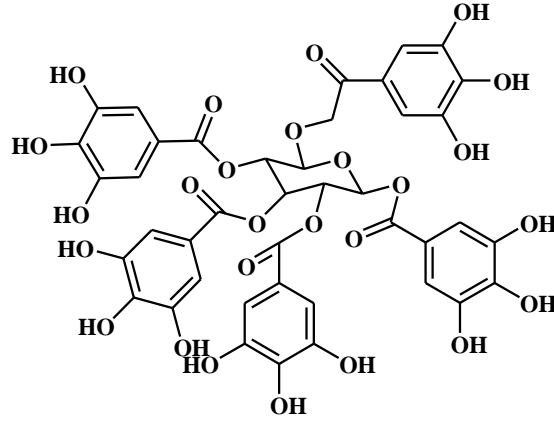
لا تذوب في الماء وهي الأكثر انتشارا وهي ناتجة من البلمرة لجزيئات أولية تمتلك البنية العامة للفلافونويدات ويعد الـ (flavan-3-ols) catechines أو (flavan-3,4-diols) coanhtocyanidine الأكثر أهمية، وترتبط فيما بينها بروابط كربونية وفي أغلب الأحيان تكون بين المواقع (4,8) أو (6,4) [22].

4.4.3.2.IV. التانينات في منتجات النحل:

هل يوجد تانينات في منتجات النحل؟ الاحتمال الأكبر سيكون في البروبوليس لأن مصدره من أغنى الاجزاء النباتية بهاته المركبات، وقد طرح هذا السؤال الباحث البرازيلي (Marco A. S. Mayworm) في عنون دراسته التي إحتوت الجواب، حيث أثبت أن البروبوليس البرازيلي تصل فيه نسبة التانينات الى 28% من مجموع الفينولات [23]. كما ورد في دراسة (Tariq N. Musa) للبروبوليس العراقي أنه يحتوي على 10% من التانينات [24].

كما تطرق الباحث (Rajinder Kaur) في دراسته الى الكشف عن التانينات في منتجات النحل، و وجد أن حبوب اللقاح و البروبوليس يحتوي على التانينات فيما كانت نتيجة العسل سلبية [25].

من المركبات التانينية المتحللة التي تم تقديرها في البروبوليس مركبات (gallotannins) و (ellagitannins) [26].



الشكل.4.IV. التانينات المتحللة.

5.3.2.IV. الفلافونويدات:

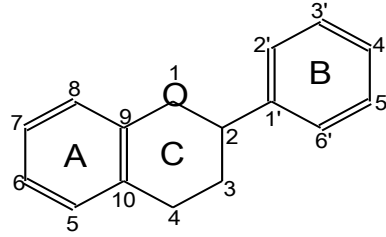
1.5.3.2.IV. تعريف:

كلمة الفلافونويدات مشتقة من اللفظ اللاتيني (Flavous) التي تعني اللون الأصفر وهي عبارة عن صبغات ملونة تنتشر في معظم الأصناف النباتية، تتميز بصفة خاصة في الجزء الهوائي من النبات على شكل مركبات ذات أساس سكري (وجود السكر في الجزيئة يكسبها القدرة على الإذابة في الماء) أو على شكل مركبات حرة في الفجوات والسيتوبلازما والأغشية اللببية، تم استخراج أكثر من 8000 فلافونويد طبيعي

[27-28]

تقسم الفلافونويدات بنيويا إلى 15 عائلة أهمها ماييلي : الفلافون، الفلافونول، الفلافانول الأيزوفلافون، الشاكلون، الأورون، الأنثوسيان. ويمكن لهذه المركبات أن توجد بصورة حرة وتعرف بالأجليكونات وبصورة جليكوزيدات. الشكل.5.IV.

و الفلافونويدات عموما ذات كتل جزئية منخفضة تتميز بهيكل أساسي يحتوي على 15 ذرة كربون موزعة على حلقتين عطريتين A و B مرتبطين بحلقة C غير متجانسة تحتوي على ذرة أكسجين من الصيغة $C_6-C_3-C_6$ كم هو موضح فيما يلي:



الشكل.5.IV. الهيكل الأساسي للفلافونويدات

2.5.3.2.IV. تصنيف الفلافونويدات:

بنويها تتفرع إلى عدة أنواع تبعا لعدد، موضع و طبيعة المستبدلات و الشكل.3.IV. يوضح مختلف أقسام هذه المركبات:

يعد البروبوليس من أغنى منتجات النحل بالفلافونويدات، حيث أن معظم الابحاث التي أجريت عليه هي عبارة عن تشخيص و تقدير أنواع جديدة من الفلافونويدات، و قد تم إكتشاف العديد من المركبات ذات الفاعلية الطبية مصدرها البروبوليس و مازلت الابحاث و الاكتشافات متواصلة، كما لا يخلوا العسل و حبوب اللقاح من هاته المركبات الا أنها بصفة أقل كما و نوعا.

من الفلافونويدات المنتشرة و الشائعة في منتجات النحل ما هو موضح في الجداول التالية:

جدول.4.IV. بعض الفلافونويدات الواسعة الانتشار في المملكة النباتية و منتجات النحل.

| R5' | R4' | R3' | R7 | R3 | الفلافونويد | الهيكل الأساسية |
|-----|-----|------|------|--------------|--------------|-----------------|
| H | OH | OH | OH | H | Luteolin | |
| H | OH | H | OH | OH | kaempferol | |
| OH | OH | OH | OH | OH | Myricetin | |
| H | OH | OH | OCH3 | OH | Rhamnetin | |
| H | OH | OH | OH | OH | Quercetin | |
| H | OH | OH | OH | O-rutinoside | Rutin | |
| H | OH | OH | OH | O-rutinoside | Quercitrin | |
| H | H | H | OH | OH | Galangin | |
| H | OH | OCH3 | OH | OH | isorhamnetin | |

جدول 5.IV. بعض الفلافونويدات المختصة بمنتجات النحل.

| R4' | R3' | R7 | الفلافونويد | الهيكل الأساسية |
|-----|------|--------------|-------------|-----------------|
| H | OH | OH | Naringenin | |
| H | OH | O-rutinoside | Naringin | |
| OH | OCH3 | O-rutinoside | Hesperigin | |
| H | H | OCH3 | Pinostrobin | |
| H | H | OH | Pinocembrin | |

3.5.3.2.IV. بعض المركبات المكتشفة حديثًا :

تم السنوات الأخيرة عزل و تشخيص الكثير من المركبات و الفلافونويدات المتوجدة في منتجات العسل خاصة البروبوليس، و الجدول التالي يوضح اهم الفلافونويدات التي عزلت من منتجات النحل ما بعد سنة 2000م^[29].

جدول 6.IV. بعض الفلافونويدات المكتشفة حديثًا بمنتجات النحل.

| المصدر | اسم المركب | الرقم |
|----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Flavones | | |
| بولندا | 3',5-Dihydroxy-4',7-dimethoxy flavone | 1 |
| مصر | Hexamethoxy flavone | 2 |
| Flavonols | | |
| إيسلند | 2'-(8''-Hydroxy-3'',8''-dimethyl-oct-2''-enyl)-quercetin | 3 |
| المكسيك | (7''R)-8-[1-(4'-Hydroxy-3'-methoxyphenyl)prop-2-en-1-yl]-galangin | 4 |
| Flavanones | | |
| تايوان | Propolin A,B,E | 5 |
| البرازيل | (2S)-7-Hydroxyflavanone | 6 |
| Isoflavones | | |
| البرازيل | 7,4'-Dihydroxyisoflavone | 7 |
| البرازيل | 4',7-Dimethoxy-2'-isoflavonol | 8 |
| Flavans | | |
| الصين | 8-[(E)-4-Phenylprop-2-en-1-one]-(2R,3S)-2-(3,5-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-2-be-nzopyran-5-methoxyl-3,7-diol | 9 |
| المكسيك | 3-Hydroxy-5,6-dimethoxyflavan | 10 |
| Isoflavans | | |
| البرازيل | (3S)-Vestitol, (3S)-Isovestitol, (3S)-Mucronulatol | 11 |
| كوبا | Neovestitol | 12 |
| Pterocarpins (a type of neoflavonoid) | | |
| كوبا | Medicarpin | 13 |
| كوبا | Homopterocarpin | 14 |
| Open-chain neoflavonoids | | |
| نيبال | Neoflavonoid 1-10 | 15 |
| نيبال | (S)-3'-hydroxy-4-methoxydalbergione | 16 |

3.5.3.2.IV. النشاطية الحيوية للفلافونويدات:

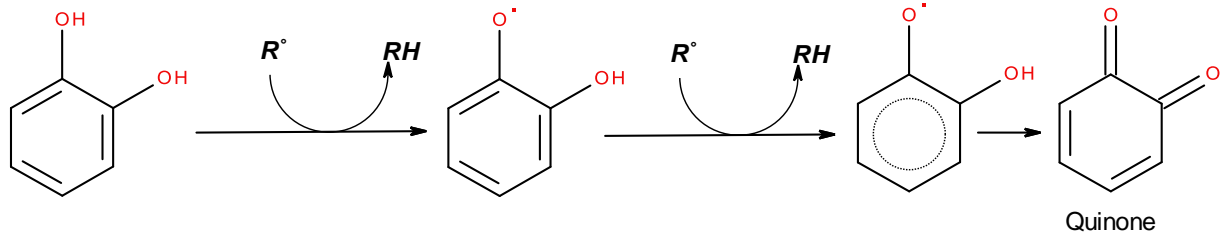
تعتبر الفلافونويدات من أكثر المركبات الفينولية تأثيراً في حيوية الخلايا الحية، حيث تعتبر أهم مضاد للأكسدة تعتمد عليه بعد الإنزيمات الذاتية التي تتولد في الجسم الحي، و يمكنها أن تؤثر على الإجهاد التأكسدي بطرق مختلفة، تتمثل في مايلي:

- الالتقاط المباشر لأنواع الأكسجينية النشطة.
 - حجز معادن الانتقال مثل الحديد (مانعة بذلك تفاعل فانتون).
 - تثبيط نشاط بعض الإنزيمات المسؤولة عن إنتاج الجذور الحرة [30].
- أ- الإلتقاط المباشر للجذور الحرة:

تستطيع الفلافونويدات إختزال العديد من الجذور الحرة مثل أنواع الأكسجين النشطة و ذلك بإعطاء ذرة هيدروجين وفق مايلي:



حيث يمثل $R \cdot$ جذر فوق أكسيد الأكسجين، جذر ا هيدروكسيل أو جذور أخرى، و يمكن أن يتفاعل الجذر الفلافونوكسي $Fl - O \cdot$ مع جذر آخر لتشكل كينون (Quinone) مستقر [31].



الشكل.6.IV. آلية ألتقاط الجذور الحرة عند الفلافونويدات

ب- تثبيط الإنزيمات المنتجة للجذور الحرة:

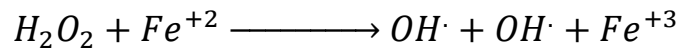
يمكن للفلافونويدات تثبيط الإنزيمات التالية:

- إنزيم (Glutathione S-transferase) [32].
- إنزيم (Lipoxygenases) [33].
- إنزيم (Cyclooxygenases) [34].

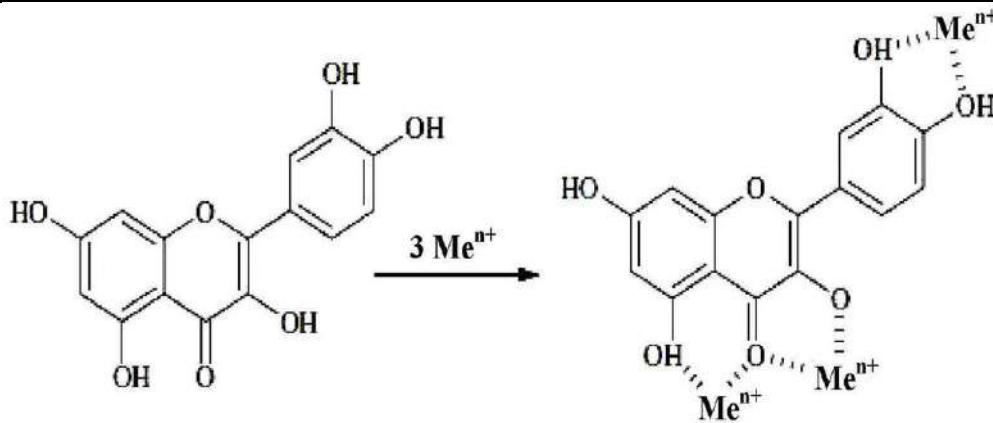
- إنزيم (Xanthine oxidase) [35]
- إنزيم (Nitric oxide synthase) [36]

ج- التداخل مع الشورد المعدنية:

تعتبر الأيونات المعدنية أساسية في بعض الوظائف الحيوية، فيمكن أن تكون أيونات الحديد و النحاس مكونات للبروتينات الدموية، و ذلك إما أن يكون مرافقات إنزيمية مختلفة للأنظمة الدفاعية المضادة للأكسدة، مثل الحديد بالنسبة للكاتلاز، و النحاس و الزنك بالنسبة لإنزيم فوق أكسيد ديسموتاز (SOD)، يمكن أن تسبب هاته الأيونات ضررا و ذلك أنها تكون سبب في إنتاج جذر الهيدروكسيل $OH\cdot$ الأكثر نشاطا إنطلاقا من الأنواع الأكسجينية الأقل نشاطا مثل H_2O_2 عن طريق تفاعل فنتون، وفق مايلي:



تعتبر الفلافونويدات ملتقطات جيدة لأيونات المعادن، و ذلك بتشكيلها لمعقدات مستقرة مع هاته الأيونات و بذلك تكون قد عملت على تثبيط تفاعل فنتون المنتج للجذور.



الشكل.7.IV. مواقع التقاط الأيونات المعدنية في الفلافونويدات [37]

الفصل الخامس

المواد و طرق العمل

في هذا الفصل تم استخلاص و تقدير المواد الفعالة من متعددات الفينول و الفلافونويدات الكلية بواسطة الطرق الطيفية كما تم تقدير بعض الاحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC)، و تم ايضا دراسة السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و بعض المركبات الفينولية و علاقته بكمية الفينولات و الفلافونويدات.

V.المواد و طرق العمل:

1.V.المواد الكيميائية:

كل المواد الكيميائية المستعملة في هذا القسم هي مواد كيميائية تحليلية وبنسبة نقاوة عالية، من إنتاج مؤسسة (Alfa Aesar).

2.V. الاجهزة:

أجريت الدراسة الكيميائية بإستعمال جهاز المطيافية فوق البنفسجية و المرئية (UV-1800) ، كما أجريت الدراسة الكهروكيميائية للمستخلصات بواسطة جهاز (PGZ402VoltaLab80) المرفوق ببرنامج (VoltaMaster 4.07) و أستعملت تقنية الفولتامتري الحلقي.

السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات تم في خلية زجاجية بسعة 50 ملل تحوي ثلاث أقطاب: قطب مرجعي و هو قطب الكالوميل المشبع (ECS)، قطب مساعد و هو سلك بلاتين، قطب عمل و هو قطب الكربون الزجاجي ($\text{Ø}=3\text{mm}$).

جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء نوع (HPLC-RP-C18)، مرفوق بمضختين (Pompe A et Pompe B) نوع (LC 20 AL) لنقل الطور المتحرك تحت ضغط ، مرفوق ببرنامج تشغيل (LC Solution).

- نوع عمود الفصل (C-18) ، طوله 250 ملم وقطرها الداخلي 4.6 ملم.
- الكاشف أحادي اللون (الأشعة فوق البنفسجية) نوع SPD-20A

3.V. العينات:**1.3.V. تحضير المستخلصات:****1.1.3.V. العسل:**

تم إستخلاص المركبات الفينولية حسب طريقة (Sabatier, S) مع التعديل [40-38]، و التي تركز على ذوبانية هاته المركبات في المذيبات العضوية و الغير العضوية. تم إستخدام الميثانول و الماء حيث تم إذابة 10 غرام من عينة العسل في 100 مل [20/80 ميثانول/ماء] هذا مع مساعدة حوض الامواج الفوق صوتية 30 دقيقة، و في درجة حرارة الغرفة، بعدها يرشح المحلول و يتم تبخير الميثانول، بواسطة جهاز التبخير (Rotavapor) تحت درجة 45°م [41].

2.1.3.V. حبوب اللقاح:

قبل عملية الاستخلاص تم تنظيف عينات حبوب اللقاح من الشوائب العالقة بها، تم بعد ذلك تجفيفها في فرن التجفيف تحت درجة 50°م، بعد التجفيف طحنا العينات، و إستخلصنا الليبيدات بواسطة سوكللي لمدة 4 ساعات و ذلك بأخذ إيثر البترول كمذيب [42،43].

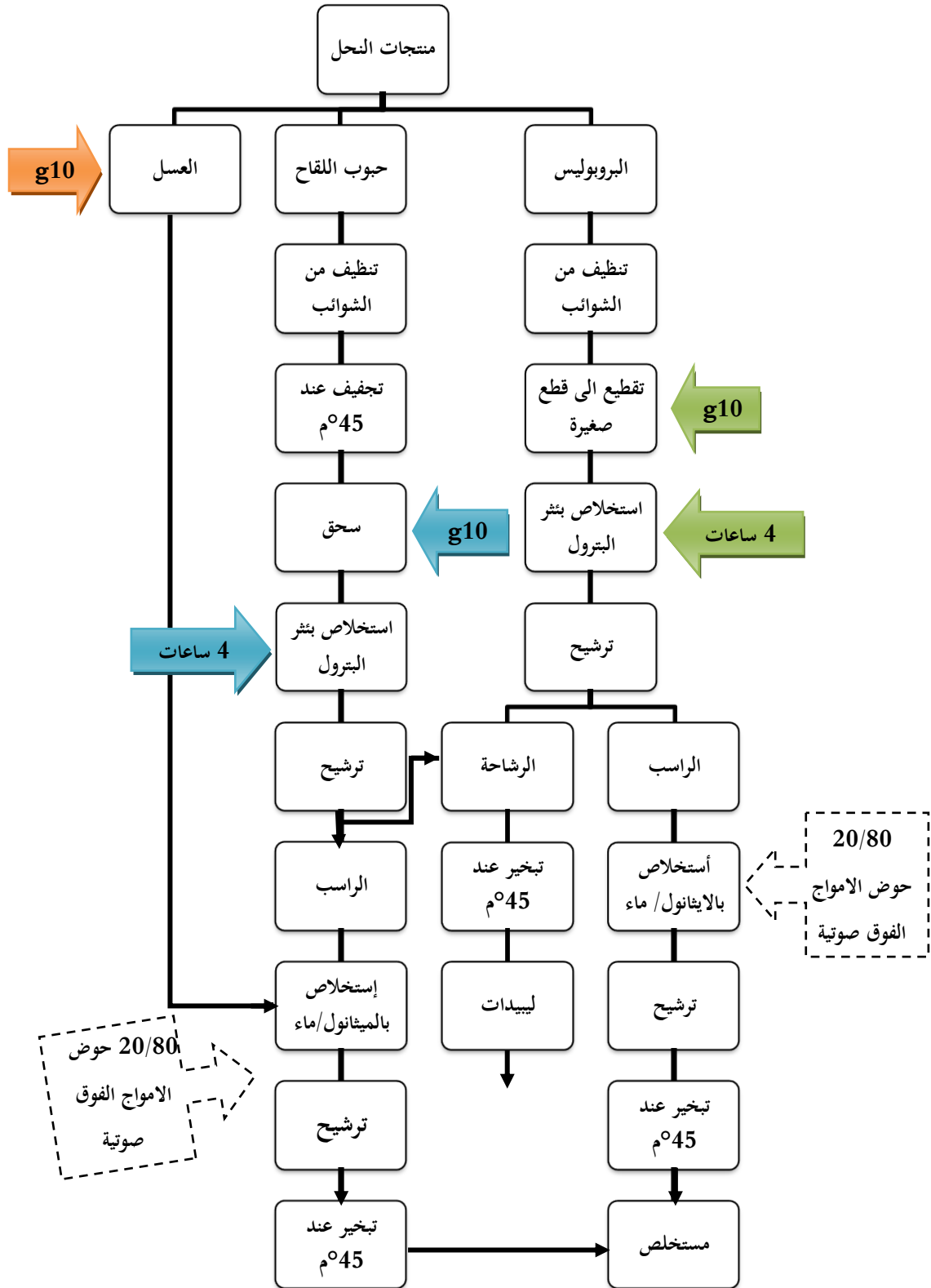
بعد الحصول على مسحوق حبوب اللقاح خالية من الليبيدات، تم استخلاص المركبات الفينولية وفق طريقة (Morais) [44]، حيث أستخدم 50 مل [80 ميثانول/ماء] لكل 10 غرام و بمساعدة حوض الأمواج الفوق صوتية لمدة 30 دقيقة. بعدها يرشح المحلول ويتم التبخير بواسطة جهاز التبخير (Rotavapor) تحت درجة 45°م.

3.1.3.V. البروبوليس :

هناك الكثير من الدراسات عن طرق إستخلاص المواد الفعالة من البروبوليس منها الطرق التي إقترحتها الباحثة (Trusheva) [45]، قبل عملية الاستخلاص تم تنظيف عينات البروبوليس من الشوائب العالقة بها، و إستخلصنا الليبيدات بواسطة سوكللي لمدة 4 ساعات و ذلك بأخذ إيثر البترول كمذيب [42،43].

بعد الحصول على بروبوليس خالي من الليبيدات و الشموع، تم استخلاص المركبات الفينولية وفق طريقة (Trusheva) بعد بعض التعديلات [45]، حيث أستخدم 50 مل [80 ايثانول/ماء] لكل 10 غرام و بمساعدة حوض الأمواج الفوق صوتية لمدة 30 دقيقة. بعدها يرشح المحلول ويتم التبخير بواسطة جهاز التبخير (Rotavapor) تحت درجة 45°م.

يمكن تلخيص خطوات استخلاص المنتجات الثلاثة لخلية النحل في الشكل 1.V.



الشكل 1.V. مخطط لإستخلاص المركبات الفعالة من منتجات النحل.

2.3.V. تقدير المحتوى الفينولي و المواد الفعالة:

1.2.3.V. تقدير كمية الفينولات:

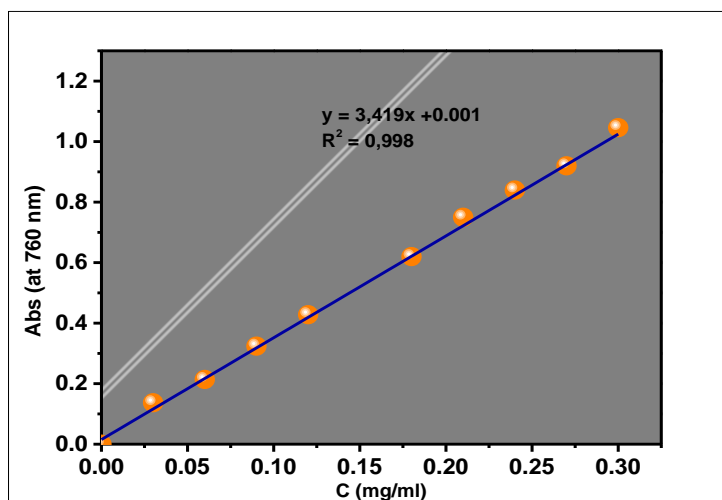
تقدر الفينولات بطريقة (Singleton Rossi) بمساعدة كاشف الفولين Folin-ciocalteai ، حيث أن هذا الكاشف يتكون من حمض فوسفوتنغستينيك ($H_3P_{12}O_{40}$) وحمض فوسفوموليبيديك ($H_3PMO_{12}O_{40}$) الذي يرجع بواسطة الفينولات إلى أكاسيد التنغستين (W_8O_{23}) والموليبيدين (Mo_8O_3) ذات اللون الأزرق [46].

يتم تقدير المركبات الفينولية كميًا بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق بنفسجية و المرئية (UV-Vis) بإستعمال حمض الغاليك كفينول مرجعي عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 760nm$.

ويتم ذلك عمليا بتحضير محاليل ممددة لحمض الغاليك ذو تراكيز مختلفة محصورة ما بين (0,3-0,03)mg/ml، وبإضافة 0,5 ml من كاشف الفولين المخفف و 2ml من محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 بتركيز 20% لكل 100 μl من التراكيز المحضرة و بمزجها بواسطة جهاز المزج الكهربائي ثم تركها في الظلام لمدة 30 min، تتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية الضوئية لها بواسطة جهاز UV عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 760nm$. [47].

نتحصل على المنحنى القياسي لحمض الغاليك برسم تغير الإمتصاصية الضوئية بدلالة التركيز $A=f(C)$ ، كما هو موضح في الشكل 2.V. تعامل المحاليل المحضرة لعينات العسل و مستخلصات حبوب الطلع و البروبوليس بنفس معاملة حمض الغاليك، و بعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لهذه المحاليل تستخدم المعادلة التالية في حساب كمية الفينولات.

$$Abs = 3.419 C + 0.001 \text{ (mg/ml)}, (R^2=0.998)$$



الشكل.2.V. المنحنى القياسي لحمض الغاليك

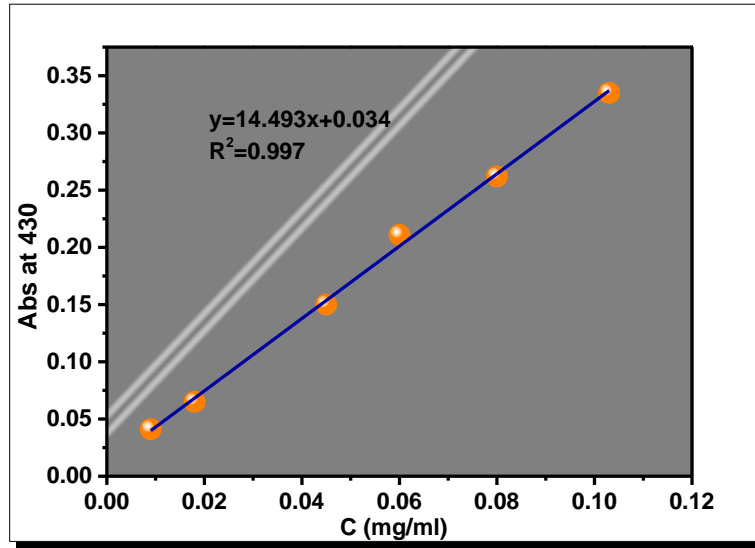
2.2.3.V. تقدير كمية الفلافونويدات:

يعتمد في تقدير الفلافونويدات على قدرة تكوين المعقد الأصفر بين ثلاثي كلور الألمنيوم ($AlCl_3$) مع مجموعة الهيدروكسيل (OH) الموجودة على الحلقات البنزينية للفلافونويدات، حيث يشكل معقدا ثابتا بين مجموعة الكربونيل و هيدركسي الموقع 5 و 3، كما يشكل معقدات غير ثابتة مع مجموعتي اورثو هيدركسي، ذو معامل إمتصاص عال. ويمتص عند طول موجة $\lambda_{max} = 430nm$.

تقدر كمية الفلافونويدات بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق بنفسجية و المرئية (UV-Vis) بإستعمال الروتين كمحلول قياسي عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 430nm$. ويتم ذلك عمليا بتحضير محاليل بتراكيز مختلفة للروتين محصورة ما بين (0,1-0,02)mg/ml، وبإضافة 1ml من محلول ثلاثي كلور الألمنيوم $AlCl_3$ ذو تركيز 2% لكل 1ml من التراكيز المحضرة و بمزجها بواسطة جهاز الرج الكهربائي ثم تركها في الظلام لمدة 30 min، تتم بعد ذلك قراءة الإمتصاصية الضوئية لها بواسطة جهاز طيف الأشعة فوق بنفسجية و المرئية (UV-Vis) عند الطول الموجي $\lambda_{max} = 430nm$ [48].

و من ثم نتحصل على المنحنى القياسي للروتين برسم تغير الإمتصاصية الضوئية بدلالة التركيز و كما هو موضح في الشكل.3.V. تعامل المحاليل المحضرة لعينات العسل و مستخلصات حبوب الطلع و البروبوليس بنفس معاملة الرتين، و بعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لهذه المحاليل تستخدم المعادلة التالية في حساب كمية الفلافونويدات.

$$\text{Abs} = 14.493 C + 0.034 \text{ (mg/ml)}, (R^2=0.997)$$



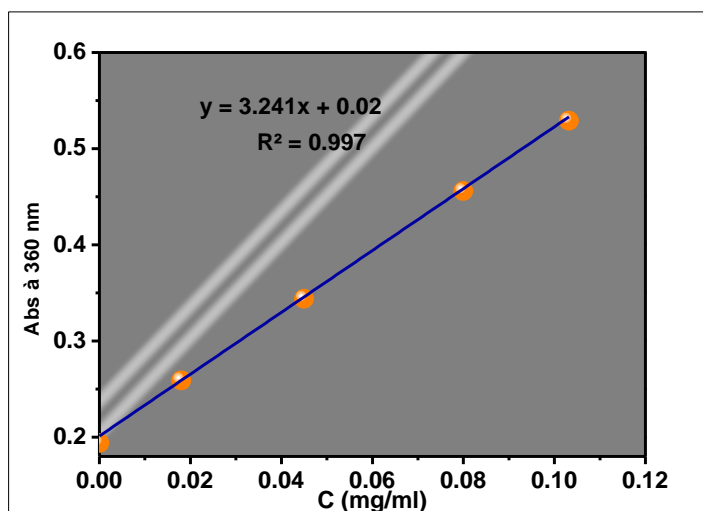
الشكل 3.V. المنحنى القياسي للروتين

3.2.3.V. تقدير كمية الفلافونولات:

تم تحضير تراكيز مختلفة من الكرسيتين (مركب قياسي) تكون محصورة بين (0.1 و 0.01 g/ml) و نأخذ من كل محلول ذو تركيز معين 0.125 ml ونضعها في أنبوب اختبار نضيف لها 0.125 ml من (0.1% HCl) في الميثانول، ثم نضيف 2.250 ml من (0.2% HCl) في الماء، نرج الأنابيب جيدا ليتجانس المحلول ونضعها في الظلام لمدة 30 دقيقة. تتم القراءة الامتصاصية بجهاز طيف الأشعة فوق بنفسجية و المرئية (UV-Vis) عند طول الموجة $\lambda_{\max} = 360\text{nm}$ [49].

و من ثم نتحصل على المنحنى القياسي للكرسييتين برسم تغير الإمتصاصية الضوئية بدلالة التركيز $A=f(C)$ ، كما هو موضح في الشكل 4.V. تعامل المحاليل المحضرة لعينات العسل و مستخلصات حبوب الطلع و البروبوليس بنفس معاملة الرتين، و بعد الحصول على قيم الإمتصاصية الضوئية لهذه المحاليل تستخدم المعادلة التالية في حساب كمية الفلافونولات.

$$\text{Abs} = 3.241 C + 0.02 \text{ (mg/ml)}, (R^2=0.997)$$



الشكل 4.V. المنحنى القياسي للكريستين

3.3.V. تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC)

تم تقدير بعض المركبات الفينولية بواسطة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC) وفقا للشروط المحسنة الموضحة في الجدول 1.V. حيث تم فصل المكونات و تقديرها بالاستعانة بالمنحنيات القياسية المتحصل عليها من خلال تحسين شروط الطريقة [50].

الجدول 1.V. الشروط التجريبية لجهاز (HPLC) لفصل المركبات الفينولية المدروسة.

| الشروط | العامل |
|----------------------------------------------------|---------------|
| الطور المعكوس RP-HPLC | النظام |
| (25 cm x 46 nm) C18 | العمود |
| 20µl | حجم المحقن |
| 1ml/min | معدل التدفق |
| $\lambda = 300 \text{ nm}$ | طول الموجة |
| 50 min | الزمن |
| 25 °C | درجة الحرارة |
| (A) أسيتونتريل (acetonitrile). | الطور المتحرك |
| (B) حمض الخل (0.2% acid acetique) H ₂ O | |

و الجدول.2.V. يوضح تغيرات نسبة الطور المتحرك A و B بدلالة الزمن:

الجدول.2.V. تغيرات نسبة الطور المتحرك بدلالة الزمن.

| نسبة (B) | نسبة (A) | الزمن (min) |
|----------|----------|-------------|
| 90 | 10 | 0.01 |
| 90 | 10 | 0.02 |
| 86 | 14 | 6.00 |
| 83 | 17 | 16.00 |
| 81 | 19 | 23.00 |
| 77 | 23 | 28.00 |
| 90 | 10 | 30.00 |
| 90 | 10 | 50.00 |

يعتمد تقدير الفينولات في العينات على إستعمال المنحنيات القياسية للمركبات الفينولية المراد تقديرها.

4.V. دراسة السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و المركبات الفينولية:

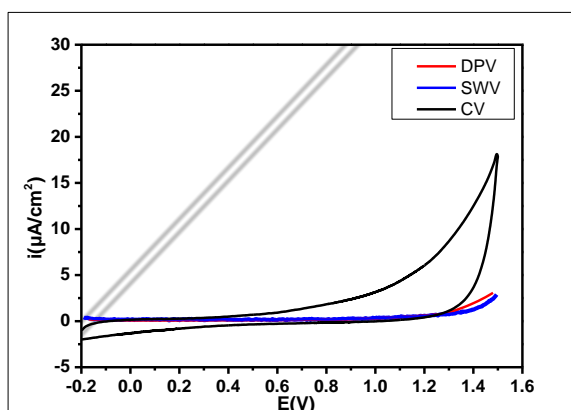
1.4.V. الالكتروليت المساعد:

من أجل الحصول على وسط ناقل للكهرباء، نضيف أملاح خاصة يصعب أكسدتها وإرجاعها في مجال الدراسة المختار، ويتم الاختيار على أساس الخصائص التالية:

- ذوبانيته كبيرة في المذيبات المدروسة لضمان ناقلية كهربائية جيدة.
- يجب أن يكون تركيزه أكبر بـ 50 إلى 100 مرة من تركيز المواد الكهروفعالة المدروسة.
- يجب أن يكون محايدا كيميائيا عند درجة حرارة ثابتة.
- مجال الكهروفعالية للالكتروليت المساعد يجب أن يكون واسعا قدر الإمكان.

الوسط المائي المختار هنا هو خليط بين محلول موقى (pH=4) محضر من خلاص الصوديوم و حمض الخل بتركيز 0.2 mol/l و الميثانول بنسبة 40%، أُختير هذا الوسط لقدرته على اذابة أغلب المواد المدروسة.

قبل مباشرة الدراسة، قمنا بتحديد مجال الكهروفعالية للالكتروليت المساعد مع المذيب على مسري الكربون الزجاجي، حيث حدد المجال من (-200-1500 mV/ECS) في الجهة المصعدية، سرعة مسح تساوي $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ كما هو موضح في الشكل.5.V.



الشكل 5.V. المنحنيات الفولتامترية الحلقية و الموجة المربعة و النبض التفاضلي لوسط الدراسة موفي (pH=4)، مجال المسح [1500-200-]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

من الملاحظ أن المجال المختار و اسع و لا يتأثر بأي مكون من مكونات الخلية و هو المطلوب.

2.4.V. رسم المنحنيات الفولتامترية لبعض المركبات القياسية و العينات:

يتم تحضير محاليل المركبات القياسية بتركيز معلومة، بعدها يتم رسم المنحنيات الفولتامترية في نفس الشروط السابقة و بتركيز متعددة.

نرسم المنحني الفولتامتري الحلقية، و الموجة المربعة و النبضي التفاضلي للعينات المدروسة ثم نحسب مؤشر المواد الفعالة انطلاقا من العلاقة التي تربط بين التيار (I_p) و التركيز (C).

$$I_p = AC + B$$

الشروط التجريبية:

• الشروط التجريبية لرسم المنحنيات الفولتامترية الحلقية.

- سرعة المسح 100 mV.s^{-1}

- مجال المسح [1500-200-] mV

• الشروط التجريبية لرسم المنحنيات فولتامتري الموجة المربعة.

- سرعة المسح 15 mV.s^{-1}

- مجال المسح [1400-200-]mV

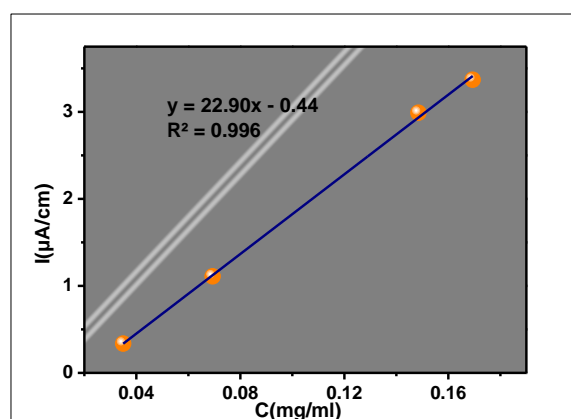
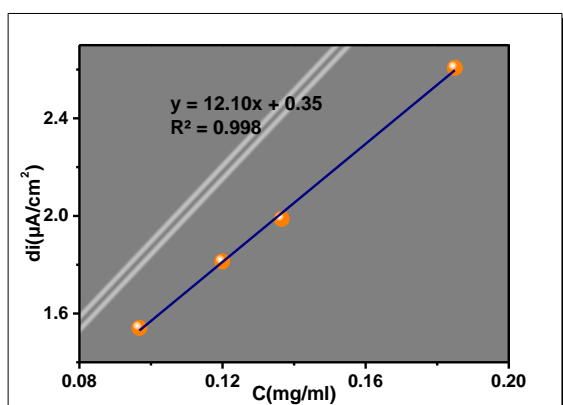
• الشروط التجريبية لرسم المنحنيات فولتامترية النبض التفاضلي.

- مجال المسح [1400-200]mV

- الخطوة 5 mV

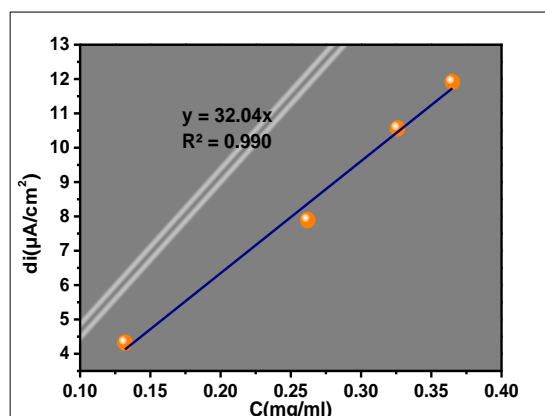
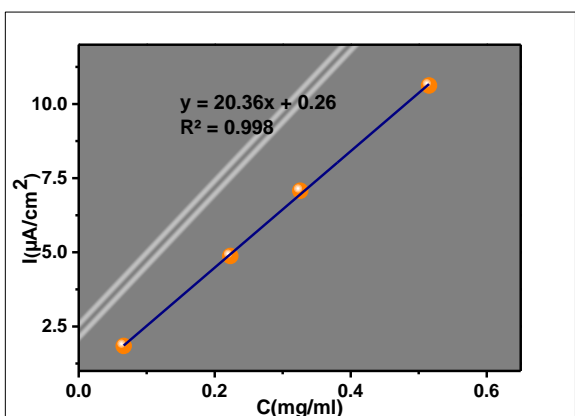
- الزمن 0.01 s

تم الحصول على المنحنيات القياسية التالية لكل من حمض الاسكوريك و الروتين و الكريستين و التي من خلالها يمكن الحصول على تراكيز المواد المضادة للأكسدة المكافئة للمركبات الثلاثة القياسية:



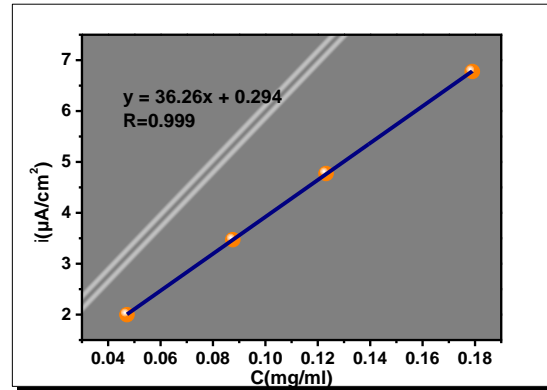
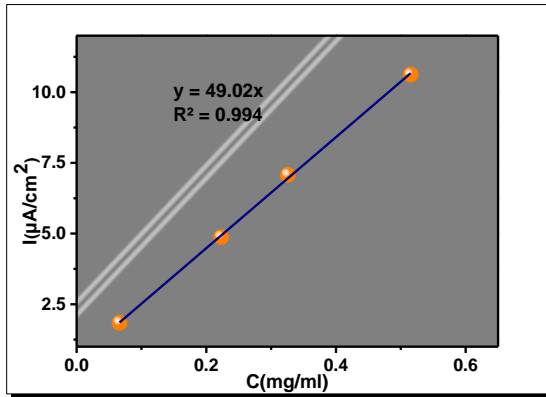
الشكل 7.V. المنحنى القياسي لحمض الاسكوريك و المستخلص بطريقة فولتامترية النبض التفاضلي (DPV)

الشكل 6.V. المنحنى القياسي لحمض الاسكوريك و المستخلص بطريقة فولتامترية الموجة المربعة (SWV)



الشكل 9.V. المنحنى القياسي للروتين و المستخلص بطريقة فولتامترية النبض التفاضلي (DPV)

الشكل 8.V. المنحنى القياسي للروتين و المستخلص بطريقة فولتامترية الموجة المربعة (SWV)



الشكل.11.V. المنحنى القياسي للكريستين و
المستخلص بطريقة فولتامetri النبض
التفاضلي (DPV)

الشكل.10.V. المنحنى القياسي للكريستين و
المستخلص بطريقة فولتامetri الموجة
المربعة (SWV)

5.V. التحليل الاحصائي:

التحليل الاحصائي تم ببرنامج XL-STAT ، حيث تم تصنيف العينات و ميزاتها بالطرق التالية:

1. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA) Principal Component Analysis
2. طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC) Agglomerative Hierarchical Clustering

الفصل السادس

النتائج و المناقشة

VI. النتائج و المناقشة

1.VI. استخلاص المركبات الفعالة:

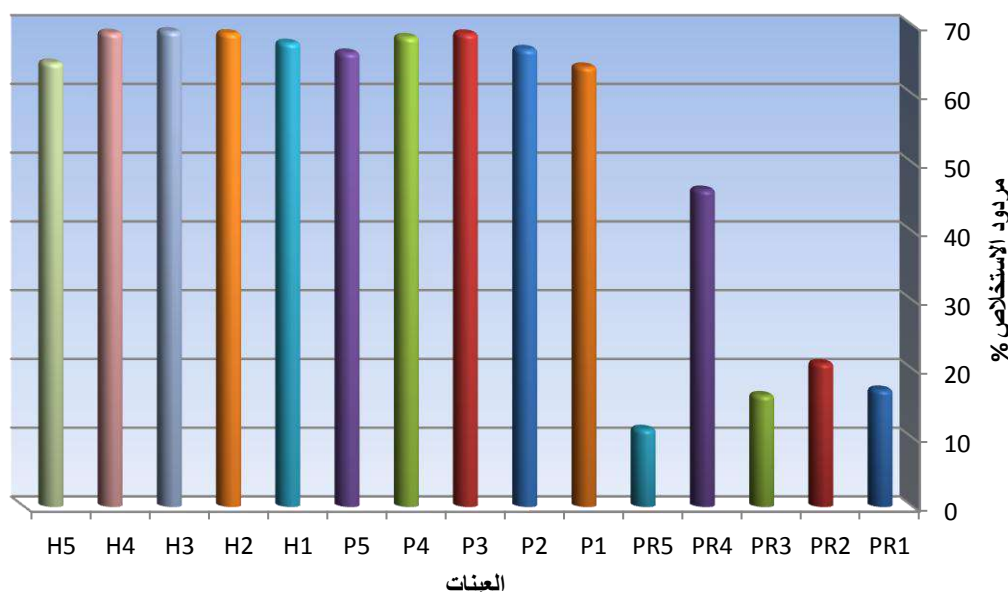
البروبوليس: يتضح من خلال الشكل 1.VI. أن مردود المستخلص الايثانولي للبروبوليس يختلف من عينة الى أخرى حيث تجاوز 46.1 % في العينة PR4 بينما لم يتعدى 11.3 % في العينة PR5 ، يرجع هذا الاختلاف الى التباين الجغرافي و المناخي لمصدر العينات، و المردود المتحصل عليه في العينة PR4 أكبر من النتائج التي تحصل عليها الباحث (Naama) حيث كان أكبر مردود له هو 31.25 % للبروبوليس العراقي [51]. و جاءت النتائج مقارنة لنتائج الباحثة (Trusheva) حيث بلغ مردود الاستخلاص 41% بمساعدة حوض الامواج فوق الصوتية لعينة البروبوليس الايطالي، قد يفوق المستخلص الايثانولي 75% مثل النتيجة المتحصل عليها من قبل الباحثة السابقة و لنفس العينة [45].

حبوب اللقاح: من الملاحظ في الشكل 1.VI. أن مردود استخلاص حبوب اللقاح معتبر، حيث تجاوز 60% في كل العينات المدروسة و هي قيم قياسية مقارنة مع الدراسات السابقة، فمثلا في دراسة لحبوب اللقاح الاسبانية تراوح المردود بين 40.9 و 17.1 % [52]، كما كان المردود في دراسة لحبوب اللقاح التركية لا يتجاوز 2.5% [53].

المردود المتحصل عليه في دراستنا هذه تراوح بين 68.8 و 64.3 % و هذا راجع لطريقة الاستخلاص المتبعة و المذيب المستعمل، كما يرجع الى طبيعة عينات حبوب اللقاح المدروسة و مكوناتها.

العسل: في النتائج الموضحة في الشكل 1.VI. نلاحظ أن نتائج استخلاص عينات العسل مقارنة لحبوب اللقاح حيث تراوحت بين 69.1 و 64.5 % و هي قيم معتبرة لكنها لا تعكس كمية المواد الفعالة الموجودة في العسل، فأغلب هاته المستخلصات تحوي نسبة كبيرة من السكريات يمكن أن تشكل مشكل أو تداخل مع المركبات الفعالة أثناء تقديرها، لذلك فإن أغلب الدراسات و إن كانت تعتمد على هاته الطريقة في تقدير المواد الفعالة إجمالاً كتقدير الفينولات الكلية أو الفلافونويدات الكلية أو الفلافونولات الكلية، لكنها غير معتمدة في تقدير المركبات فرادا كالكروماتوغرافيا السائلة.

يمكننا الإشارة هنا الى أن أهم طريقة لاستخلاص المركبات الفعالة من المواد التي بها نسبة كبيرة من السكريات كالعسل بالدرجة الاولى و حبوب اللقاح بدرجة أقل هي طريقة اعمدة الفصل الخاصة (Solid phase extraction) كالعمود (SPE C-18) أو عمود (Amberlite-XAD-2) حيث يتم به فصل الفينولات عن السكريات [54].



الشكل 1.VI. التمثيل البياني لمردود الاستخلاص للنظام ميثانول/ماء

2.VI. تقدير المحتوى الفينولي و المواد الفعالة:

قدرت كمية المحتوى الفينولي بإستعمال المنحنى القياسي لحمض الغاليك، حيث حسبت كمية المركبات الفينولية بالمليغرام (mg) على أساس حمض الغاليك المكافئ / غرام (g) من وزن المستخلص الجاف، ماعدا عينات العسل فتم تقديرها بالمليغرام (mg) على أساس حمض الغاليك المكافئ / كيلو غرام (kg).

يبين الجدول 1.VI. الكمية الكلية للمحتوى الفينولي حيث تراوحت في مستخلصات البروبوليس بين [22.83 - 32(mgGAE/g)]، و تراوحت في حبوب اللقاح بين [28.163 - 367.39(mgGAE/g)]، اما في العسل فكانت كل القيم أقل من 1(mgGAE/g) ، بين [212.657 - 826.256 (mgGAE/kg)].

يظهر جليا التمايز في كمية الفينولات الكلية بين منتجات النحل الثلاثة خاصة العسل الذي كانت كمية الفينولات الكلية به أقل بكثير من البروبوليس و حبوب اللقاح.

النتائج الموضحة في الجدول 1.VI. تظهر أن عينات البروبوليس تحتوي على كمية معتبرة من الفينولات فاقت 36.7% و ذلك راجع الى طبيعة و خصائص هاته المادة حيث تعتبر مادة فعالة و حيوية في خلية النحل كما طرحنا في الفصل الاول، كما أن مصدرها يجعل منها أغنى منتجات النحل بالفينولات، الكثير من الدراسات السابقة إهتمت بالمحتوى الفينولي في البروبوليس لعينات من مناطق جغرافية متعددة، كالدراسة التي أجرتها (Trusheva) على البروبوليس البلغاري [45] حيث تحصلت على كمية من الفينولات

تجاوزت 52%، و هذا بإستعمال نفس طريقة الاستخلاص التي عملنا بها أي بحوض الامواج الفوق صوتية، أما بالطرق الاخرى فكانت كمية الفينولات تتراوح بين 24-44% لنفس العينة. كما أعطت دراسة (Menddnça) للبروبوليس نتائج قياسية بلغت 62% كمحتوى فينولي و هي ضعف الكمية العظمى التي تحصلنا عليها، يعود ذلك كما اسلفنا الى كثافة و تنوع مصادر جني البروبوليس [55].

قدرت كمية الفلافونويدات بإستعمال المنحنى القياسي للرتين، حيث حسبت كمية الفلافونويدات بالمليغرام (mg) على أساس الرتين المكافيء / غرام (g) من وزن المستخلص الجاف.

كمية الفلافونويدات في البروبوليس كانت متميزة بين معتبرة و متوسطة و ضعيفة، حيث بلغت القيمة العظمى 31.4% للعينة (PR3) و هي لمنطقة الغرب تلمسان و متوسطة 11.9% للعينة (PR2) و هي لمنطقة الشرق عنابة، أما القيم الدنيا فهي للعينة (PR5) و هي لمنطقة الجنوب الوادي و يعود هذا الاختلاف لتنوع الغطاء النباتي و كثافته و توفر مصادر جني البروبوليس.

يمكننا أن نلاحظ عند مقارنة نتائجنا مع نتائج الدراسات السابقة مثل الدراسة التي أجراها (Kosalec) على البروبوليس الكرواتي الذي وُجد أن محتوى الفلافونويدات فيه يتراوح بين 5-26% [56] و هي قيم أقل من القيمة العظمة المتحصل عليها.

قدرت كمية الفلافونولات بإستعمال المنحنى القياسي للكريستين، حيث حسبت كمية الفلافونويدات بالمليغرام (mg) على أساس الكريستين المكافيء / غرام (g) من وزن المستخلص الجاف، ماعدا عينات العسل فتم التقدير بالمليغرام (mg) على أساس الكريستين المكافيء / كيلو غرام (kg).

تم تقدير كمية الفلافونولات في البروبوليس و كانت النتائج محصورة بين $[-74.658(\text{mgQE/g})$ -1.278] أي حوالي 7.4 الى 0.1% و هي قيم متفاوتة من منطقة لأخرى، فالعينة (PR3) ذات المحتوى الاعظمى لمنطقة تلمسان و المحتوى الادنى (PR4) لسطيف، القليل من الدراسات التي تناولت المحتوى الفلافونولي في البروبوليس ، كالدراسة التي أجرتها (Trusheva) على البروبوليس البلغاري و وجدت ان كمية الفلافونولات محصورة بين 10.7 و 8.6% و هي قيم أكبر من القيم المتحصل عليها خلال دراستنا [45]. اما (Kosalec) فقد وجد أن كمية الفلافونولات في البروبوليس الكرواتي بين 2.3 و 2.0% و هي قيم متوسطة تقترب النتائج المتحصل عليها [56].

أما حبوب اللقاح فالقيم المتحصل عليها و المدونة في الجدول 1.VI. للمحتوى الفينولي متقاربة جدا و لا يكاد يكون هناك فرق معتبر فهي محصورة بين $[22.83 - 32(\text{mgGAE/g})]$ ، و هي قيم متوسطة مقارنة

مع النتائج المتحصل عليها في الدراسات السابقة كالدراسة التي أجريت على بعض عينات حبوب اللقاح البولونية^[57]، حيث تراوحت النتائج بين [12.93 -82.43(mgGAE/g)].

كمية الفلافونويدات في حبوب اللقاح تراوحت بين [14.35 -23.55(mgRE/g)] و هي كميات معتبرة مقارنة مع بعض الدراسات السابقة مثل الدراسة التي أجريت على حبوب اللقاح الرومانية حيث تراوحت كمية الفلافونويدات فيها بين [2.55 -6.29(mgQE/g)]^[58]، و الدراسة التي أجريت على العينات الإسبانية التي تراوحت بين [3.50 -7.80(mgQE/g)]^[59]، هذا لا يمنع من وجود دراسات أخرى تجاوزت فيها كمية الفلافونويدات 27.48(mgQE/g) و هي لعينات من صحراء سونوران (Sonoran Desert) بالولايات المتحدة الأمريكية^[60]، مع هذا الاختلاف في كميات الفلافونويدات يجب أن نراعي أن هناك إختلاف في طريقة تقديرها.

تم تقدير كمية الفلافونولات في حبوب اللقاح و كانت النتائج محصورة بين [8.833(mgQE/g)-6.349]، و هي قيم معتبرة مقارنة مع دراسات سابقة كالدراسة التي أجريت على حبوب اللقاح المكسيكية^[61]، حيث تراوحت النتائج بين [0.183 -3.435(mgQE/g)]، و هي قيم أقل بكثير من نتائجنا. اما حبوب اللقاح البولوني فكانت النتائج بين [1.71 -10.7(mgQE/g)] و هي قيم قريبة لحد ما لقيمنا المتحصل عليها^[57].

الجدول 1.VI. المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات في مستخلصات البروبوليس و حبوب اللقاح.

| رمز العينة | الفينولات (mgGAE/g) | SD* | الفلافونويدات (mgRE/g) | SD* | الفلافونولات (mgQE/g) | SD* |
|------------|---------------------|-------|------------------------|-------|-----------------------|-------|
| PR1 | 100.525 | 2.025 | 49.015 | 2.326 | 48.749 | 0.852 |
| PR2 | 152.864 | 2.520 | 119.444 | 1.980 | 53.298 | 0.254 |
| PR3 | <u>367.39</u> | 1.375 | <u>314.073</u> | 3.251 | <u>74.658</u> | 0.866 |
| PR4 | 89.572 | 2.871 | 13.883 | 0.642 | <u>1.278</u> | 0.231 |
| PR5 | <u>28.163</u> | 0.754 | <u>13.034</u> | 1.137 | 3.187 | 0.352 |
| P1 | 30.817 | 0.90 | <u>14.350</u> | 2.782 | <u>6.349</u> | 0.323 |
| P2 | <u>22.830</u> | 3.859 | 19.650 | 0.919 | <u>8.833</u> | 0.245 |
| P3 | <u>32.000</u> | 0.000 | 15.390 | 2.107 | 8.049 | 1.023 |
| P4 | 30.708 | 0.495 | 16.650 | 0.495 | 7.883 | 1.247 |
| P5 | 31.512 | 2.475 | <u>23.550</u> | 2.899 | 7.966 | 0.915 |

* يمثل قيمة الانحراف المعياري

النتائج المتحصل عليها في الجدول 2.VI. متوافقة مع كثير من الدراسات السابقة مثل الدراسة التي قام بها (Ibrahim Khalil) [62] حيث وجد ان المحتوى الفينولي لأربعة عينات من العسل الجزائري تتراوح بين [411.10 - 498.16 (mgGAE/kg)]. كذا كانت نتائج الدراسة التي قام بها (Moniruzzaman) على بعض الاعسال الماليزية الشهيرة كعسل مانوكا و جلام و هما من أغنى الاعسال عالميا بالفينولات [63] و التي أحتوتها بين [144.51 - 580.3 (mgGAE/kg)]، و هي قيم أقل من كمية المحتوى الفينولي للعينة (H2) و (H5) و هما عينتا عنابة و الوادي حيث حققت العينة الاخيرة قيمة قياسية يمكن تفسيرها بغنى المنطقة الصحراوية بالنباتات الطبية. كما كانت نتائج دراسة بعض أنواع العسل الكوبي [64] تشير الى محتوى فينولي يتراوح بين [213.9 - 595.8 (mgGAE/kg)] و هي قيم مقارنة للنتائج التي تحصلنا عليها.

أما فيما يخص كمية الفلافونويدات الكلية في العسل فهي محصورة بين [265.441 (mgRE/kg) - 66.398]، و هي قيم قياسية و معتبرة مقارنة بتلك المتحصل عليها في دراسات أخرى كالدراسة التي قام بها (Moniruzzaman) حيث تراوح محتوى الفلافونويدات بين [14.20 - 156.82 (mgRE/kg)]، نفس النتائج و جدها (Islam) في دراسة أجراها على عينات عسل بنغلاداش [65].

العينة (H2) إحتوت على اكبر كمية من الفلافونويدات تلتها العينة (H5)، بينما كانت ادنى قيمة للعينة (H3) و هي عينة تلمسان، يمكن أن تفسر النتائج و تنوعها على حسب تنوع الموقع الجغرافي و الغطاء النباتي السائد للمنطقة المجني منها العسل.

تم تقدير المحتوى الفلافونولي في عينات العسل و كانت النتائج محصورة بين [62.523 - 167.237 (mgQE/kg)]، و هي قيم توسطة مقارنة مع الدراسات القليلة السابقة التي تم فيها تقدير المحتوى الفلافونولي في العسل، كالدراسة التي أجريت على بعض عينات العسل الهندي التي بلغ فيها المحتوى الفلافونولي (588.3 mgQE/kg) و هي اكبر من القيمة الاعظمية التي تحصلنا عليها بأربعة أضعاف [66].

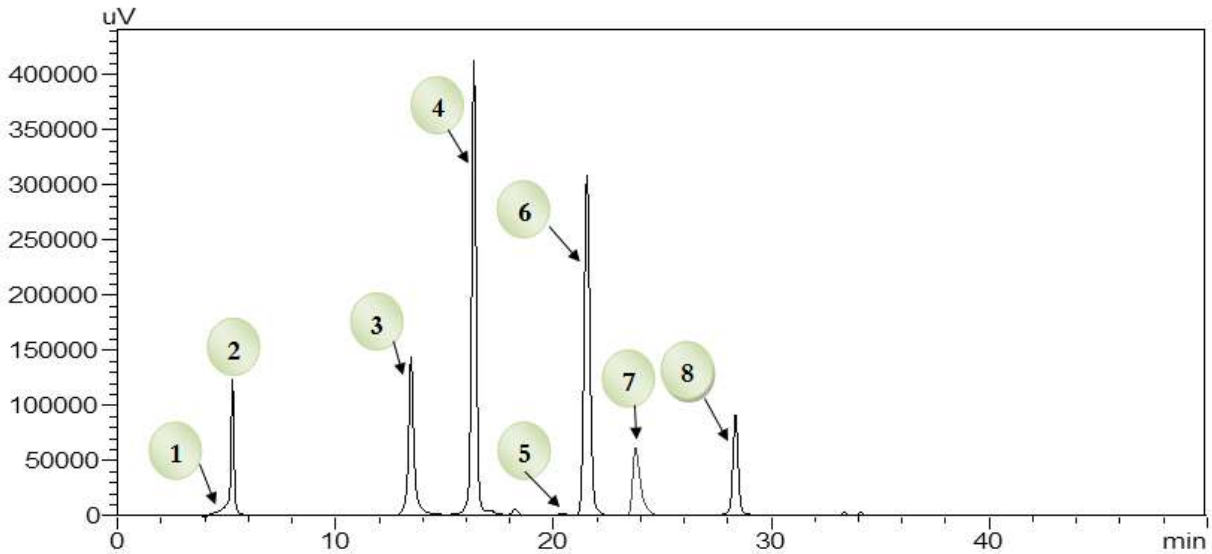
الجدول 2.VI. المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات في عينات العسل.

| رمز العينة | الفينولات (mgGAE/kg) | SD* | الفلافونويدات (mgRE/kg) | SD* | الفلافونولات (mgQE/kg) | SD* (ت) |
|------------|----------------------|-------|-------------------------|-------|------------------------|---------|
| H1 | 433.227 | 0.423 | 209.582 | 0.280 | 144.238 | 1.524 |
| H2 | 698.292 | 1.247 | <u>265.441</u> | 0.450 | 128.754 | 1.033 |
| H3 | <u>212.657</u> | 0.361 | <u>66.398</u> | 0.072 | <u>62.523</u> | 0.241 |
| H4 | 584.891 | 0.612 | 227.556 | 1.231 | 102.072 | 2.741 |
| H5 | <u>826.256</u> | 4.963 | 243.781 | 0.000 | <u>167.237</u> | 3.124 |

* يمثل قيمة الانحراف المعياري

3.VI. تقدير بعض الأحماض الفينولية و الفلافونويدات بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء (HPLC)

أظهرت نتائج التحليل الكروماتوغرافي للعينات أنها تحتوي أغلبها على المركبات الفينولية المدروسة الموضحة في الشكل 2.VI. و ذلك بعد مقارنتها بزمن الاستبقاء (Retention times) مع تلك الخاصة بالشواهد الجدول 3.VI.

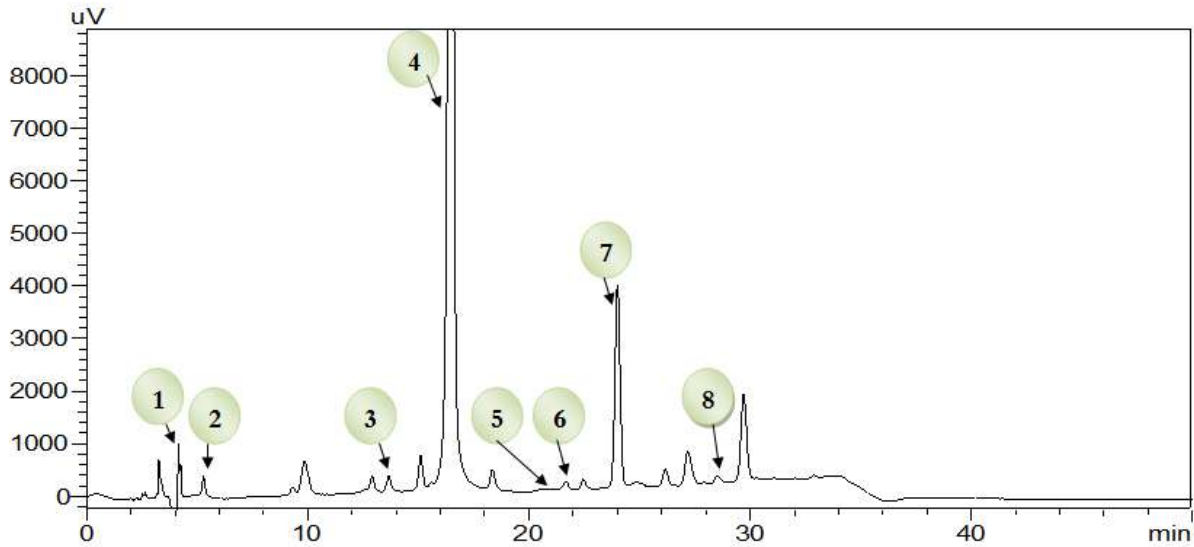


الشكل 2.VI. المنحنى الكروماتوغرافي للمركبات الفينولية القياسية [الشواهد]

الجدول 3.VI. ملخص لزمان ظهور النتوء الكروماتوغرافي للمركبات القياسية.

| المركبات الفينولية | زمن الاستبقاء t_r (min) | |
|--------------------|---------------------------|--|
| 1 حمض الاسكوريك | 4.21 | |
| 2 حمض الغاليك | 5.23 | |
| 3 حمض الكلوروجينيك | 13.62 | |
| 4 حمض الكافيك | 16.3 | |
| 5 كريستين | 20.37 | |
| 6 الفانيلين | 21.46 | |
| 7 حمض ب-كومارين | 23.95 | |
| 8 الروتين | 28.22 | |

كما هو موضح في الشكل 2.VI. يمكننا أن نلاحظ وجود كل المركبات الفينولية التي تم إستعمالها في الكروماتوغرام الشاهد فالعينة (PR4) مثلا و هي عينة البروبوليس الخاصة بمنطقة سطيف تحوي على كل المركبات القياسية التي إستعملناها كما هو موضح في الشكل 3.VI.



الشكل 3.VI. المنحنى الكروماتوغرافي لعينة البروبوليس PR4

يمكننا تلخيص النتائج في الجدول 4.VI. الذي يبين كمية كل مركب في العينات المدروسة.

الجدول 4.VI. كمية المركبات الفينولية في مستخلصات البروبوليس و حبوب اللقاح.

| كمية المركبات الفينولية في المستخلصات بـ (mg/g) | | | | | | | | العينات |
|-------------------------------------------------|-------------------|-----------|---------|----------------|-------------------|----------------|-------------------|---------|
| الروتين | حمض ب- كومارين | الفانيلين | كريستين | حمض الكافيك | حمض كلوروجينيك | حمض الغاليك | حمض الاسكوربيك | |
| 0.067 | 0.395 | ND | ND | 1.683 | 0.094 | ND | 0.587 | PR1 |
| 0.123 | 0.003 | 0.041 | 7.528 | 3.805 | 0.102 | 0.407 | 0.277 | PR2 |
| 0.059 | 0.034 | 0.025 | 6.405 | 4.75 | 0.071 | 0.328 | 0.576 | PR3 |
| 0.122 | 0.094 | 0.056 | 6.17 | 7.128 | 0.148 | 0.44 | 0.281 | PR4 |
| 0.057 | 0.279 | 0.029 | ND | 0.043 | 0.052 | 0.387 | 0.972 | PR5 |
| 0.135 | 0.059 | 0.023 | 6.177 | 0.027 | ND | 0.324 | 0.317 | P1 |
| 0.141 | 0.002 | ND | ND | 0.025 | ND | 0.34 | 0.214 | P2 |
| ND | 0.013 | 0.019 | ND | 9.287 | ND | 0.406 | 0.167 | P3 |
| 0.0767 | 0.007 | 0.019 | 5.405 | 0.042 | ND | 0.321 | 0.276 | P4 |
| 0.0541 | 0.004 | 0.048 | 9.961 | 0.035 | ND | 0.353 | 0.273 | P5 |

من الملاحظ في الجدول 4.VI. أعلاه أن مستخلصات البروبوليس و حبوب اللقاح تحوي على كمية معتبرة من المركبات الفينولية حيث يمكننا مقارنة النتائج المتحصل عليها بنتائج دراسات أخرى لنلاحظ أن أبرز المركبات التي تم دراستها و تقديرها هي كمايلي:

حمض الاسكوربيك: كمية حمض الاسكوربيك في البروبوليس تراوحت بين [0.277 – 0.972 (mg/g)] و هي قيم معتبرة الرومانية بين [2.26 – 3.64 (mg/g)]^[67].

اما كمية حمض الاسكوربيك في حبوب اللقاح تراوحت بين [0.167 – 0.317 (mg/g)] و هي قيم معتبرة و متوافقة مع الدراسات السابقة، حيث تراوحت كمية حمض الاسكوربيك في عينات البروبوليس [0.273 – 0.560 (mg/g)]^[68]، و في دراسة أخرى تراوحت بين [0.114 – 0.340 (mg/g)]^[69].

حمض الغاليك: كمية حمض الغاليك في البروبوليس تراوحت بين [0.328 – 0.440 (mg/g)] و هي كمية ضعيفة مقارنة بالدراسات السابقة التي تراوحت بين [6.3 – 17.3 (mg/g)] في البروبوليس اليوناني^[70].

اما في حبوب اللقاح فتراوحت بين [0.321 – 0.406 (mg/g)] و هي قيم معتبرة مقارنة بالعينات الصينية التي لم تتجاوز [5.78 (mg/kg)]^[71] و العينات التركيبية التي لم تتجاوز [0.185 (mg/kg)]^[72].

حمض الكلوروجنيك: كمية حمض الكلوروجنيك في البروبوليس تراوحت بين [0.052 – 0.148 (mg/g)] و هي قيم بين المتوسطة و الضعيفة مقارنة بالدراسات الاخرى، حيث تراوحت كمية حمض الكلوروجنيك في البروبوليس البرازيلي بين [2.1 – 4.5 (mg/g)]^[73].

اما في حبوب اللقاح المدروسة فلم يتم الحصول على أي أثر لحمض الكلوروجنيك، بينما يوجد الكثير من الدراسات التي تطرقت الى وجوده في حبوب اللقاح مثل الدراسة التي اجريت على العينات البرازيلية و الصينية.

حمض الكافيك: كمية حمض الكافيك في البروبوليس تراوحت بين [0.043 – 7.128 (mg/g)] و هي قيم بين المتوسطة و الضعيفة مقارنة بالدراسات الاخرى، حيث تراوحت كمية حمض الكافيك في البروبوليس الصيني بين [3.3 – 32.2 (mg/g)]^[74]، و في البروبوليس العراقي بين [5.8 – 42.2 (mg/g)]^[75].

اما في حبوب اللقاح فتراوحت بين [0.025 – 9.287 (mg/g)] و هي قيم معتبرة مقارنة بالعينات التركبية التي لم تتجاوز [0.98 (mg/kg)]^[72].

الكريستين: كمية الكريستين في البروبوليس تراوحت بين [6.170 – 7.528 (mg/g)] و هي كمية معتبرة مقارنة مع البروبوليس العراقي الذي تراوحت به كمية الكريستين به بين [0.22 – 1.56 (mg/g)]^[75].

اما في حبوب اللقاح فتراوحت بين [5.405 – 9.961 (mg/g)] و هي قيم معتبرة مقارنة بالعينات الاسبانية التي تراوحت بين [0.036 – 0.100 (mg/g)]^[76]، و العينات الصينية التي لم تتجاوز [0.719 (mg/g)]^[71].

الفانيلين: كمية الفانيلين في البروبوليس تراوحت بين [0.025 – 0.056 (mg/g)] و هي قيم ضعيفة مقارنة بالدراسات السابقة، حيث تراوحت كمية الفانيلين في البروبوليس العراقي بين [0.19 – 1.00 (mg/g)]^[75].
اما في حبوب اللقاح فتراوحت بين [0.019 – 0.048 (mg/g)] و هي قيم ضعيفة نسبيا.

حمض ب-كوماريك: كمية حمض ب-كوماريك في البروبوليس تراوحت بين [0.003 – 0.395 (mg/g)] و هي قيم ضعيفة مقارنة مع البروبوليس الصيني حيث تراوحت بين [2.3 – 52.2 (mg/g)]^[74]، أما العراقي فكانت بين [3.6 – 21.1 (mg/g)]^[75].

اما في حبوب اللقاح فتراوحت بين [0.002 – 0.059 (mg/g)] و هي قيم ضئيلة جدا مقارنة بالعينات الاسبانية التي تراوحت بين [0.85 – 12.42 (mg/g)]^[76].

الروتين: كمية الروتين في البروبوليس تراوحت بين [0.057 – 0.123 (mg/g)] و هي قيم بين المتوسطة و الضعيفة مقارنة مع البروبوليس الصيني التي تراوحت بين [0.019 – 9.63 (mg/g)]^[70].

اما في حبوب اللقاح فتراوحت بين [0.054 – 0.141 (mg/g)] و هي قيم متوسطة مقارنة بالعينات البرازيلية التي تراوحت بين [0.426 – 0.991 (mg/g)]^[71]، و الاسبانية التي تراوحت بين [0.183 – 0.444 (mg/g)]^[76].

في عينات العسل كانت النتائج ضعيفة جدا مقارنة مع الدراسات السابقة فأغلب المركبات المدروسة لم يتم الكشف عليها كالفانيلين و حمض الكافيينك و حمض الكلوروجنيك و حمض ب-كومارين، كما هو موضح في الجدول 5.VI. تعود ضعف هاته النتائج لطريقة الاستخلاص المتبعة و تأثير السكريات الموجودة في العسل على المنحنيات الكروماتوغرافية للمركبات الفينولية حيث تعمل السكريات على حجب المركبات الفينولية.

الجدول 5.VI. كمية المركبات الفينولية في عينات العسل.

| كمية بعض الفينولات في المستخلصات بـ (mg/kg) | | | | العينات |
|---------------------------------------------|--------------|--------------|----------------|---------|
| الروتين | كريستين | حمض الغاليك | حمض الاسكوربيك | |
| ND | 0.853 | 0.914 | 0.312 | H1 |
| ND | 0.347 | ND | 0.231 | H2 |
| 1.147 | ND | ND | 0.124 | H3 |
| ND | ND | ND | 0.512 | H4 |
| 2.114 | 0.078 | 2.124 | 0.444 | H5 |

من الملاحظ أيضا ظهور حمض الاسكوربيك في كل عينات العسل و بكميات بين [0.124 – 0.512 (mg/kg)]، بينما ظهر الكريستين في العينات H1 و H2 و H5، و كانت الكمية بين [0.078 – 0.853 (mg/kg)]، و حمض الغاليك في العينات H1 و H5 و كانت الكمية بين [0.914 – 2.124 (mg/kg)]، و الروتين في العينات H3 و H5، و كانت الكمية بين [1.147 – 2.114 (mg/kg)]. الدراسات السابقة لعسل النحل أشارت الى وجود المركبات الفينولية المدروسة و زيادة، كالدراسة التي أجريت على العينات البرتغالية و الاسبانية و الايطالية و الالمانية^[78-79].

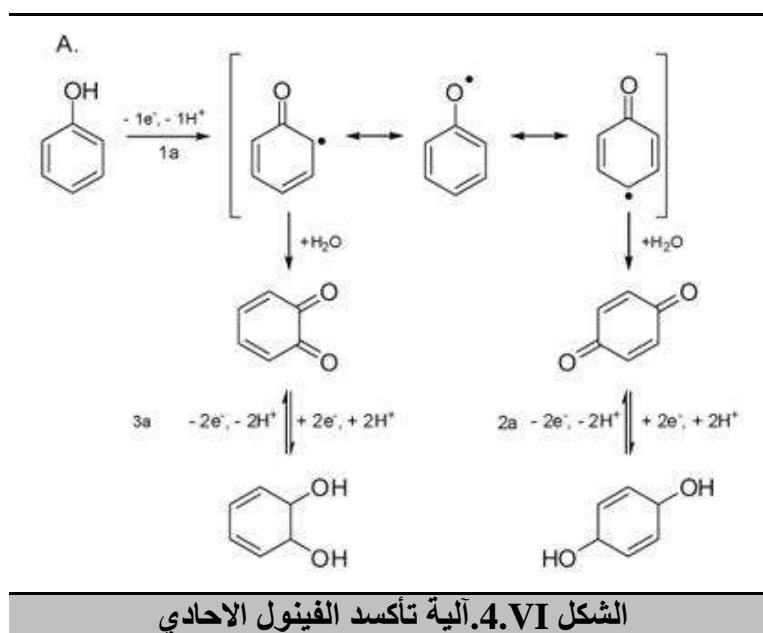
4.VI. السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و المركبات الفينولية:

1.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للأحماض الفينولية أحادية الفينول:

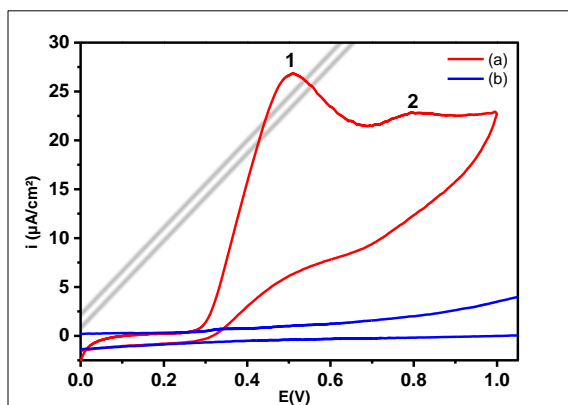
يتأكسد الفينول الاحادي في خطوة واحدة معطيا الكترون و بروتون، و الناتج يكون جذر فينوكسيل

غير مستقر في ثلاث أشكال ايزوميرية كما هو موضح في الشكل 4.VI.

أكثر المواقع التفاعلية في جذر الفينوكسيل هي الارثو و البار، في حين الموقع ميتا غير فعال و غير مفضل في أي نوع من التفاعلات، إستقرار جذر الفينوكسيل في كمونات عالية، يتبعه اماهة في المواقع الفعالة، أي الارثو و البار. ، الشكل 4.VI.



إن أكسدة الفينولات الاحادية هي تفاعلات غير عكوسة مهما كان الاس الهيدروجيني (pH) لوسط الدراسة، و كثيرا ما يتبع الاكسدة تموضع للناتج المتأكسد على مسرى العمل (*Electrodeposition*) و هذا ما يوضحه المنحنى الفولتامتري الشكل 5.VI. و هو لحمض الغاليك.



الشكل 5.VI. المنحنى الفولتاممري الحلقي لحمض الغاليك في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1000-0]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 $mV.s^{-1}$ ، درجة الحرارة $25^{\circ}C$.

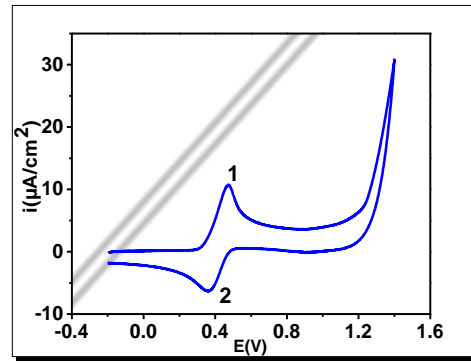
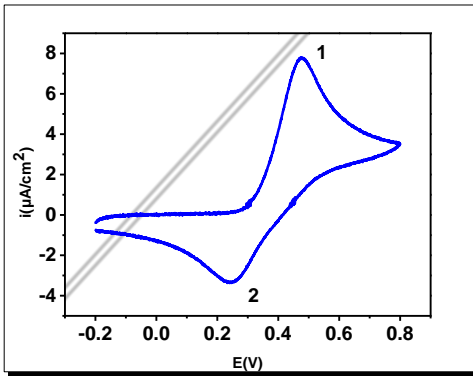
من الواضح في الشكل 5.VI أن عملية أكسدة حمض الغاليك غير عكوسة، فنلاحظ أن له نتوين مصعديين و لا نتوء مهبطي، فهو يتأكسد في الكمونين $E_{p.a1} = 505.5 mV$ و $E_{p.a2} = 795 mV$ على التوالي و لا يرجع، و هذا موافق لأغلب الدراسات التي أجريت على السلوك الكهروكيميائي لحمض الغاليك [80-81].

2.4.VI. السلوك الكهروكيميائي لحمض الكافيك:

يعد حمض الكافيك من أهم مضادات الاكسدة المستخدمة في العقاقير المضادة للسرطان بأنوعه لذلك نلاحظ أنه هناك اهتمام غير عادي بدراسته و اختباره، هناك عدة دراسات اهتمت بالسلوك الكهروكيميائي لهذا الحمض كان الهدف منه ايجاد طرق للتقدير الكمي و الكيفي له، من خلال النتائج التي تحصلنا عليها نلاحظ أن السلوك الكهروكيميائي لحمض الكافيك في الشروط التي وفرناها كمايلي:

يتأكسد حمض الكافيك معطيا نتوء في الكمون $E_{p.a} = 478 mV$

كما يعطي عند الارجاع النتوء المهبطي الوحيد عند كمون $E_{p.c} = 240 mV$ و هو ارجاع للمرحلة الاولى من الاكسدة (1). الشكل 6.VI. و الشكل 7.VI. و النتائج جاءت مقارنة لنتائج الدراسات السابقة في عمومها [82].



الشكل 6.VI. المنحنى الفولتاممري لحمض الكافيك في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1400-200-]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

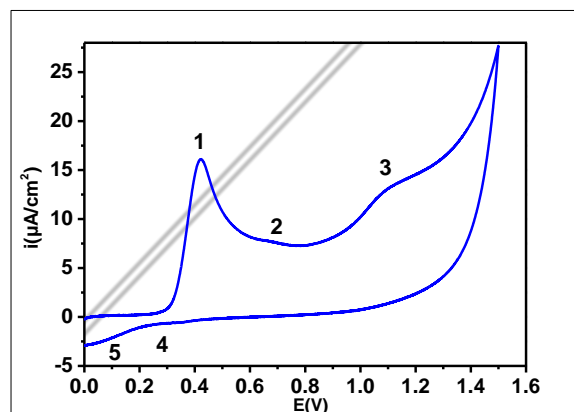
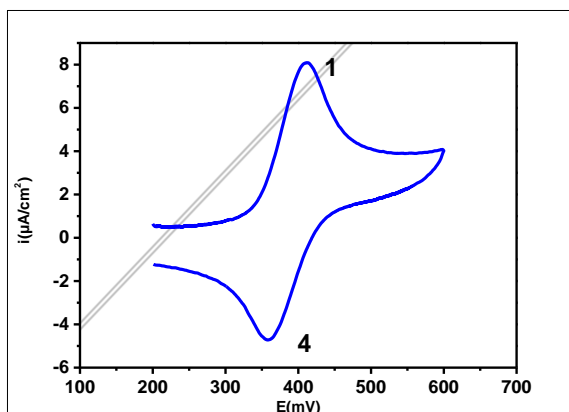
الشكل 7.VI. المنحنى الفولتاممري لحمض الكافيك في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [800-200-]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

3.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للفلافونويدات:

إن سلوك الفلافونويدات الكهروكيميائي لا يختلف كثيرا عن الفينولات بصفة عامة، حيث أنه يعتمد على تبادل بروتون و الكترولون و تشكل جذر الفينوكسيل، الكثير من العوامل يمكنها ان تتحكم في مقدار فعالية هذا الجذر مثل pka و Ks و pH حموضة الوسط، كما يمكن ان تكون للشروط التجريبية و الخصائص الكيميائية للفلافونويدات أثر كبير في استقرارية و فاعلية جذر الفينوكسيل كهيكلة المركب و عدد مستبدلات الهيدروكسيل و تموقعها [83-84].

1.3.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للروتين:

عند أكسدة الروتين في أس هيدروجيني ($pH = 4$) نلاحظ أن هناك ثلاثة نتوات مصعدية، تدل على أن هناك ثلاث مراحل لأكسدة الروتين في كل من الكمونات $E_{p.a1} = 420 \text{ mV}$ و $E_{p.a2} = 680 \text{ mV}$ و $E_{p.a3} = 1105 \text{ mV}$ ، هذه النتوات متعلقة بأكسدة (OH)، أما النتوات المهبطية فمن الواضح أنه يوجد نتوتين واحد في الكمون $E_{p.c4} = 365 \text{ mV}$ ، و هو ارجاع للمرحلة الاولى من الاكسدة (1). الشكل 8.VI و الشكل 9.VI و النتوء الثاني في الكمون $E_{p.c5} = 80 \text{ mV}$.



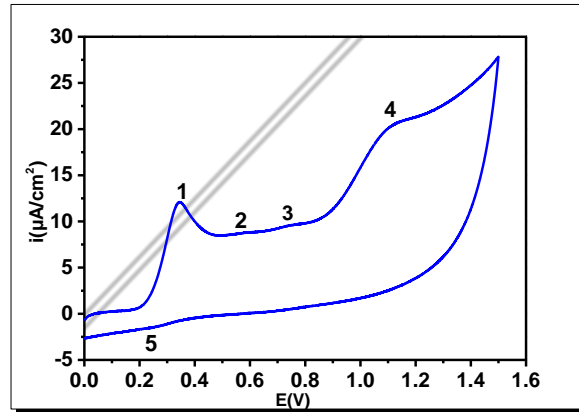
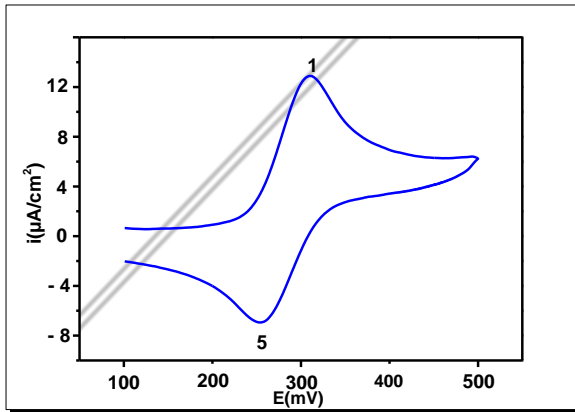
الشكل 8.VI المنحنى الفولتامترى للرتين في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1500-0]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .
 الشكل 9.VI المنحنى الفولتامترى للرتين في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [600-200]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

في دراسات سابقة تم الحصول على نتوءان مصعديان للرتين في اس هيدروجيني ($pH = 7.7$) تدل على ان هناك اربعة مراحل لأكسدة الرتين في كمونات قريبة من الكمونات التي تحصلنا عليها، نفس الكلام ينطبق على النتوء المهبطي [85].

2.3.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للكريستين:

عند أكسدة الكريستين في أس هيدروجيني ($pH = 4$) نلاحظ أن هناك أربعة نتوءات مصعدية، تدل على أن هناك أربعة مراحل لأكسدة الكريستين في كل من الكمونات $E_{p.a1} = 342 \text{ mV}$ و $E_{p.a2}$ و 533.5 mV و 817 mV و $E_{p.a3}$ ، و $E_{p.a4} = 1104 \text{ mV}$ هذه النتوءات متعلقة بأكسدة (OH)، أما النتوءات المهبطية فمن الواضح أنه يوجد نتوء وحيد في الكمون $E_{p.c5} = 214.5 \text{ mV}$ ، و هو ارجاع للمرحلة الاولى من الاكسدة (1). الشكل 10.VI. و الشكل 11.VI.

في دراسات سابقة تم الحصول على نفس عدد النتوءات المصعدية و إختلاف بسيط في قيم الكمونات في وسط ($pH = 7.7$) [86].



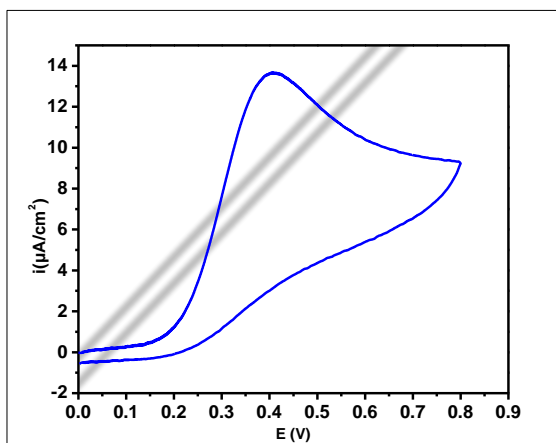
الشكل 10.VI. المنحنى الفولتاممري الحلقي للكريستين في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [1500-0]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

الشكل 11.VI. المنحنى الفولتاممري الحلقي لكريستين في وسط موقى (pH=4)، مجال المسح [500-100]، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

4.4.VI. السلوك الكهروكيميائي لحمض الاسكوريك (AA)

حمض الاسكوريك (AA) و الشائع بفيتامين ج هو حمض عضوي ذو مصدر طبيعي يتواجد بكميات كبيرة في الخضر و الفوكه خاصة الحمضيات و هو من مضادات الاكسدة القوية، نال الكثير من الاهتمام في الدراسات السابقة و أعتبر مضاد أكسدة قياسي يتم به تصنيف مضادات الاكسدة حيث تتم مقارنتها به [أقوي أو أضعف] [87].

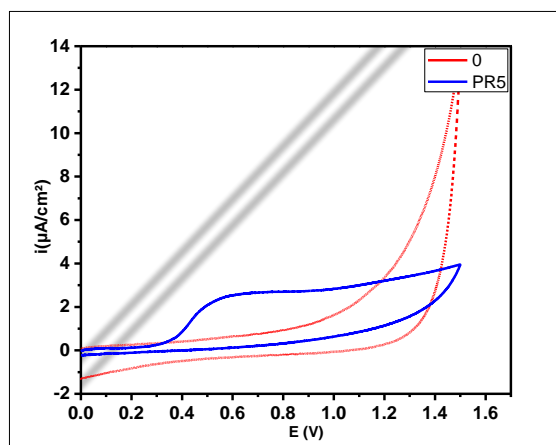
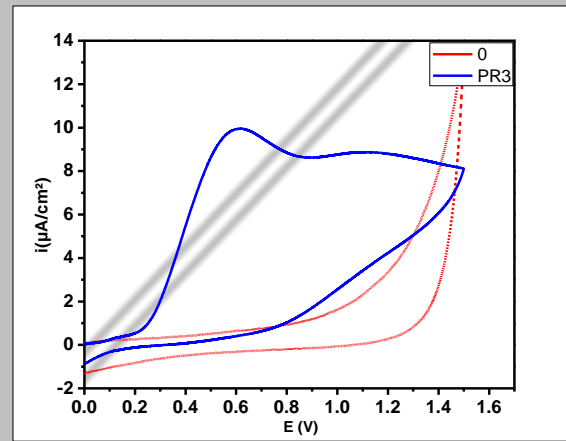
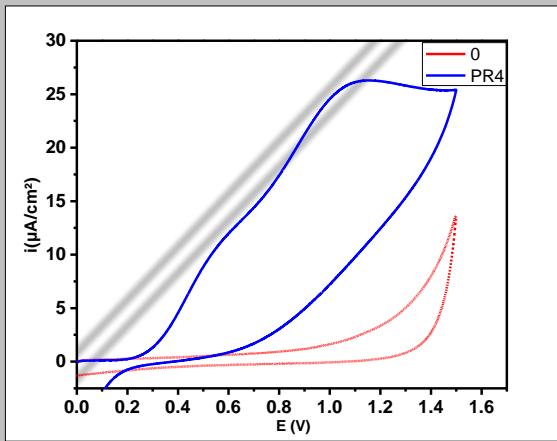
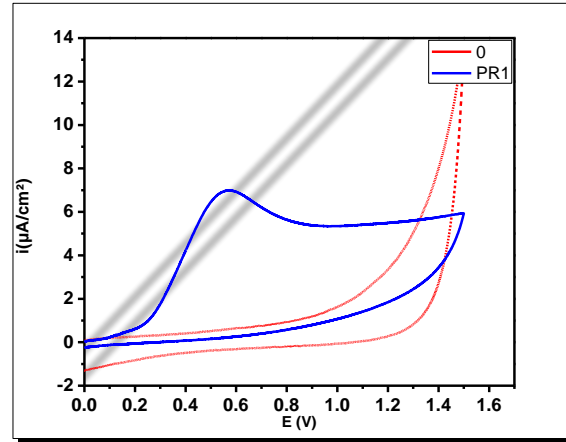
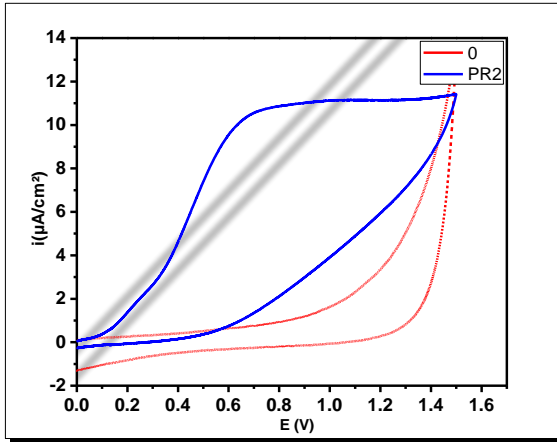
من الملاحظ في الشكل 12.VI. أنه لا يوجد إختلاف كبير في النتائج المتحصل عليها في هاته الدراسة مقارنة بالدراسات السابقة، و من الواضح أن حمض الاسكوريك يتأكسد في الشروط التجريبية التي وفرناها و لا يرجع [غير عكوس] أي عند الاس الهيدروجيني (pH = 4)، حيث يبين الشكل نتوء مصعدي في الكمون $E_{pa} = 456 \text{ mV}$ ، بينما لا يظهر أي نتوء مهبطي.



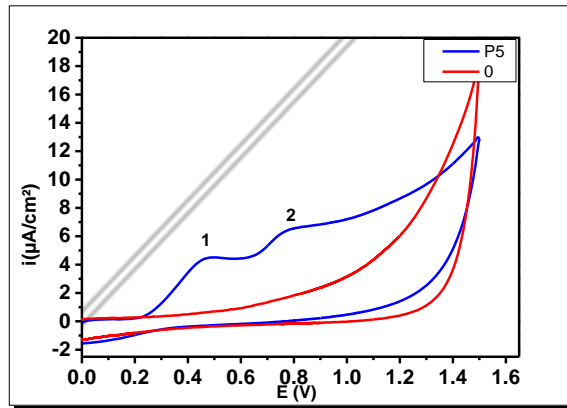
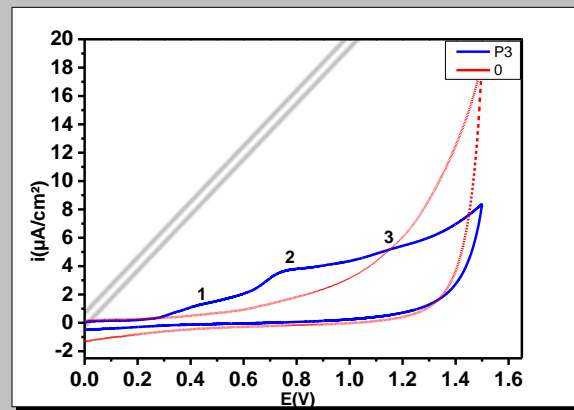
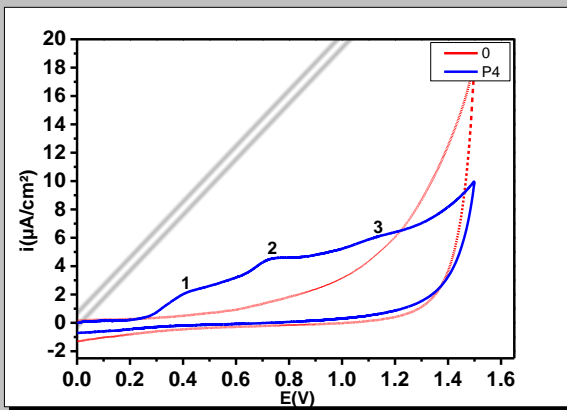
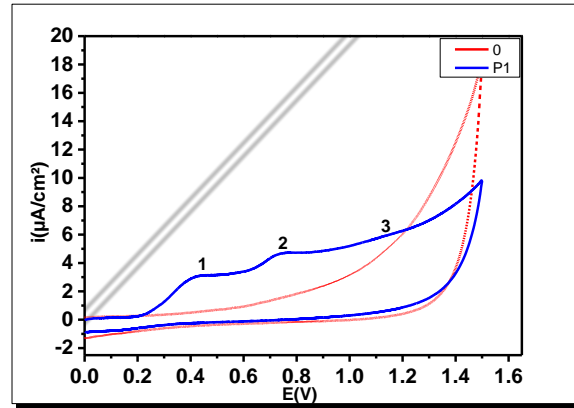
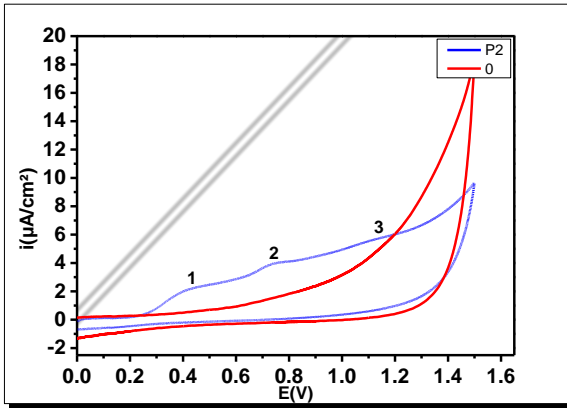
الشكل 12.VI. المنحنى الفولتاممري الحلقي لحمض الاسكوريك في وسط موقفي (pH=4)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

نفس النتائج تم الحصول عليها في دراسات سابقة و عند أس هيدروجيني مغاير، مثل ($pH = 7$) و ($pH = 5$) [88].

5.4.VI. السلوك الكهروكيميائي للعينات:



الشكل 13.VI. المنحنيات الفولتامترية الحلقية لعينات البروبوليس في وسط موفي (pH=4)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .



الشكل 14.VI. المنحنيات الفولتامترية الحلقية لعينات حبوب اللقاح في وسط موفي (pH=4)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

يظهر من الشكل 13.VI و الشكل 14.VI. أن هناك إختلاف واضح بين عينات البروبوليس من حيث عدد النتوءات و الشكل الظاهري، بعكس عينات حبوب اللقاح التي تتشابه فيما بينها من حيث امتلاكها ثلاث نتوءات أكسدة.

ليتوضح الامر أكثر أستخلصنا من هاته المنحنيات المعاملات الكهروكيميائية المميزة مثل كمونات الاكسدة و الارجاع و كثافة التيار و غيرها، في الجدول 6.VI.

الجدول 6.VI. العوامل الكهروكيميائية للعينات المدروسة.

| | | | العينة |
|-------|-------|-------|--------|
| 373.9 | 6.907 | 555.5 | PR1 |
| 431 | 10.79 | 833.5 | PR2 |
| 388 | 9.963 | 595.5 | PR3 |
| 369 | 8.856 | 1110 | |
| 428.6 | 17.95 | 574.9 | PR4 |
| 718.2 | 44.13 | 1270 | |
| 436.6 | 2.699 | 674 | PR5 |
| 316.1 | 3.086 | 421 | P1 |
| 364 | 4.714 | 751 | |
| 524 | 6.269 | 1198 | |
| 333.8 | 2.253 | 425.7 | P2 |
| 406.8 | 3.996 | 759.5 | |
| 615.9 | 5.785 | 1156 | |
| 332.5 | 1.336 | 431.4 | P3 |
| 576.9 | 3.815 | 761.4 | |
| 666.3 | 5.365 | 1167 | |
| 337.6 | 2.367 | 447.1 | P4 |
| 442.1 | 4.565 | 744.4 | |
| 584.4 | 6.207 | 1164 | |
| 345.1 | 4.471 | 484 | P5 |
| 395.5 | 6.575 | 788 | |
| 448.4 | 8.547 | 1182 | |

من أجل مقارنة السلوك الكهروكيميائي للعينات و المركبات القياسية أعتمدنا على العوامل الكهروكيميائية كمتغيرات لايجاد مدي التشابه بالاستعانة بطريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC)، تم الحصول على النتائج الممثلة في الشكل 15.VI. حيث يبين التمثيل العنقودي أن هناك تشابه كبير بين العينات و المركبات القياسية تتجاوز نسبتها 95%.

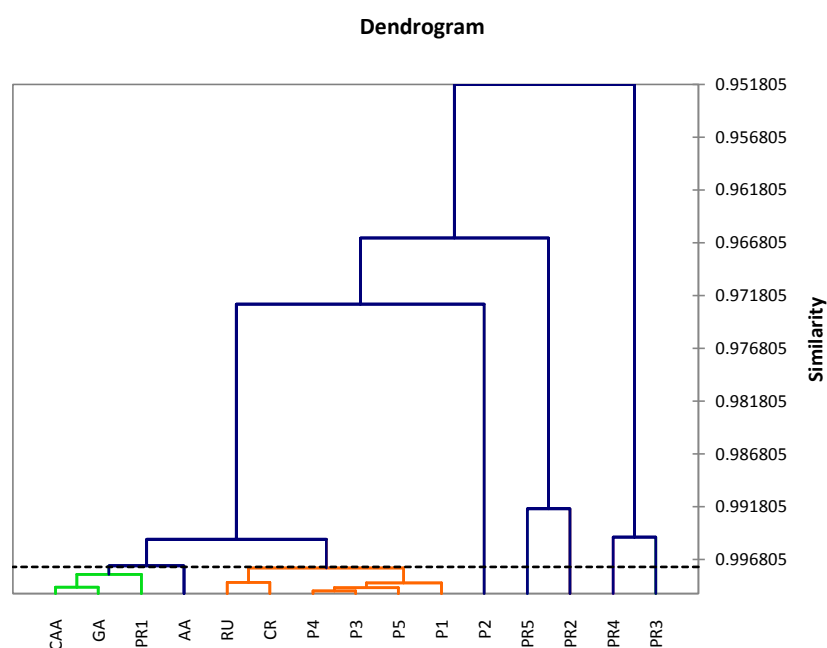
حيث نلاحظ أن هناك نسبة تشابه كبير بين حمض الغاليك و حمض الكافيك و هذا له مايرره لسلوكهما الكهروكيميائي المتشابه، حيث يعتبران من الفينولات الاحادية التي تتشابه في هيكلها و خواصها الكيميائية فهما حمضان فينوليان.

كما نلاحظ أيضا أن هناك تشابه كبير بين الكريستين و الروتين و هما من نفس عائلة الفلافونويدات التي تشترك في كثير من الخواص الكيميائية، كما انها تتشابه في سلوكها الكهروكيميائي.

أما السلوك الكهروكيميائي للعينات فواضح أن عينات حبوب اللقاح P1 و P3 و P4 و P5 تتشابه كثير فيما بينها و هي أكثر شبه بالكريستين و الروتين أي بالفلافونويدات.

اما عينة البروبوليس PR1 فهي أكثر شبه بحمض الغاليك و الكافيك أي الاحماض الفينولية، كذا حمض الاسكوربيك فهو قريب من خواصهم.

كما يلاحظ أنه يوجد تشابه بين عيني البروبوليس PR2 و PR5 والعيني PR3 و PR4.



الشكل 15.VI. التمثيل العنقودي للعينات و المركبات المدروسة وفق العوامل الكهروكيميائية.

أما فيما يخص التقدير الكمي للمواد المضادة للاكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك و الروتين و الكريستين في العينات فقد تم الحصول عليها و ذلك بالاعتماد على منحنى فولتامتري الموجة المربعة (SWV) و منحنى فولتامتري النبض التفاضلي (DPV) كما هو موضح في الجدول 7.VI.

الجدول 7.VI. كمية مضادات الاكسدة في مستخلصات البروبوليس وحبوب اللقاح بالطرق الفولتامترية.

| كمية مضادات الاكسدة المكافئة لحمض الاسكوربيك في العينة (mg/g) | | كمية مضادات الاكسدة المكافئة للكريستين في العينة (mg/g) | | كمية مضادات الاكسدة المكافئة لروتين في العينة (mg/g) | | |
|------------------------------------------------------------------------|--------|---------------------------------------------------------------|--------|------------------------------------------------------------|--------|-----|
| DPV | SWV | DPV | SWV | DPV | SWV | |
| 21.084 | 15.453 | 0.048 | 4.659 | 0.074 | 6.348 | PR1 |
| 19.762 | 7.647 | 0.046 | 5.333 | 0.070 | 5.182 | PR2 |
| 12.657 | 10.846 | 0.031 | 4.774 | 0.048 | 3.278 | PR3 |
| 26.239 | 26.675 | 0.053 | 14.313 | 0.082 | 1.399 | PR4 |
| 8.884 | 5.779 | 0.024 | 1.119 | 0.037 | 5.028 | PR5 |
| 7.944 | 6.845 | 2.247 | 3.447 | 0.055 | 8.497 | P1 |
| 5.651 | 6.736 | 1.672 | 1.724 | 0.051 | 8.712 | P2 |
| 5.361 | 5.066 | 0.342 | 0.668 | 0.027 | 25.706 | P3 |
| 11.594 | 8.291 | 0.949 | 2.706 | 0.045 | 2.203 | P4 |
| 12.954 | 8.428 | 1.485 | 2.792 | 0.050 | 6.784 | P5 |

من الملاحظ في الجدول 7.VI. أن هناك تباين في كميات المواد المضادة للأكسدة من عينة لأخرى و هذا مبرر، لكن الاشكال هو الاختلاف في كمية المواد المضادة للأكسدة لنفس المركب القياسي في الطرق الفولتامترية التفاضلية و الموجة المربعة لنفس العينة، كيف يمكننا تفسيره؟ التفسير الوحيد الذي يمكننا طرحه هنا بعد الرجوع الى المعادلات التي تربط التيار بكمية المادة، فالمعادلة تحوي عدد كبير من المتغيرات تجعل من المستحيل أن تتطابق النتائج دون دراسة تفصيلية لكل متغير على حدى، كما ان لكل مركب فعالية كهربائية فقد يشترك أكثر من مركب في كمون الاكسدة عند شروطنا التجريبية لكن لا يعطونا نفس التيار و هذا لا يمنع من وجود علاقة بين النتائج المتحصل عليها و كمية مضادات الاكسدة الحقيقية.

كما يمكن الملاحظة من خلال المقارنة بين كميات المواد المضادة للأكسدة المقدره بالطرق الكهروكيميائية وكميات بعض المركبات المقدره بالكروماتوغرافيا السائلة HPLC في اغلب الاحيان ان الكميات المقدره بالطرق الكهروكيميائية اكبر من الكميات المقدره بالطرق الكروماتوغرافية و يرجع ذلك لعدة اسباب منها، ان الكميات الزائدة في تقدير الطرق الكهروكيميائية هي كميات المواد المضادة للاكسدة التي تشابه في خصائصها الكهروكيميائية المركب القياسي الذي اتخذ كمرجع.

كما يمكن ان يكون الفارق في الكمية هي المركبات التي لم يتم تقديرها بالطريقة الكروماتوغرافيا فالمركبات القياسية لدينا ثمانية فقط و من المعلوم ان المنتجات المدروسة تحتوي على عدد هائل من هذه المركبات تتجاوزها بعشرات او مئات المرات لذلك فنتائج التقدير في الكهروكيمياء اكبر.

الطرق الكهروكيميائية في هاته الحالة تصلح كطريقة للتحليل الكمي للمركبات المتماثلة في خصائصها الكهروكيميائية كمن الاكسدة و الارجاع، اما الكروماتوغرافيا السائلة فهي تعتمد على اكثر من خاصية فهي تعتمد علي حجم الجزيئة وقطبتها و طول موجة الامتصاص الاعظمي λ ، هذه الخصائص تجعلها اكثر انتقائية خاصة من ناحية التحليل الكيفي و بالتالي تقدير كل مركب على حدى.

يمكن الاعتماد على الجدول 7.VI. و النتائج المتحصل عليها في تقدير الفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات في الدراسة الاحصائية لمعرفة مدى ترابط الكميات المستخلصة بالطرق الطيفية و الكروماتوغرافية و الكهروكيميائية.

5.VI. تحليل إحصائي:

1.5.VI. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA):

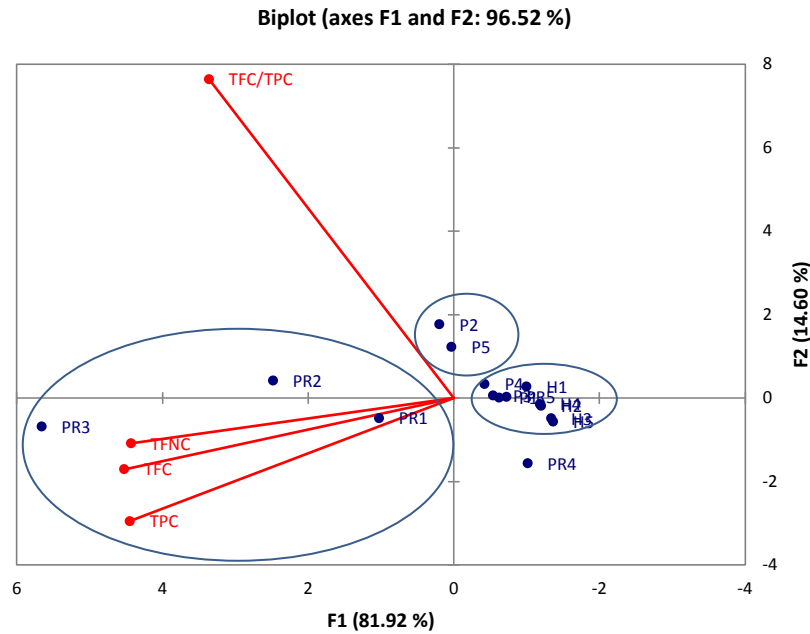
تم رسم المخطط (Biplot) الشكل 16.VI. بأخذ المحتوى الكلي للفينولات (TPC) و الفلافونويدات (TFC) و الفلافونولات (TFNC) و نسبة الفلافونويدات الى الفينولات الكلية (TFC/TPC) كمتغيرات.

الجدول 8.VI. مصفوفة العلاقة الثنائية بين محتوى الفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات.

| TFC/TPC | TFNC | TFC | TPC | |
|---------|-------|-------|-------|---------|
| | | | 1 | TPC |
| | | 1 | 0.977 | TFC |
| | 1 | 0.891 | 0.903 | TFNC |
| 1 | 0.607 | 0.597 | 0.507 | TFC/TPC |

من الجدول 8.VI. يتضح أن هناك علاقات ترابط قوي بين الثنائيات التالية:

- المحتوى الكلي للفينولات و المحتوى الكلي للفلافونويدات.
- المحتوى الكلي للفينولات و المحتوى الكلي للفلافونولات.
- المحتوى الكلي للفلافونويدات و المحتوى الكلي للفلافونولات.



الشكل 16.VI. منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة حسب المحتوى الفينولي.

من الواضح أنه يمكن تمثيل المتغيرات وفق معاملين فقط هو $F1(81.92\%)$ و $F2(14.60\%)$ ، حسب منحنى توزيع العينات فالعينات PR1 و PR2 و PR3 من أغنى العينات بالمواد الفعالة، كما أن المجموعة P2 و P5 و PR2 هي الأعلى نسبة للفلافونويدات على الفينولات.

كما يلاحظ أن أغلب بقية العينات تتشابه في أنها من أقل العينات أحتواء للمواد الفعالة.

كما تم رسم المخطط (Biplot) الشكل 17.VI. بأخذ المحتوى من المركبات الفينولية المقدره بالكروماتوغرافيا السائلة (HPLC) كمتغيرات.

الجدول 9.VI. مصفوفة العلاقة الثنائية بين محتوى المركبات الفينولية المقدره بـ(HPLC).

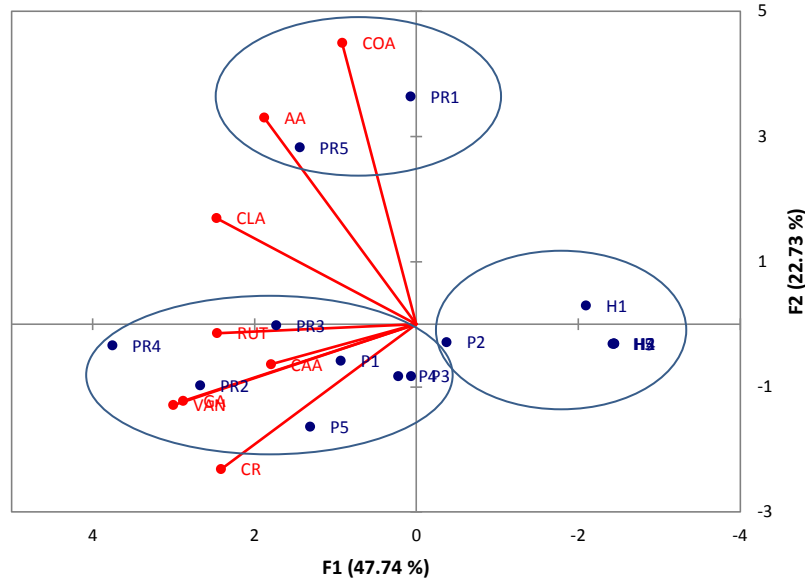
| RUT | COA | VAN | CR | CAA | CLA | GA | AA | Variables |
|----------|----------|--------------|--------------|----------|--------------|--------------|--------------|-----------|
| | | | | | | | 1 | AA |
| | | | | | | 1 | 0.414 | GA |
| | | | | | 1 | 0.359 | 0.455 | CLA |
| | | | | 1 | 0.525 | 0.518 | 0.071 | CAA |
| | | | 1 | 0.189 | 0.331 | 0.615 | 0.137 | CR |
| | | 1 | 0.817 | 0.470 | 0.566 | 0.806 | 0.340 | VAN |
| | 1 | 0.026 | -0.200 | 0.010 | 0.496 | -0.019 | 0.732 | COA |
| 1 | 0.173 | 0.514 | 0.546 | 0.107 | 0.477 | 0.666 | 0.337 | RUT |

من الجدول 9.VI. يتضح أن هناك علاقات ترابط متوسطة بين الثنائيات التالية:

- كمية حمض الغاليك و كمية حمض الكافيك.
- كمية حمض الغاليك و كمية الكريستين.
- كمية حمض الغاليك و كمية الفانيلين.
- كمية حمض الغاليك و كمية الروتين.
- كمية حمض الاسكوربيك و حمض الكوماريك.
- كمية حمض الكافيك و حمض الكلوروجنيك.
- كمية حمض الكلوروجنيك و الفانيلين.
- كمية الكريستين و الفانيلين.
- كمية الكريستين و الروتين.
- كمية الفانيلين و الروتين.

من الواضح أنه يمكن تمثيل المتغيرات وفق معاملين فقط هو F1(47.74%) و F2(22.73%)، حسب منحنى توزيع العينات فالعينات PR1 و PR5 من أغني العينات بحمض الاسكوربيك (AA) و الكوماريك (COA) و الكلوروجنيك (CLA)، أما العينات PR2 و PR3 و PR4 و P1 و P3 و P4 و P5 فهي أغني العينات بحمض الغاليك و حمض الكافيك (CAA) و الروتين (RU) و الكريستين (CR) و الفانيلين (VAN)، باقي العينات و هي P2 اضافة لعينات العسل تعد من أفقر العينات المدروسة للمركبات الفينولية المقدره.

Biplot (axes F1 and F2: 70.47 %)



الشكل 17.VI. منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة حسب محتوى المركبات الفينولية المقطرة بـ(HPLC)

تم أيضا رسم مخطط (Biplot) الشكل 18.VI. بأخذ كميات مضادات الاكسدة المقطرة بالطرق الفولتامترية كمتغيرات.

الجدول 10.VI. مصفوفة العلاقة الثنائية بين كميات مضادات الاكسدة المقطرة بالطرق الفولتامترية.

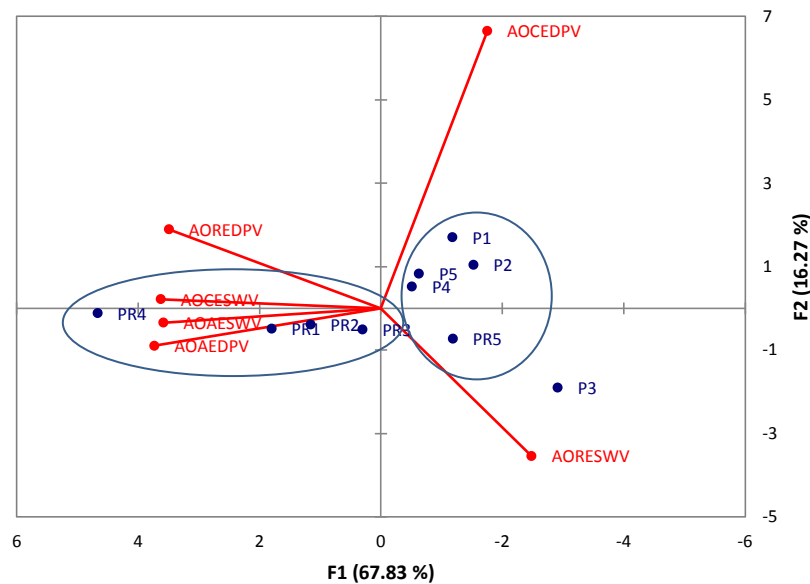
| AOAE _{DPV} | AOAE _{SWV} | AOCE _{DPV} | AOCE _{SWV} | AORE _{DPV} | AORE _{SWV} |
|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | | | | 1 |
| | | | | 1 | -0.574 |
| | | | 1 | 0.805 | -0.490 |
| | | 1 | -0.329 | -0.181 | 0.096 |
| | 1 | -0.375 | 0.939 | 0.769 | -0.449 |
| 1 | 0.841 | -0.526 | 0.849 | 0.884 | -0.548 |

من الجدول 10.VI. يتضح أن هناك علاقات ترابط قوية بين الثنائيات التالية:

- كمية مضادات الاكسدة المقطرة بفولتامترية الموجة المربعة و الكريستين كمرجع مع مضادات الاكسدة المقطرة الفولتامترية النبضي التفاضلي و الروتين كمرجع.
- كمية مضادات الاكسدة المقطرة بفولتامترية الموجة المربعة و حمض الاسكوربيك كمرجع مع مضادات الاكسدة المقطرة الفولتامترية النبضي التفاضلي و الروتين كمرجع.

- كمية مضادات الاكسدة المقدره بفولتامتري النبض التفاضلي و حمض الاسكوريك كمرجع مع مضادات الاكسدة المقدره الفولتامتري النبضي التفاضلي و الروتين كمرجع.
 - كمية مضادات الاكسدة المقدره بفولتامتري الموجة المربعة و حمض الاسكوريك كمرجع مع مضادات الاكسدة المقدره بفولتامتري الموجة المربعة و الكريستين كمرجع.
 - كمية مضادات الاكسدة المقدره بفولتامتري النبض التفاضلي و حمض الاسكوريك كمرجع مع مضادات الاكسدة المقدره بفولتامتري الموجة المربعة و الكريستين كمرجع.
 - كمية مضادات الاكسدة المقدره بفولتامتري الموجة المربعة و حمض الاسكوريك كمرجع مع مضادات الاكسدة المقدره بفولتامتري الموجة المربعة و الكريستين كمرجع.
- الملاحظ أن هناك ترابط قوي بين الطرق الفولتامترية.

Biplot (axes F1 and F2: 84.10 %)

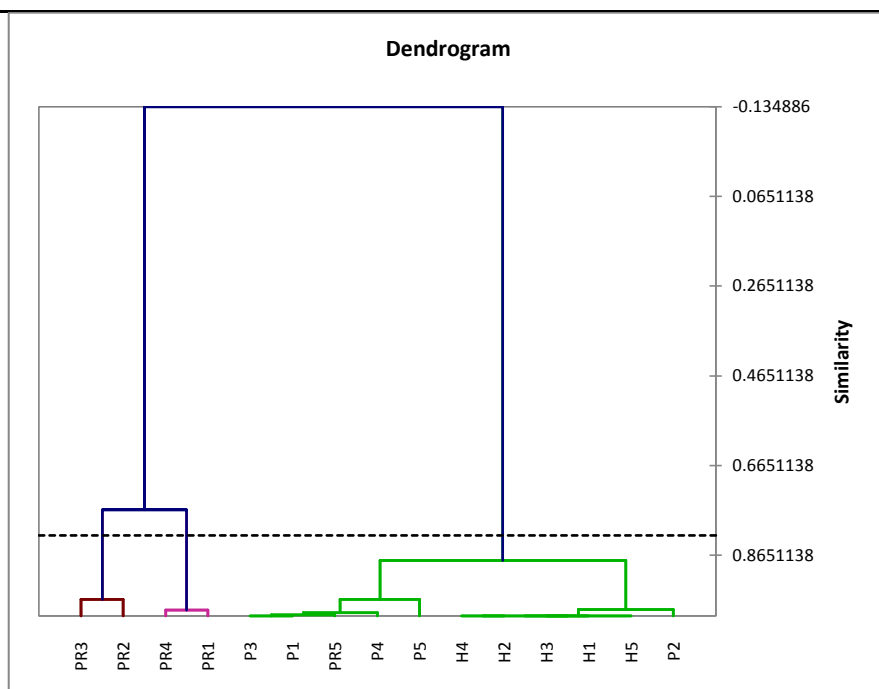


الشكل 18.VI. منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة حسب محتوى مضادات الاكسدة المقدره بالطرق الفولتامترية.

من الواضح أنه يمكن تمثيل المتغيرات وفق معاملين فقط هو $F1(67.83\%)$ و $F2(16.72\%)$ ، حسب منحنى توزيع العينات فالعينات $PR1$ و $PR2$ و $PR3$ و $PR4$ من أغنى العينات بمضادات الاكسدة المقدره بواسطة الطرق الفولتامترية، أما باقي العينات و هي كل عينات حبوب اللقاح اضافة للعينة $PR5$ و هي للبروبوليس فتعد أفقر العينات المروسة لمضادات الاكسدة، مع ملاحظة أن عينات العسل لم تدخل في هذا التحليل.

2.5.VI. طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC):

1- تصنيف العينات وفق المحتوى الفينولي و الفلافويدات و و الفلافونولات.



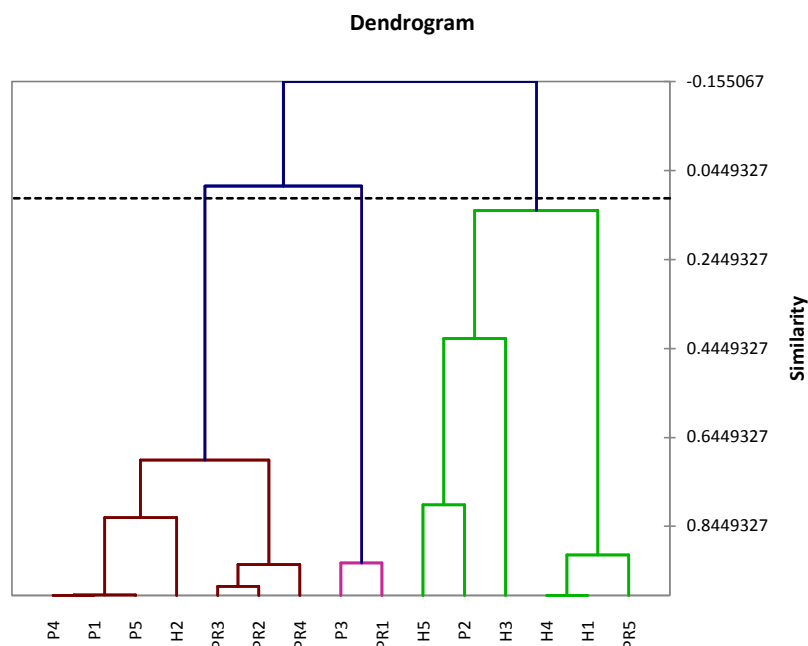
الشكل 19.VI. التمثيل العنقودي للعينات المدروسة وفق المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات.

حسب المخطط العنقودي في الشكل 19.VI. فانه يمكن تقسم العينات حسب التشابه في خصائص المحتوى من المركبات الفعالة الى ثلاث مجموعات:

- المجموعة الاولى و التي تحوي كل من العينة PR1 و PR4.
- المجموعة الثانية و التي تحوي كل من العينة PR2 و PR3.
- المجموعة الثالثة و هي اكبر المجموعات الثلاثة حيث تحوي بقية العينات و التي بدورها تحوي مجموعتان جزئيتان أكثر تشابه حسب المخطط هما، [P1, P3, P4, P5, PR5] و [H1, H2, H3, H4, H5, P2].

الملاحظ أن أغلب المجموعة الثالثة هي لعينات حبوب اللقاح و العسل، باستثناء عينة البروبوليس PR5، بينما أنقسمت عينات البروبوليس الى مجموعتين هما المجموعة الاولى و الثانية.

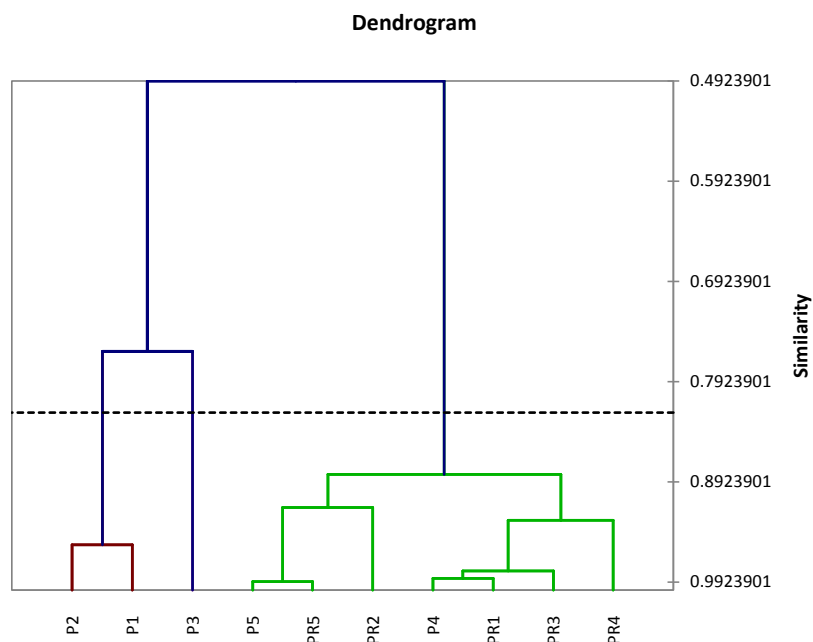
2- تصنيف العينات وفق محتوى المركبات الفينولية المقدره بالكروماتوغرافيا السائلة (HPLC).



الشكل 20.VI. التمثيل العنقودي للعينات المدروسة وفق محتوى المركبات الفلورية المقدر بـ (HPLC)

من الواضح خلال المخطط العنقودي في الشكل 20.VI. أن العينات انقسمت الى ثلاث مجموعات نسبة التشابه بينها ضعيفة نوعا ما هم كالتالي:

- المجموعة الاولى و هي التي تحوي العينات PR1 و P3.
 - المجموعة الثانية و هي التي تحوي العينات PR2 و PR3 و PR4 و P1 و P4 و P5 و H2، المجموعة الثانية تنقسم الى مجموعتان جزئيتان أكثر تشابه تضم الاولى منهما العينات [PR2, PR4] و الثانية [P1, P4, P5, H2].
 - المجموعة الثالثة و التي تحوي كل من العينات PR5 و P2 و H1 و H3 و H4 و H5، من الواضح أيضا أن تشابه العينات في هاته المجموعة أقل من المجموعة الاولى و الثانية، كما يمكن أن تنقسم المجموعة الى مجموعتان جزئيتان أكثر تشابه هما المجموعة [H1, PR5] و المجموعة [P2, H3, H5].
- 3- تصنيف العينات وفق كمية المواد المضادة للأكسدة المقدر بالطرق الفولتامترية.



الشكل 21.VI. التمثيل العنقودي للعينات المدروسة وفق كمية المواد المضادة للأكسدة المقطرة بالطرق الفولتامترية

من الواضح خلال المخطط العنقودي في الشكل 21.VI. أن العينات انقسمت الى ثلاث مجموعات نسبة التشابه بينها كبيرة هم كالتالي:

- المجموعة الاولى و هي التي تحوي جميع عينات البروبوليس و العينات P4 و P5 من حبوب اللقاح، و هي بدورها تنقسم الى مجموعتين جزئيتين أكثر تشابها الاولى [P4, PR1, PR3,] و الثانية [PR4, PR5, PR2].
- المجموعة الثانية و هي التي تحوي العينات P1 و P2.
- المجموعة الثالثة و التي تحوي على عينة وحيدة هي P3 .

إن تصنيف العينات حسب محتوى المواد الفعالة بالطرق المختلفة يتشابه في نتائج الطرق الثلاثة، يتضح ذلك من خلال إجراء مقارنة بسيطة بين العناقيد الثلاثة في الشكل 19.VI. و الشكل 20.VI. و الشكل 21.VI.

1. Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental physiology*, 82(2), 291-295.
2. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
3. Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *The World Allergy Organization journal*, 5(1), 9.
4. Mouliau, N., Truffault, F., Gaudry-Talarmin, Y. M., Serraf, A., & Berrih-Aknin, S. (2001). In vivo and in vitro apoptosis of human thymocytes are associated with nitrotyrosine formation. *Blood*, 97(11), 3521-3530.
5. Dorris, S. L., & Peebles, R. S. (2012). PGI 2 as a Regulator of Inflammatory Diseases. *Mediators of inflammation*, 2012.
6. Lubos, E., Handy, D. E., & Loscalzo, J. (2008). Role of oxidative stress and nitric oxide in atherothrombosis. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 13, 5323.
7. Murphy, M. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem. J*, 417, 1-13.
8. Halliwell, B. (2000). The antioxidant paradox. *The Lancet*, 355(9210), 1179-1180.
9. Gürkan, H. (2008). The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. *Advances in Molecular Biology*,(1), 1-9
10. Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
11. Jaeschke, H. A. R. T. M. U. T. (1990). Glutathione disulfide formation and oxidant stress during acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice in vivo: the protective effect of allopurinol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 255(3), 935-941.
12. E. de Rijke P.Out, W.M.A. Niessen, F.Ariese, C.Gooijer, U.A.Th. Brinkman,J. Chromatogr. A 1112 (2006) 31–63
13. B.H. Havsteen . *Pharmacology & Therapeutics* 96 (2002) 67–202.
14. P.K. Stumpf, E. Conn (Eds.), *The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise*, vol. 7: Secondary Plant Products, Academic Press, New York, NY, USA, 1981.
15. RIBEREAU GAYON P., 1968- Les composés phénolique des végétaux. Imp. Samie, Bordeaux, France.
16. E.Grotewold, 2006, *The Science of Flavonoids* (pp. 1-123), 1ST ed , Columbus, Ohio, USA, Springer Science_Business Media, Inc.
17. Biesaga, M., & Pyrzyńska, K. (2013). Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods. *Food chemistry*, 136(1), 46-54.
18. Pyrzyńska, K., & Biesaga, M. (2009). Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trends in Analytical Chemistry*, 28(7), 893–902
19. Jean Bruneton, *pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*, 3eme edition Technique.et Documentation, paris 1999.
20. Hroboňová, K., Lehotay, J., Čižmárik, J., & Sádecká, J. (2013). COMPARISON HPLC AND FLUORESCENCE SPECTROMETRY METHODS FOR DETERMINATION OF COUMARIN DERIVATIVES IN PROPOLIS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36(4), 486-503.
21. Hartzfeld, P. W., Forkner, R., Hunter, M. D., & Hagerman, A. E. (2002). Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(7), 1785-1790.
22. Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1), 21-40.

23. Mayworm, M. A., Lima, C. A., Tomba, A. C., Fernandes-Silva, C. C., Salatino, M. L., & Salatino, A. (2014). Does Propolis Contain Tannins?. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014.
24. Musa, T. N., Salih, N. M., & Ulaiwi, W. S. (2012). Detection of some active compounds in aqueous and ethanolic extracts of iraqi propolis and examine their antibacterial effects. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(1), 83-87.
25. Kaur, R., Kalia, P., Kumar, N. R., & Harjai, K. (2013). Preliminary studies on different extracts of some honey bee products. *Journal of Applied and Natural Science*, 5(2), 420-422.
26. Dutra, R. P., Abreu, B. V. D. B., Cunha, M. S., Batista, M. C. A., Torres, L. M. B., Nascimento, F. R. F., ... & Guerra, R. N. M. (2014). Phenolic Acids, Hydrolyzable Tannins, and Antioxidant Activity of Geopropolis from the Stingless Bee *Melipona fasciculata* Smith. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(12), 2549-2557.
27. MIDDLETON E., 1984- The flavonoides. trends pharmacol Science. Art. Sci. 5, pp. 335-338.
28. PARIS M. et HURABIELLE M.,1986- Arébgé Matière Médicale. Tome 1. Ed. Masson, Paris., pp. 465.
29. Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L. (2014). Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. *Molecules*, 19(12), 19610-19632.
30. Peterson, J., Dwyer, J. (1998).Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr. Res.*, 18(12), 1995-2018.
31. Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M., & Świerczek-Zięba, G. (2014). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19(1), 78-101.
32. Arinç, E., Yilmaz, D., & Bozcaarmutlu, A. (2014). Mechanism of Inhibition of CYP1A1 and Glutathione S-Transferase Activities in Fish Liver by Quercetin, Resveratrol, Naringenin, Hesperidin, and Rutin. *Nutrition and cancer*, (ahead-of-print), 1-8.
33. Sadik, C.D., Sies, H and Schewe, T. (2003).Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action. *Biochem. Pharmacol.* , 65(5):773-781.
34. Ribeiro, D., Freitas, M., Tomé, S. M., Silva, A. M., Laufer, S., Lima, J. L., & Fernandes, E. (2014). Flavonoids Inhibit COX-1 and COX-2 Enzymes and Cytokine/Chemokine Production in Human Whole Blood. *Inflammation*, 1-13.
35. Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van-Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J and Vanden Berghe, D. (1998).Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidaseand superoxide scavengers. *J. Nat. Prod.* 61: 71-76.
36. Chen, Y.C., Shen, S.C., Lee, W. R., Hou, W. C., Yang, L. L and Lee, T.J.F.(2001).Inhibition of nitric oxide synthase inhibitors and lipopolysaccharide induced inducible NOS and cyclooxygenase-2 gene expressions by rutin, quercetin, and quercetin pentaacetate in RAW 264.7 macrophages. *J. Cell. Biochem.*, 82(4): 537-548.
37. Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86(3), 345-391.
38. Sabatier, S., Amiot, M. J., Tacchini, M., & Aubert, S. (1992). Identification of flavonoids in sunflower honey. *Journal of food science*, 57(3), 773-774.
39. Syazana, M. S. N., Halim, A. S., Gan, S. H., & Shamsuddin, S. (2011). Antiproliferative effect of methanolic extraction of tualang honey on human keloid fibroblasts. *BMC complementary and alternative medicine*, 11(1), 82.
40. Chauhan, A., Pandey, V., Chacko, K. M., & Khandal, R. K. (2010). Antibacterial activity of raw and processed honey. *EJ Bio*, 6(3), 58-66.

41. Wahdan, H. A. L. (1998). Causes of the antimicrobial activity of honey. *Infection*, 26(1), 26-31.
42. Lepage, M., & Boch, R. (1968). Pollen lipids attractive to honeybees. *Lipids*, 3(6), 530-534.
43. Puker, A., Abot, A. R., Matias, R., Rodrigues, S. R., & Pinto, A. M. (2010). Propolis Produced by Africanized Honeybees in the Cerrado-Pantanal Ecotone: Effects of Seasonality in Production and Physico-Chemical Characteristics. *Sociobiology*, 56(1), 149-162.
44. Morais, M.; Moreira, L.; Feás, X.; Estevinho, L.M. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food Chem. Toxicol.* 2011, 49, 1096–1101.
45. Trusheva, B., Trunkova, D., & Bankova, V. (2007). Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. *Chemistry Central Journal*, 1(1), 1-4.
46. Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
47. Rebiai, A., Lanez, T., & Belfar, M. L. (2011). In vitro evaluation of antioxidant capacity of Algerian propolis by spectrophotometrical and electrochemical assays. *Int J Pharmacol*, 7, 113-118.
48. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3).
49. Mazza, G., Fukumoto, L., Delaquis, P., Girard, B., & Ewert, B. (1999). Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet franc, Merlot, and Pinot noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 4009-4017.
50. Rebiai, A., Lanez, T., & Belfar, M. L. (2013). Determination of caffeic acid and gallic acid in Algerian bee pollen by HPLC method. 4 Phytochem & BioSub Conference. At Bechar, Algeria.
51. Naama, J. H., Nima, Z. A., & Suleiman, G. M. (2010). Effects of active materials in alcoholic extract of Iraqi propolis on growth of some cancer lines in the laboratory and cancer of mammary gland in mice. *cancer cells*, 9, 10.
52. Maruyama, H., Sakamoto, T., Araki, Y., & Hara, H. (2010). Anti-inflammatory effect of bee pollen ethanol extract from *Cistus* sp. of Spanish on carrageenan-induced rat hind paw edema. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 30.
53. Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S., Liman, B. C., Altınordulu, Ş., & Sarıca, Z. S. (2009). Evaluation of protective effect of bee pollen against propoxur toxicity in rat. *Ecotoxicology and environmental safety*, 72(3), 931-937.
54. Makawi, S. Z. A., Gadkariem, E. A., & Ayoub, S. M. H. (2009). Determination of antioxidant flavonoids in Sudanese honey samples by solid phase extraction and high performance liquid chromatography. *Journal of Chemistry*, 6(S1), S429-S437.
55. Mendonça, L. S. D., Mendonça, F. M. R. D., Araújo, Y. L. F. M. D., Araújo, E. D. D., Ramalho, S. A., Narain, N., ... & Cardoso, J. C. (2015). Chemical markers and antifungal

- activity of red propolis from Sergipe, Brazil. *Food Science and Technology (Campinas)*, 35(2), 291-298.
56. Kosalec, I., Bakmaz, M., Pepeljnjak, S., & Vladimir-Knezevic, S. A. N. D. A. (2004). Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *ACTA PHARMACEUTICA-ZAGREB-*, 54(1), 65-72.
57. Leja, M., Mareczek, A., Wyzgolik, G., Klepacz-Baniak, J., & Czekońska, K. (2007). Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chemistry*, 100(1), 237-240.
58. Margaoan, R., Mărghitaş, L. A., Dezmirean, D., Bobis, O., Tomos, L., Mihai, C., & Bonta, V. (2013). Honeybee-collected pollen from Transylvania: palynological origin, phenolic content and antioxidant activity. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 70(2), 311-315.
59. Serra Bonvehí, J., Soliva Torrentó, M., & Centelles Lorente, E. (2001). Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(4), 1848-1853.
60. LeBlanc, B. W., Davis, O. K., Boue, S., DeLucca, A., & Deeby, T. (2009). Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115(4), 1299-1305.
61. Almaraz-Abarca, N., da Graça Campos, M., Ávila-Reyes, J. A., Naranjo-Jiménez, N., Herrera-Corral, J., & González-Valdez, L. S. (2004). Variability of antioxidant activity among honeybee-collected pollen of different botanical origin. *INTERCIENCIA-CARACAS-*, 29, 574-578.
62. Khalil, M. I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M. A., Islam, M. N., ... & Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17(9), 11199-11215.
63. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S. A., Khalil, M. I., & Gan, S. H. (2013). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chem Cent J*, 7, 138.
64. Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., ... & Battino, M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8), 2490-2499.
65. Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 177.
66. Manu Kumar, H. M., Ananda, A. P., & Vishwanathan, D. (2013). Study of Physicochemical parameters and Antioxidant in Honey collected from different locations of India. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 4(12).
67. Matei, N., Birghila, S., Dobrinas, S., & Capota, P. (2004). Determination of C vitamin and some essential trace. *Acta Chim. Slov*, 51, 169-175.
68. Oliveira, K. C., Moriya, M., Azedo, R. A., Almeida-Muradian, L. B. D., Teixeira, E. W., Alves, M. L., & Moreti, A. C. (2009). Relationship between botanical origin and antioxidants vitamins of bee-collected pollen. *Química Nova*, 32(5), 1099-1102.

69. Melo, I. L. P. D., & Almeida-Muradian, L. B. D. (2010). Stability of antioxidants vitamins in bee pollen samples. *Química Nova*, 33(3), 514-518.
70. Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Troullidou, E., Mourtzinis, I., & Karathanos, V. T. (2009). Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. *Food Chemistry*, 116(2), 452-461.
71. Cheng, N., Ren, N., Gao, H., Lei, X., Zheng, J., & Cao, W. (2013). Antioxidant and hepatoprotective effects of Schisandra chinensis pollen extract on CCl₄-induced acute liver damage in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 234-240.
72. Ulusoy, E., & Kolayli, S. (2014). Phenolic composition and antioxidant properties of Anzer Bee pollen. *Journal of Food Biochemistry*, 38(1), 73-82.
73. de Funari, C. S., de Oliveira Ferro, V., & Mathor, M. B. (2007). Analysis of propolis from Baccharis dracunculifolia DC.(Compositae) and its effects on mouse fibroblasts. *Journal of ethnopharmacology*, 111(2), 206-212.
74. Ahn, M. R., Kumazawa, S., Usui, Y., Nakamura, J., Matsuka, M., Zhu, F., & Nakayama, T. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chemistry*, 101(4), 1383-1392.
75. Sulaiman, G. M., Al Sammarrae, K. W., Ad'hiah, A. H., Zucchetti, M., Frapolli, R., Bello, E., ... & Bagnati, R. (2011). Chemical characterization of Iraqi propolis samples and assessing their antioxidant potentials. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2415-2421.
76. Serra Bonvehí, J., Soliva Torrentó, M., & Centelles Lorente, E. (2001). Evaluation of polyphenolic and flavonoid compounds in honeybee-collected pollen produced in Spain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(4), 1848-1853.
77. Carpes, S. T., de Alencar, S. M., Cabral, I. S. R., Oldoni, T. L. C., Mourão, G. B., Haminiuk, C. W. I., ... & Masson, M. L. (2013). Polyphenols and palynological origin of bee pollen of Apis mellifera L. from Brazil. Characterization of polyphenols of bee pollen. *CyTA-Journal of Food*, 11(2), 150-161.
78. Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3774-3779.
79. Tomás-Barberán, 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.
80. Abdel-Hamid, R., & Newair, E. F. (2011). Electrochemical behavior of antioxidants: I. Mechanistic study on electrochemical oxidation of gallic acid in aqueous solutions at glassy-carbon electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 657(1), 107-112.
81. Gunckel, S., Santander, P., Cordano, G., Ferreira, J., Munoz, S., Nunez-Vergara, L. J., & Squella, J. A. (1998). Antioxidant activity of gallates: an electrochemical study in aqueous media. *Chemico-biological interactions*, 114(1), 45-59.
82. Simić, A., Manojlović, D., Šegan, D., & Todorović, M. (2007). Electrochemical behavior and antioxidant and prooxidant activity of natural phenolics. *Molecules*, 12(10), 2327-2340.

83. Rapta, P., Mišík, V., Staško, A., & Vrábel, I. (1995). Redox intermediates of flavonoids and caffeic acid esters from propolis: an EPR spectroscopy and cyclic voltammetry study. *Free Radical Biology and Medicine*, 18(5), 901-908.
84. Hendrickson, H. P., Kaufman, A. D., & Lunte, C. E. (1994). Electrochemistry of catechol-containing flavonoids. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 12(3), 325-334.
85. Ghica, M. E., & Brett, A. M. O. (2005). Electrochemical oxidation of rutin. *Electroanalysis*, 17(4), 313-318.
86. Brett, A. M. O., & Ghica, M. E. (2003). Electrochemical oxidation of quercetin. *Electroanalysis*, 15(22), 1745-1750.
87. Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M., & Ferreira, I. C. (2008). Antioxidant activity of *Agaricus* sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food chemistry*, 111(1), 61-66.
88. Kilmartin, P. A. (2001). Electrochemical detection of natural antioxidants: Principles and protocols. *Antioxidants and Redox Signaling*, 3(6), 941-955.

الباب الثالث

دراسة طرق تقدير النشاط

المضاد للأكسدة لمنتجات النحل

الفصل السابع

طرق تقدير النشاط المضاد

للأكسدة

VII. تقدير النشاط المضاد للأكسدة:

على مدى العقود الماضية أقرحت العديد من الطرق التي تهدف الى تحدد مستوى النشاط المضاد للأكسدة، منها ما كانت تعتمد على كواشف كيميائية او تجهيزات و نظم آلية، فقد نشرت العديد من الدراسات التي تتناول هذا الميدان حيث أعتد فيه طرق كيميائية و فيزيائية لتحديد النشاط المضاد للأكسدة، هذه الطرق مبنية على القياس المباشر أو الغير مباشر لسرعة التفاعل و نسبته.

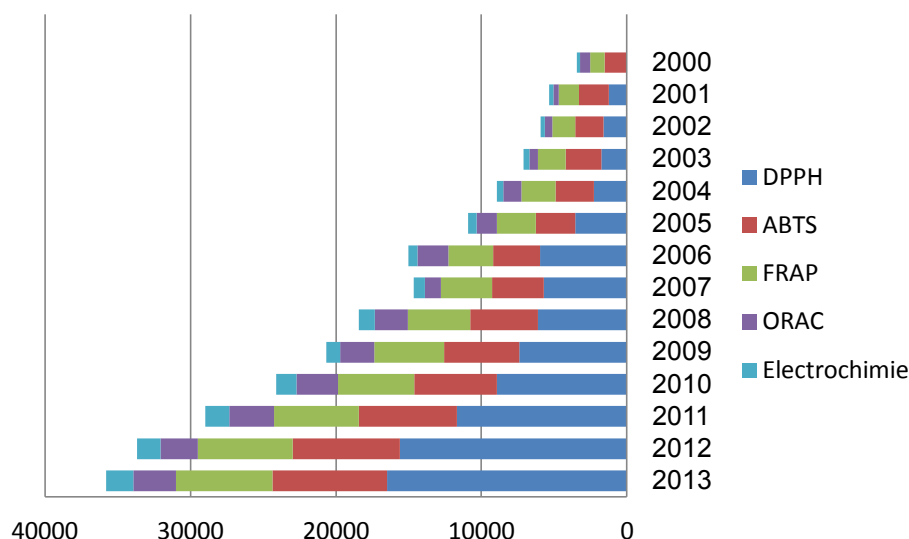
هناك ثلاث انواع رئيسية لأساليب قياس النشاط المضاد للأكسدة و هي قياس:

1. الاوكسجين المستهلك.
2. المادة المتأكسدة الناتجة.
3. امتصاص الجذور الحرة أو ارتباطها.^[1]

من الطرق التي تعتمد على القياسات أعلاه (ORAC) و (TRAP) و (TEAC) و (ABTS) و (TBARS)، في كل هذه الطرق و غيرها النشاط المضاد للأكسدة هو دالة للكثير من المتغيرات كدرجة الحرارة، و زمن التفاعل، طبيعة المادة و تركيزها، الوسط و غيرها.. و هي متغيرات كثيرة تجعل من الصعب ايجاد ترابط بين هاته الطرق^[2].

الطرق الكهركيميائية تعتمد على القياسات أعلاه، كما يمكنها أن تعتمد على أحد الكواشف المستعملة في الطرق الطيفية ك (DPPH) و (ABTS) و غيرها من الجذور^[3,4] ، و قد إرتفع في العقد الاخير استعمالها و أصبحت تعادل او تفوق الطرق الطيفية كما هو موضح في الشكل 1.VII.^[5,6]

عدد الأبحاث المهمة بتقدير النشاط المضاد للأكسدة



الشكل 1.VII. تطور عدد الأبحاث المهمة بتقدير النشاط المضاد للأكسدة

1.VII. الطرق الطيفية لتقدير مضادات الأكسدة:

يمكننا هنا إدراج بعض الطرق المعمول بها في هذا المجال:

1.1.VII. إختبارات الفعالية المضادة للأكسدة المعبر عنها بالترولكس المكافيء (TEAC):

هذه الطريقة تعتمد على انتقال الإلكترون المنفرد للجذر الكاتيوني $ABTS^{+}$ (sel d'ammonium $ABTS^{+}$ de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) نحو مضاد الأكسدة حيث يختفي اللون الأزرق و يصبح $ABTS^{+}$ عديم اللون. ينتج الجذر الكاتيوني $ABTS^{+}$ ذو اللون الأزرق من تفاعل $ABTS$ مع فوق كبريتات البوتاسيوم ($K_2S_2O_8$) ، إضافة المركب أو المادة المضادة للأكسدة يحد من هذا الجذر و ينتج عن ذلك تهاافت اللون الأزرق للخليط، تغير لون الجذر يتم قياسه بجهاز قياس الأشعة فوق البنفسجية و المرئية (spectrophotométrie) عند طول موجي 734 nm و يكون متناسبا طرديا مع تركيز المادة المضادة للأكسدة [7,8].

الطريقة عموما مرتبطة بمركب الترولكس (acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique) و هو مضاد للأكسدة قياسي، و بناء على ذلك فإن النتائج المتحصل عليها تكون بـ μM أو mM المكافيء للترولكس لكل غرام من المادة أو لكل مليلتر لها ان كانت سائلة، هذه الطريقة تعطينا نتائج نسبية قد تكون في بعض الاحيان اقل أو اكثر من القيمة الموجودة.

2.1.VII. اختبارات DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl):

هذا الاختبار يعتمد على تثبيط الجذر (DPPH[•]) ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل diphenyl picrylhydrazyl) المستقر نسبيا و ذو اللون البنفسجي حيث يتفاعل مع جزيئة مضادة للجذور الحرة و يتحول إلى (DPPH-H) ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) يتبع ذلك نقصان الامتصاصية عند طول الموجة الأعظمية بين $\lambda_{max} = 515-517\text{nm}$ المذيب المستعمل هنا الميثانول او الإيثانول.

ارجاع جذر (DPPH[•]) ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (diphenyl picrylhydrazyl) و اكتسابه بروتون يؤدي الى تشكل (DPPH-H) ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) ذو اللون الأصفر او الاخضر.

المركب المراد اختباره يضاف الى محلول (DPPH[•]) المحضر في الميثانول او الإيثانول، بعد ترك الخليط في الظلام لمدة من 10 الى 30 دقيقة، يتم قياس الامتصاصية الضوئية عند طول موجي 515 - 517 بجهاز قياس الاشعة فوق البنفسجية و المرئية (spectrophotométrie). قياس تهافت اللون البنفسجي للخليط مع الزمن تسمح لنا بالحصول على EC_{50} ، زمن يتهافت فيه 50% من لون الخليط.

عموما النتائج تعتمد على كمية مضادات الاكسدة اللازمة لتثبيط 50% من اجمالي الجذور الحرة (DPPH[•]) الابتدائية IC_{50} ، يعني ان النتائج متعلقة بالتركيز الابتدائي لـ (DPPH[•])، حيث نستطيع تعريف النشاط المضاد للأكسدة و الموسوم بالرمز AA و المعبر عنه بالنسبة $AA = [DPPH^{\bullet}]_{initiale}$ $EC_{50}/$ [9,10]

3.1.VII. إختبارات أوراك (Oxygen radical absorbance capacity) ORAC:

هذه الطريقة تعتمد على تهافت وميض الفلوريسين في وجود مادة كيميائية مؤكسدة هي AAPH (جذر البيروكسيل الحر) و هو جذر مستقر. وجود مادة مضادة للأكسدة في العينة يعيق التهافت. يتم تقدير القدرة المضادة للأكسدة للمركب بمدى قدرته على إعاقة تأكسد الفلوريسين بواسطة جذر البيروكسل الحر لمدة 30 دقيقة. تتابع حركية التفاعل و ذلك بالقرأة المباشرة للتهافت كل دقيقة، حيث يلاحظ تباطوء التفاعل في وجود المادة المضادة للأكسدة. تطبيقات هذا الاختبار تشمل العينات البيولوجيا مثل البلازما و مستخلصات الفواكه و الخضر [11,12].

من سلبيات هاته الطريقة ان التفاعل يعتمد على تراكيز معلومة من مركب قياسي معروف بقدرته المضادة للأكسدة.

2.VII. الطرق الكهروكيميائية لتقدير مضادات الأكسدة:

فكرة التحليل الكهروكيميائي لمضادات الأكسدة اقترحت بعد إعادة النظر جذريا في الطرق الطيفية المعتمدة في تقدير مضادات الأكسدة على المستويات الكمية أو الفاعلية للمواضيع المدروسة. هذا الطرح الجديد وضعت له أسس نظرية جديدة فيها برهان لطرائق وآليات تأثير مضادات الأكسدة و تم ذلك من خلال وضع علاقات رياضية جديدة لحساب العوامل الحركية للعمليات التي تجري على الأقطاب [13]، و وضعت أيضا مقاربات جديدة لمعالجة الإشارة التحليلية الناتجة.

الحلول المبتكرة التي اقترحت في هذا المجال تُحَقِّقُ منها على المستويين النظري والعملي، وهو تقدم لا يمكن إنكاره في التحليل الكهروكيميائي لمضادات الأكسدة، تم هذا لوضع الأسس المستقبلية لابتكار جهاز يمكنه تحديد كمية و فعالية المواد المضادة للأكسدة سواء كانت مركبات معزولة أو مزيج معقد.

الطرق الكهروكيميائية في معظمها تعتمد على خصائص المادة المدروسة و سلوكها على الاقطاب الصلبة. يعتبر قطب الكربون الزجاجي من أكثر الاقطاب شيوعا في تطبيقات دراسة النشاط المضاد للأكسدة و ذلك نظرا لخصائصه الفيزيائية و حساسيته للمركبات المضادة للأكسدة [14]، مع ذلك فالكثير من الباحثين درسوا أنواع كثيرة من الأقطاب المعدلة و أستعملوها في الكشف و تقدير مضادات الاكسدة منها: أقطاب الكربون المطبوعة [15]، أقطاب الكربون المعجونة بالبارفين [16] أو السلكون المطعمة بمواد عضوية و غير عضوية [17].

الطرق الكهروكيميائية التي اقترحت و تم تجريبيها و أعطت نتائج مذهلة هي تلك التي طورت في روسيا في العقد الأخير أي في بداية عام 2000 و تمثلت في:

- الطريقة الامبيرومترية و التي اقترحت من طرف الباحث (Y. I. Yashin) [18]
- الطريقة البوتنسيومترية اقترحت من طرف الباحثة (H.Z. Braynina) و تمكنت من تطويرها و الحصول على براءة اختراع [19-22]
- الطريقة الكالومترية من طرف الباحث (G.K. Budnikov) [23-25]، و تمكن هو الآخر من تطويرها و الحصول على براءة اختراع [26].
- الطريقة الفولتامترية من طرف الباحثة (Korotkova) [27].

هذه الأخيرة التي تطرق لها لأول مرة (S.Chevion) و (R.kohen) في بكورة ابحاثهما حول مضادات الأكسدة في جسم الإنسان [28]، و هذا لحل إشكالية تقدير الفعالية المضادة للأكسدة في بلازما الدم و الأنسجة الحية، حيث كانت العكارة تعيق عملية التقدير في الطرق الطيفية بالإضافة إلى الزمن الكبير الذي تستغرقه هذه الطرق [29].

لقد كان هدف الباحثان هو إيجاد طريقة بسيطة و سريعة و دقيقة تمكنهم من تقدير الفعالية المضادة للأكسدة في الأنظمة الحية، و ذلك لمتابعة المرضى و تشخيص حالاتهم الصحية، كما يمكنهم من اختبار الأدوية و آثارها [28]. و قد تمكنا من تطوير هذه الطريقة أكثر من مرة و تم تعميمها لتشمل أصناف أخرى من المواد المدروسة عدا الأنسجة الحية [30] و بلازما الدم [31]، فقد تم دراسة المركبات النقية و الخلائط المعقدة [32] و المواد الغذائية و مستخلصات النباتات مثل الشاي و القهوة [33] و عدد كبير من النباتات العطرية و الخضر مثل الفلفل و البصل [34] و الفواكه [35]، حتى الالبان [36] و النبيذ [37].

1.2.VII. العوامل التي ساهمت في ظهور التقنية الكهروكيميائية:

هناك العديد من العوامل التي عجلت بطرح الطرق الكهروكيميائية كبديل لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة، منها ما يتعلق بالسلبيات و النقص التي واجهت استخدام الطرق الطيفية، و منها ما يتعلق بالمزايا التي تتمتع بها الطرق الكهروكيميائية التحليلية.

2.2.VII. سلبيات و نقائص الطرق الطيفية:

على الرغم من تنوع الطرق الطيفية لتقدير الفعالية المضادة للأكسدة فقد بقي هناك الكثير من المشاكل و التحديات المطروحة بقوة للمختصين في هذا المجال نذكر منها [38]:

- أغلب الاختبارات الطيفية تعتمد على جذور صناعية ك (DPPH) و (ABTS) و (AAPH) و هي جذور لا تشبه و لا تمثل الجذور الناتجة في الاجسام الحية [39].
- عدم القدرة على مقارنة النتائج البحثية لطريقتين مختلفتين أجريت على نفس العينة.
- عدم وجود دراسات كافية لآليات النشاط المضاد للأكسدة للعديد من المركبات.
- عدم وجود دراسات كاملة لتأثير العديد من العوامل على الفعالية المضادة للأكسدة.
- عدم وجود معيار موحد للتقييم، سواء من الناحية الكمية أو قيمة الفعالية.
- عدم وجود قواعد موحدة تحدد النسبة و المحتوى لمضادات الأكسدة (التركيز و التقدير الأفضل).

- معرفة محدودة بـمدة تأثير مضادات الأكسدة التي تكون في العادة عبارة عن مزيج من المركبات، و مدى التوافق بين تركيباتها.
- أبحاث غير كافية عن تأثير درجة الحموضة (pH)، و المعالجة الحرارية أو الميكانيكية على النشاط المضاد للأكسدة للمركبات المدروسة.
- عدم وجود عينات مرجعية قياسية لتقييم الفعالية المضادة للأكسدة.
- عدم وجود مصطلحات، و سلم قياس و تفاعلات نموذجية موحدة لتحديد النشاط المضاد للأكسدة.
- إشكالية تقدير الفعالية المضادة للأكسدة في بلازما الدم و الأنسجة الحية، حيث العكارة تعيق عملية التقدير في الطرق الطيفية .

3.2.VII. مزايا الطرق الكهروكيميائية التحليلية:

تتميز الطرق الكهروكيميائية بالعديد من المزايا و الجوانب الايجابية جعلتها تنصدر طرق التحليل الكيميائي سواء الكيفي أو الكمي و تكون طريقة مقترحة كبديل للطرق الطيفية لتقدير مضادات الأكسدة، نعد أهمها في مايلي [5]:

- تعتبر من أدق طرق التحليل.
- الطريقة يمكنها تحليل أي مادة و مهما كانت طبيعتها و في أي وسط مختار (مائي، عضوي)، (حمضي، قاعدي).
- معظم العمليات الكيميائية و الحيوية، بما في ذلك عملية الإرجاع، تتم وفق آليات كهروكيميائية.
- أنها لا تتطلب إلا كمية محدودة من المادة المدروسة.
- أنها تسمح لنا بدراسة تأثير العديد من العوامل على نشاط مضادات الأكسدة: كدرجة الحموضة، طبيعة الالكتروليت و المذيبات وغيرها.
- أنها طريقة لا تتطلب كواشف أو مواد كيميائية ماعدا الالكتروليت المساعد.
- يمكن بهذه الطريقة تقييم النشاط المضاد للأكسدة في وسط ذو قيم pH مختلفة.
- طريقة تتميز بحساسية عالية، وانخفاض تكاليفها.
- طريقة تتيح امكانات كبيرة للبحث في مجالات لا حصر لها مثل الكيمياء و البيولوجيا و الطب، خاصة و أنها تظهر تأثيرات الأدوية و مضادات الأكسدة.

4.2.VII. المواد التي يمكن دراستها كهر وكيميائيا:

- المنتجات الغذائية.
- المنتجات المستخدمة في مستحضرات التجميل.
- المنتجات الصيدلانية.
- المستخلصات النباتية والمواد المضافة النشطة بيولوجيا.
- المواد البيولوجية مثل مصل الدم البشري والحيواني.

5.2.VII. إختبارات RSAR (Reactivity of superoxide anion radical):

نشاط جذر الأوكسجين الحر، مع ان هذه الطريقة تعتمد على قياس القدرة المضادة للأكسدة للفلافونويدات بالفولتامتري الحلقي، لكنها بقيت مثل ما سبق ذكره من الطرق تعتمد على مقارنة تيار الأكسدة لجذر الأوكسجين الحر. من سليات هاته الطريقة انها تعتمد على تراكيز معلومة من مركب قياسي معروف بقدرته المضادة للأكسدة مثل ترولكس، حمض الاسكوربيك،.....^[40]

كل الطرق و التقنيات المذكورة أعلاه لها العديد من العيوب و السلبيات، نذكر منها على سبيل المثال لا الحصر أن قيم القدرة المضادة للأكسدة المتحصل عليها لا تتطابق و تختلف من طريقة لأخرى تبعا لمصدر و نوع الجذور الحرة و طريقة القياس. هذا ما دفعنا الى الاعتماد على طريقة كهروكيميائية مبدأها مدي استهلاك المادة المضادة للأكسدة لجذور الاوكسجين الحر الناتج من ارجاع جزيئات الاوكسجين، هذه الطريقة لا تحتاج الى مركبات قياسية، فهي تعتمد على نسبة الاوكسجين المستهلك.

جذور الأوكسجين الحرة يتم انتاجها كهروكيميائيا عن طريق ارجاع جزيئة الأوكسجين على سطح قطب الكربون الزجاجي في ثنائي ميثيل الفورماميد (DMF) و بوجود ملح (Tetrabutylammonium hexafluorophosphate).

6.2.VII. الطرق التي تعتمد على إنتاج الجذور الحرة (O_2^-):

هذه الطريقة مبنية على حركية التفاعل بين جذر الأوكسجين (O_2^-) و المواد المضادة للأكسدة، التقنية الفولتامترية استخدمت هنا في قياس الانخفاض في مستوى الجذور الحرة (O_2^-) مباشرة من قيمة التيار المصعدي الذي يتناقص عند أكسدة هذه الجذور بواسطة الزيادة في تركيز المواد المضادة للأكسدة محل الدراسة^[40].

الارتباطات الخطية بين التيار المصعدي لجذر الاوكسجين (O_2^-) و تراكيز المواد المضادة للأكسدة المضافة تمكننا من وضع دليل إحصائي للقدرة المضادة للأكسدة بطريقة اكتساح جذر (O_2^-).

7.2.VII. آلية إنتاج جذر الاوكسجين O_2^- :

هناك طريقتين من أكثر الطرق شيوعا لإنتاج الجذور الحرة (O_2^-) ، حيث تختلف الطريقتين في مصدر الجذور الحرة:

1.7.2.VII. إنتاج الجذر الحر (O_2^-) بالطريقة الفولتامترية:

في هذه الطريقة، التقنية الفولتامترية الحلقية استخدمت لإنتاج جذر الاوكسجين (O_2^-) و ذلك بإرجاع جزيئات الاوكسجين المذاب (الغازي) في المذيب العضوي على مسرى الكربون الزجاجي، حيث يكتسب الأوكسجين إلكترون فيصبح جذر (O_2^-).

وجود جذر (O_2^-) سهل الكشف بواسطة التيار المصعدي المقاس على نفس المسرى خلال المسح العكسي (الأكسدة) . من المعلوم أن إرجاع و أكسدة الاوكسجين في الاوساط العضوية عكوس، كما هو معلوم أيضا أن الجذر (O_2^-) جذر مستقر في الأوساط الغير ميرتنة (aprotique). و بالتالي فالطريقة من أسهل الطرق لتوليد جذر (O_2^-) بدون أن نحتاج إلى أنظمة إنزيمية من اجل دراسة تفاعلاته مع الجزيئات أو المستخلصات. المواد المدروسة تكون غير نشطة كهروكيميائيا في مجال كمون إرجاع الأوكسجين، لكي لا يحدث أي تداخل أو تعقيد يحول دون تفسير النتائج. إذ بالرغم أن الفينولات عوامل مرجعة إلا أن أكسدتها تتم في المجال الموجب للكمون أي بعيدا عن مجال أكسدة و إرجاع الزوج (O_2/O_2^-).

2.7.2.VII. إنتاج الجذر الحر (O_2^-) بالطريقة الكيميائية:

هذه الطريقة تعتمد على مركب فوق اكسيد البوتاسيوم (KO_2) الذي ينتج الجذر (O_2^-) فور إذابته في مذيب عضوي، في هذه الطريقة دور الفولتامترية هو فقط تقدير مقدار استهلاك الجذور الحرة (O_2^-) بعد اضافة المواد المضادة للأكسدة، أهم ميزة في هذه الطريقة التحكم في تركيز الجذور الحرة عن طريق تركيز (KO_2)، كما أن التركيب التجريبي أبسط من الطريقة الاولى [41،42].

الفصل الثامن

المواد و طرق العمل

في هذا الفصل تمت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للعينات و بعض المركبات الفينولية النقية بالطرق الطيفية كاختبار DPPH و اختبار موليبديات الفوسفات، و اختبار الفولتامتري الحلقي و هو اختبار كهروكيميائي.

VIII. المواد و طرق العمل:

1.VIII. المواد الكيميائية:

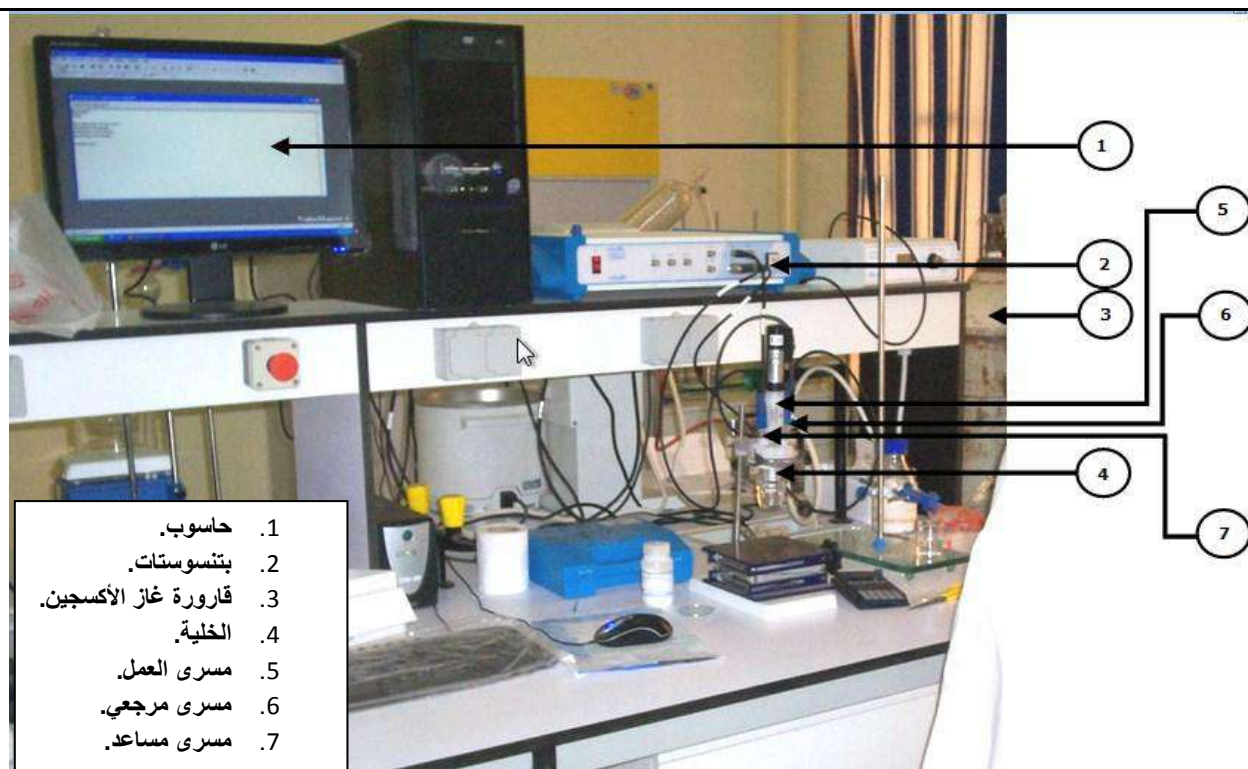
كل المواد الكيميائية المستعملة في هذا القسم هي مواد كيميائية تحليلية وبنسبة نقاوة عالية، من إنتاج مؤسسة (Alfa Aesar).

2.VIII. العينات:

تم تحضير المستخلصات المحفوظة سابقا إنطلاقا من المادة الصلبة المستخلصة في الميثانول للأوساط المائية و في (DMF) للأوساط العضوية.

3.VIII. الأجهزة المستخدمة:

أجريت الدراسة الكيميائية بإستعمال مطيافية فوق البنفسجية و المرئية (UV-1800)، كما أجريت الدراسة الكهروكيميائية، و تم استخدام التركيب التجريبي الموضح في الشكل 1.VIII. يحتوي على:



الشكل VIII.1. التركيب التجريبي لجهاز (Voltalab 80) و ملحقاته

جهاز (VOLTALAP 80, 230 V) (PGZ 401 POTENTIOSTAT TYPE).

صنع من طرف (Radiometer Analytical SAS) ، مرفق ببرنامج تشغيل (VoltaMaster 4).

المساري:

- **المسرى المرجعي:** هو إلكترود الكالومال المشبع بكلوريد البوتاسيوم (ECS).
- **المسرى المساعد:** له وظيفة وحيدة وهي إغلاق الدارة، وهو عبارة عن سلك من البلاتين ($\text{Ø}=1\text{mm}$).
- **مسرى العمل:** هو الإلكترود الذي تتم عليه تفاعلات الأكسدة والإرجاع ، وهو عبارة عن اسطوانة من الكربون الزجاجي ($\text{Ø}=3\text{mm}$).

4.VIII. إختبار DPPH:

لغرض تقدير الفعل الأسر للجزيئات المضادة للتأكسد للمستخلص الميثانولي لكل من العينات تم استعمال إختبار الـ (DPPH) ثنائي فينيل بكريل هايدرازيل (Diphenyl picrylhydrazyl) الذي يعتبر من أكثر الطرق استعمالا في تقدير التأثير الإزاحي للجزيئات المضادة للتأكسد [43]. قمنا بتحضر $250\ \mu\text{M}$ من محلول (DPPH) في الميثانول ثم تراكيز مختلفة من مستخلصات البروبوليس المخففة في الميثانول من كل

تركيز نأخذ 1ml نضيف لها 1ml من (DPPH) نجانس المحلول، و نتركه 30 دقيقة في الظلام بعدها تتم القراءة في جهاز UV-Vis عند طول الموجة الأعظمي $\lambda_{max}=517nm$. نجري نفس العملية على حمض الأسكوربيك (AA) وذلك قصد مقارنة فعالية مستخلصات البروبوليس بالمركبات المضادة للجذور الحرة وللأكسدة [44].

نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط (I%) و ذلك من العلاقة التالية:

$$I\% = \left(\frac{A_0 - A_I}{A_0} \right) \times 100$$

حيث أن:

A_0 : الامتصاصية الضوئية للجذر الحر في غياب المستخلصات.

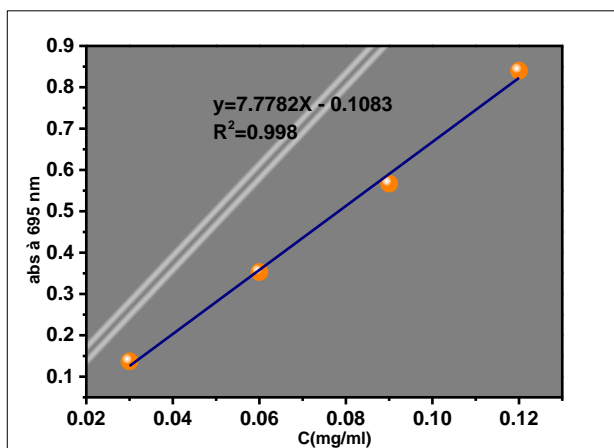
A_I : الامتصاصية الضوئية للخليط (الجذر + المستخلصات) بعد مرور 30 دقيقة.

5.VIII. إختبار موليبيدات الفوسفات (MP):

تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة حسب طريقة Prieto [45] بعد بعض التعديلات التي تتضمن مايلي، 0.2 ml من تراكيز ممددة من مستخلصات العينات المدروسة نضيف لها 2 ml من الكاشف و هو محلول محضر يحتوي على 4 mM من موليبيدات الامونيوم، 28 mM من فوسفات الصوديوم، 0.6 M من حمض الكبريت، يتم حضن الخليط في حمام مائي بدرجة حرارة 95 °C و لمدة 90 min ، بعد انقضاء المدة تترك العينات تبرد في درجة حرارة الغرفة.

تتم قراءة الامتصاصية بجهاز (UV-Visible) عند طول الموجة $\lambda_{MAX} = 695nm$.

تم استعمال حمض الغاليك كمركب قياسي بتراكيز محصورة بين (0.03 g/ml و 0.250 g/ml) و تمت معاملة التراكيز بنفس الكاشف و الطريقة، انطلاقا من قيم الامتصاصية (A) لحمض الغاليك، نرسم المنحنى القياسي الذي يبين تغير الامتصاصية (A) بدلالة التركيز بـ (mg/ml) الموضح في الشكل 2.VIII.



الشكل 2.VIII. المنحنى القياسي لحمض الغاليك

6.VIII. الاختبار الكهروكيميائي للقدرة المضادة للأوكسدة:

1.6.VIII. تحضير مسرى العمل:

يعتبر مسرى العمل الركيزة الأساسية للدراسة الكهروكيميائية حيث تتم على سطحه عملية الأكسدة و الإرجاع، لذا وجب التأكد من خلو السطح من أي مادة تعمل على إعاقة عمليتا الأكسدة و الإرجاع، كوجود أكاسيد أو مادة مرجعة أو دهون من هنا كانت أهمية معالجة السطح و تنظيفه قبل أي عملية قياس.

معالجة السطح و تنظيفه تتم فيزيائياً بإستعمال أوراق كربيد السيلكون (4000) و كيميائياً بإستعمال الإسيتون لإزالة الدهون و الماء المقطر لإزالة الأملاح كما يجفف السطح من الماء لأنه يؤثر في القياسات، و يتم التأكد من نظافة السطح كهروكيميائياً.

2.6.VIII. الإلكتروليت المساعد:

نحضر تركيز 0.1M من ملح $(\text{Bu}_4\text{NPF}_6)$ ، يمزج مع المذيب العضوي DMF و نضعه في خلية العمل، نقوم بعملية الرج لمدة 5 دقائق و ذلك لتجانس المحلول.

3.6.VIII. السلوك الكهروكيميائي للنظام $(\text{O}_2/\text{O}_2^-)$ في وسط عضوي:

تطرقنا إلى دراسة السلوك الكهروكيميائي للنظام $(\text{O}_2/\text{O}_2^-)$ بواسطة الفولتامترية الحلقية في وسط عضوي (DMF)، و في وجود الملح بتركيز 0.1M و ذلك على مسرى من الكربون الزجاجي (CV) ذا قطر 3mm (مسرى العمل) أما المسرى المرجعي فهو عبارة عن مسرى الكالومال (ECS) المشبع بـ KCl، قمنا بتحديد مجال الكهروفعالية للأوكسدة و إرجاع الأكسجين على قطب الكربون الزجاجي، حيث حدد

المجال من (-1400 mV إلى 0) في الجهة المهبطية ومن (0 إلى -1400mv) في الجهة المصعدية ، سرعة المسح 100 mv/s ، في النظام المغلق و النظام المفتوح .

يتم تشبع الخلية بالأوكسجين فائق النقاوة عن طريق الفوران لمدة من 10 الى 15 دقيقة.

1.3.6.VIII. دراسة تأثير بعض العوامل على النظام (O_2/O_2^-):

تم دراسة العوامل المؤثرة على النظام (O_2/O_2^-)، حيث أعتمدت كمتغيرات مثل الحرارة، و المذيب و الالكتروليت المساعد و سرعة المسح و غيرها من العوامل.

2.3.6.VIII. دراسة تأثير بعض مضادات الاكسدة على النظام (O_2/O_2^-):

تم دراسة بعض مضادات الاكسدة كل مركب على حدا في النظام (O_2/O_2^-)، و هي أحماض فينولية كحمض الغاليك و حمض الكافيك و حمض الكلورجنيك، فلافونويدات و هي الروتين و الكريستين و الكاتشين، مضادات أكسدة صناعية كـ BHT و BHA ، مركبات أخرى كحمض الاسكوريك و α -توكوفيرول. المركبات تم اختبارها كمايلي:

- تم تجهيز الخلية و ضبط الشروط وفق الخطوات المبينة أعلاه.
- تم تحضير محاليل متماثلة في التركيز للمركبات المدروسة.
- يتم حقن المحاليل في الخلية الكهروكيميائية مع المحافظة على غلقها لأستقرار النظام و ضمان عدم حدوث تسرب.
- رسم المنحنيات الفولتامترية للنظام بعدة تكرارات للتأكد من أستقراريته.

3.3.6.VIII. دراسة تأثير العينات المدروسة على النظام (O_2/O_2^-):

تم دراسة العينات بنفس الطريقة التي إعتدنا عليها في دراسة المركبات المضادة للأكسدة.

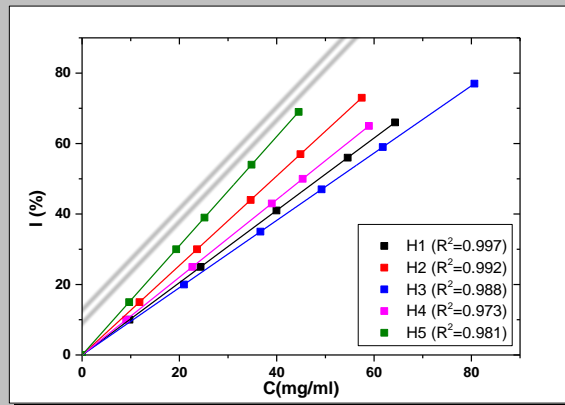
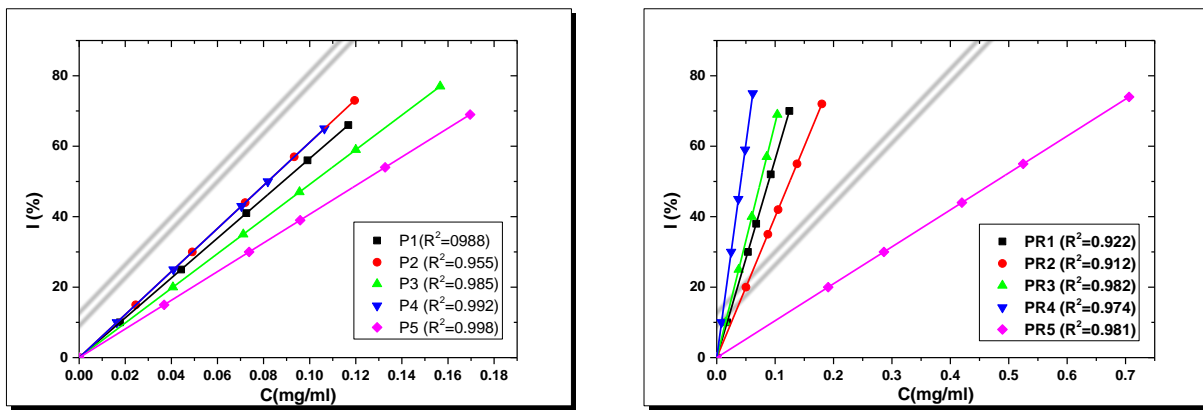
الفصل التاسع

النتائج و المناقشة

IX. النتائج و المناقشة

1.IX. إختبار DPPH

تم تعيين قدرة العينات المدروسة على كبح الجذر الحر DPPH و ذلك بحساب IC_{50} من العلاقة السابقة. و ذلك من خلال رسم منحنيات التثبيط بدلالة التركيز كما هو موضح في الشكل 1.IX. و هذه القيم تعبر عن تركيز المستخلصات المدروسة اللازمة لانقاص نصف تركيز الجذر الحر DPPH الابتدائي عند طول موجي 517nm.



الشكل 1.IX. منحنيات تثبيط الجذر الحر DPPH بدلالة تراكيز مستخلصات العينات المدروسة

من خلال الشكل 1.IX. و القيم المدونة في الجدول 1.IX. يمكننا أن نلاحظ مايلي:

أن هناك تباين في قيم اختبار DPPH بين المنتجات الثلاثة المدروسة حيث تتراوح قيم IC_{50} لمنتج البروبوليس بين $[0.04118-0.47709 \text{ mg.ml}^{-1}]$ و هي قيم متباينة، القيم الدنيا منها تتوافق مع قيم IC_{50}

ليربوليس الارجنتين التي تراوحت بين $[0.0466-0.0895 \text{ mg.ml}^{-1}]$ [46] و هي أكبر من قيم IC_{50} ليربوليس تركيا الذي لم تتجاوز $0.03181 \text{ mg.ml}^{-1}$ [47].

الجدول 1.IX. نتائج اختبار (DPPH) و اختبار الموليبيدات (MP) للعينات.

| المناطق | رمز العينة | IC_{50} DPPH(mg/ml) | ARP | MP (mgGAE /g) |
|---------|------------|-----------------------|--------|---------------|
| تيازة | PR1 | 0.08887 | 11.520 | 107.9 |
| عنابة | PR2 | 0.12506 | 7.996 | 122.2 |
| تلمسان | PR3 | 0.07516 | 13.304 | 99.5 |
| سطيف | PR4 | 0.04118 | 24.283 | 129.83 |
| الوادي | PR5 | 0.47709 | 2.096 | 40.27 |
| تيازة | P1 | 0.08840 | 11.312 | 47.92 |
| عنابة | P2 | 0.11266 | 8.876 | 53.03 |
| تلمسان | P3 | 0.10170 | 9.832 | 43.36 |
| سطيف | P4 | 0.08185 | 12.217 | 57.52 |
| الوادي | P5 | 0.12289 | 8.137 | 46.38 |
| تيازة | H1 | 48.7311 | 0.020 | 27.59 |
| عنابة | H2 | 39.3725 | 0.025 | 22.89 |
| تلمسان | H3 | 52.3633 | 0.019 | 32.51 |
| سطيف | H4 | 45.3427 | 0.022 | 25.99 |
| الوادي | H5 | 32.2532 | 0.031 | 19.83 |

أما حبوب اللقاح فهي بين $[0.08185-0.12289 \text{ mg.ml}^{-1}]$ و هي متوافقة مع قيم IC_{50} لحبوب لقاح صحراء سونوران الامريكية التي تراوحت بين $[0.015-0.145 \text{ mg.ml}^{-1}]$ [48] و أقل من قيم IC_{50} لحبوب لقاح البرازيل التي فاقت بعض مستخلصاته $0.2365 \text{ mg.ml}^{-1}$ [49]. و هي أقل أيضا من قيم IC_{50} لحبوب اللقاح البرتغالي و النيوزلندي الذي تجاوز 0.5 mg.ml^{-1} [50].

أما عينات العسل فقيمة IC_{50} محصورة بين $[32.2532-52.3633 \text{ mg.ml}^{-1}]$ و هي قيم أقل من القيم التي تحصل عليها (Khalil) في الدراسة التي لعينات من العسل الجزائري و التي فاقت 120 mg.ml^{-1} مما يعني ان العينات التي درسناها أفضل من حيث الفعالية المضادة للأكسدة [43]، أما عينات عسل مانوكا

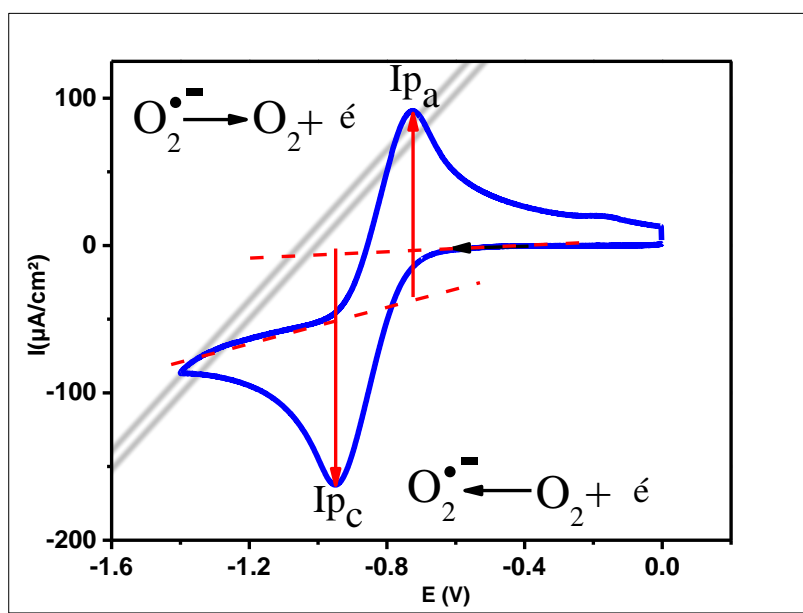
البريطاني و السنط الالمانى فلم تتجاوز قيمة IC50 لهما 13.62 mg.ml^{-1} مما يعني أنهما أفضل من عينات الدراسة [51].

2.IX. إختبار موليبيدات الفوسفات:

إجمالي القدرة المضادة للأكسدة للبروبوليس محصور بين $[40.27-129.83 \text{ mgGAE.g}^{-1}]$ و هي قيم معتبرة، أما إجمالي القدرة المضادة للأكسدة لحبوب اللقاح محصور بين $[43.36-57.52 \text{ mgGAE.g}^{-1}]$ ، و إجمالي القدرة المضادة للأكسدة لعينات العسل محصور بين $[19.83-32.51 \text{ mgGAE.g}^{-1}]$ و هي مقارنة لنتائج العسل التركي التي تراوحت بين $[12.76-80.80 \text{ mg AAE.g}^{-1}]$ [52]، و نتائج العسل الماليزي التي تراوحت بين $[14.75-54.27 \text{ mg AAE.g}^{-1}]$ [53].

3.IX. الاختبار الكهروكيميائي للقدرة المضادة للأكسدة:

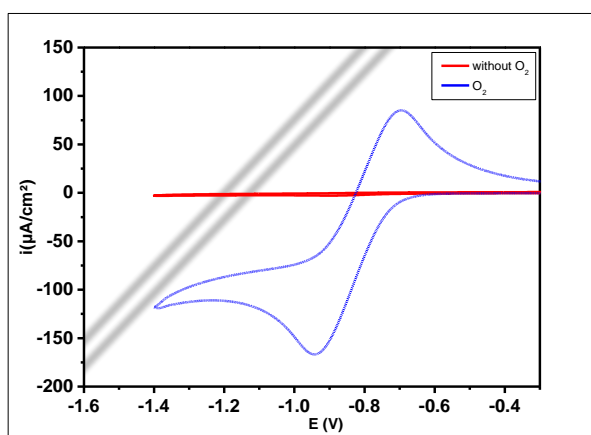
تحصلنا على المنحنى الفولتامترى الحلقي للاكسجين في الوسط العضوي (DMF) و في وجود الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6) الشكل 2.IX.



الشكل 2.IX. المنحنى الفولتامترى الحلقي للنظام ($\text{O}_2/\text{O}_2^{\bullet-}$) في مذيب (DMF) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

نلاحظ أن المنحنى في الشكل 2.IX، يحوي على نتوئين مصعدي في كمون $E_{pa} = -699 \text{ mV}$ و مهبطي في كمون $E_{pc} = -943 \text{ mV}$ ، من الواضح أيضا النظام عكوس و ذلك من خلال النسبة $\left(\frac{I_{pa}}{I_{pc}}\right)$ التي تقترب من الوحدة.

بعدها تحصلنا على المنحنى الفولتاممري الحلقي في وجود الأوكسجين و الممثل بالشكل 2.IX. نقوم بإشباع الخلية بالأزوت عن طريق الفوران لمدة من 10 الى 15 دقيقة و ذلك للتخلص من الأوكسجين، بعدها يتم رسم المنحنى الفولتاممري في نفس الشروط التي تم فيها رسم المنحنى الفولتاممري للأوكسجين، المنحنى الفولتاممري الحلقي المتحصل عليه ممثل في الشكل 3.IX.



الشكل 3.IX. المنحنى الفولتاممري الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) بعد تشبييع المحلول بالأزوت، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6) ، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

يتم أستخلاص العوامل الكهروكيميائية من المنحنيين في الشكل 2.IX و الشكل 3.IX. لاستعمالها في حسابات القدرة المضادة للأوكسدة.

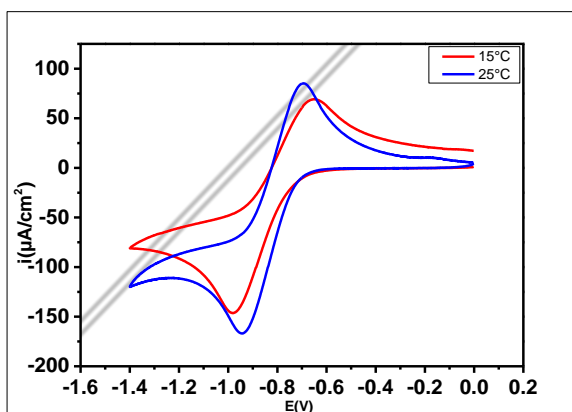
1.3.IX. دراسة تأثير بعض العوامل على النظام (O_2/O_2^-) :

1.1.3.IX. تأثير درجة الحرارة:

من خلال الشكل 4.IX. المنحنيات الفولتاممترية للنظام (O_2/O_2^-) في درجات حرارة مختلفة يلاحظ أنه كلما ارتفعت درجة الحرارة تبعها ارتفاع طفيف في قيمة التيار المهبطي و المصعدي (I_{pa}, I_{pc}) ، و هذا دليل على أن درجة الحرارة لها تأثير على النظام المدروس، هذا التأثير يمكن أن يكون ناتج عن عدة

عوامل أهمها ذوبانية الأوكسجين في المذيب المدروس، ميوعة المحلول التي تؤدي لزيادة الانتشار و كذا ذوبانية الالكتروليت المساعد و تأينه.

نتائجنا جاءت متوافقة مع نتائج دراسات سابقة، حيث توصل الى أن التيار المهبطي و المصعدي يزيد مع ارتفاع درجة الحرارة في الخلية [41].



الشكل 4.IX. المنحنى الفولتامترى الحلقى للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ، درجات الحرارة $25-15^\circ\text{C}$.

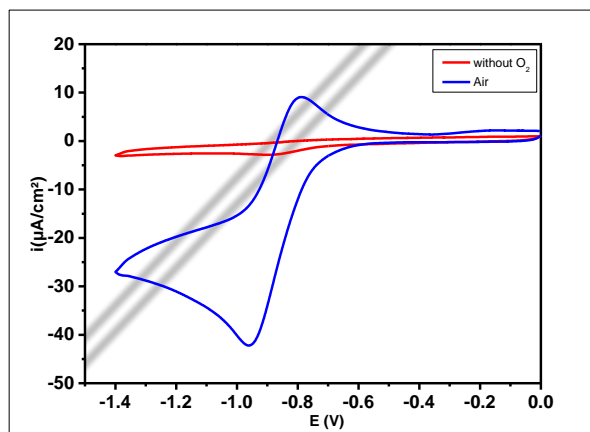
مع ملاحظة أن تأثير الحرارة على النظام المدروس واضحة من خلال الجدول 2.IX. و يمكن حساب الفروقات في التيار، حيث أن الفرق في التيار المهبطي بلغ ($\Delta I_{pc} = 20.95\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$) و المصعدي ($\Delta I_{pa} = 44.37\ \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$) لذلك يجب أخذ هذا التأثير بالاعتبار وذلك من خلال العمل على تثبيت درجة الحرارة في درجة حرارة (25°C).

جدول 2.IX. تأثير درجة الحرارة على بعض العوامل الكهروكيميائية المستخلصة من النظام (O_2/O_2^-).

| $\Delta E(\text{mV})$ | $\Delta E_{1/2}$ | $E_{1/2}(\text{mV})$ | $E_{pa}(\text{mV})$ | $E_{pc}(\text{mV})$ | I_{pa}/I_{pc} | $I_{pa}(\mu\text{A}/\text{cm}^2)$ | $I_{pc}(\mu\text{A}/\text{cm}^2)$ | $T(^\circ\text{C})$ |
|-----------------------|------------------|----------------------|---------------------|---------------------|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| 321 | 193 | -787 | -659 | -980 | 0.667 | 95.90 | -143.74 | 15 |
| 244 | 137 | -806 | -699 | -943 | 0.851 | 140.27 | -164.69 | 25 |

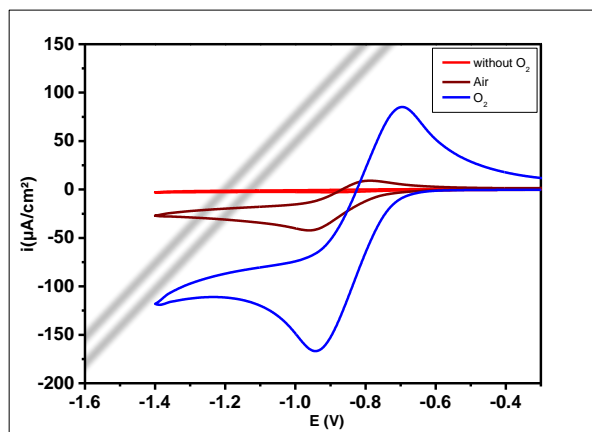
2.1.3.IX. تأثير الهواء:

النظام المفتوح: و هو النظام الذي تبقى فيه الخلية الكهروكيميائية معرضة للهواء الخارجي، يعني أن مصدر الأكسجين الذائب في الخلية هو الهواء. الشكل 5.IX.



الشكل 5.IX. المنحنى الفولتاممري الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $100 mV.s^{-1}$ ، درجة الحرارة $25^\circ C$.

النظام المغلق: و هو النظام الذي يتم فيه تشبييع المحلول في الخلية بالاكسجين النقي $<99\%$ و ذلك بإمراره خلاله لمدة 15 دقيقة، بعد تشبييع المحلول يتم غلق الخلية بإحكام تجنباً لتسرب الاكسجين الى الخارج او دخول غازات اخرى للخلية. الشكل 6.IX.



الشكل 6.IX. المنحنى الفولتاممري الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $100 mV.s^{-1}$ ، درجة الحرارة $25^\circ C$.

تتلخص الفروقات الموجودة بين النظامين المغلق و المفتوح في النقاط التالية:

1. الفرق الواضح في قيمة التيار عند استقرار الخلية.
2. مجال الدراسة في النظام المغلق اكبر من النظام المفتوح.
3. النظام المغلق اكثر استقرارا من النظام المفتوح.

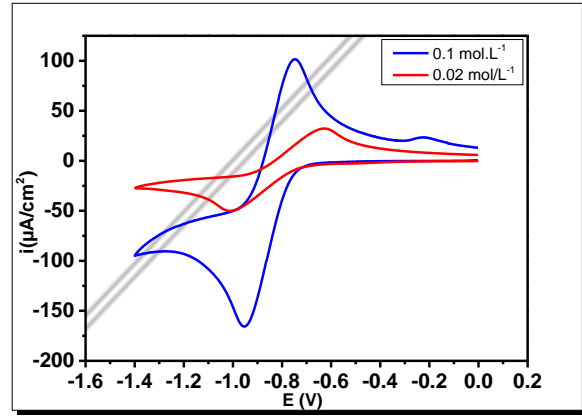
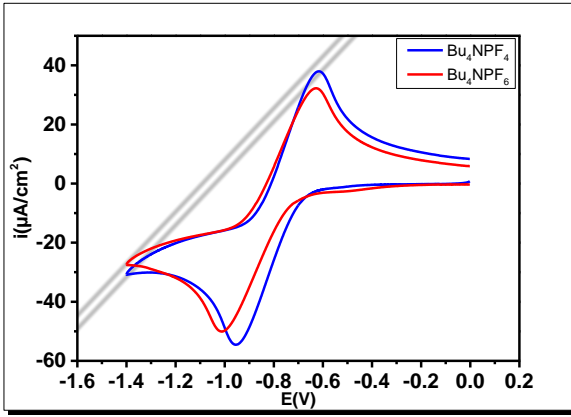
الجدول 3.IX. مقارنة للعوامل الكهروكيميائية للنظامين المغلق و المفتوح.

| $\Delta E(mV)$ | $\Delta E_{1/2}$ | $E_{1/2}(mV)$ | $E_{pa}(mV)$ | $E_{pc}(mV)$ | I_{pa}/I_{pc} | $I_{pa}(\mu A/cm^2)$ | $I_{pc}(\mu A/cm^2)$ | نوع النظام |
|----------------|------------------|---------------|--------------|--------------|-----------------|----------------------|----------------------|------------|
| 115 | 51 | -873 | -809 | -924 | 0.58 | 23.83 | -41.06 | مفتوح |
| 244 | 137 | -806 | -699 | -943 | 0.851 | 140.27 | -164.69 | مغلق |

من خلال الجدول 3.IX. اعلاه من الواضح أن هناك فرق معتبر بين التيار المهبطي للنظامين المفتوح و المغلق بلغ ($\Delta I_{pc} = 123.63 \mu A. cm^{-2}$)، كما يلاحظ أن الفرق في التيار المصعدي للنظامين بلغ ($\Delta I_{pa} = 116.44 \mu A. cm^{-2}$)، التيار في النظام المغلق أكثر من 4 اضعافه في النظام المفتوح، كما يلاحظ أن النظام المغلق اكثر استقرارا و ذلك من خلال النسبة $\left(\frac{I_{pa}}{I_{pc}}\right)$ للنظام المغلق اكبر من النظام المفتوح.

3.1.3.IX. تأثير الالكتروليت المساعد:

من الملاحظ في الشكل 7.IX. المنحنيات الفولتامترية للاكسجين انه كلما زاد تركيز الالكتروليت المساعد زاد تيار الاكسدة و الارجاع.



الشكل 7.IX. المنحنى الفولتامترى الحلقى للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي تراكيز مختلفة من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6) ، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

الشكل 8.IX. المنحنى الفولتامترى الحلقى للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) و الكتروليتين مساعدين مختلفين، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

كما يلاحظ أن هناك فرق واضح في كمونات الاكسدة و الارجاع عند تغيير الالكتروليت المساعد انظر الشكل 8.IX. فمثلا عند استعمال (Bu_4NPF_6) تكون كمونات الاكسدة و الارجاع للنظام (O_2/O_2^-) ، (-699 mV) و (-943 mV) على التوالي، اما عند استعمال (Bu_4NPF_4) فتكون الكمونات (-647 mV) و (-1009 mV) على التوالي، أيضا يمكن ملاحظة فروقات في التيار المصعدي و المهبطي، حيث يبلغ الفرق $(\Delta I_{pc} = 25.79 \mu\text{A. cm}^{-2})$ و $(\Delta I_{pa} = 7.7 \mu\text{A. cm}^{-2})$. أنظر الجدول 4.IX.

الجدول 4.IX. تأثير الالكتروليت المساعد على العوامل الكهروكيميائية للنظام (O_2/O_2^-) .

| الالكتروليت | $I_{pc}(\mu\text{A}/\text{cm}^2)$ | $I_{pa}(\mu\text{A}/\text{cm}^2)$ | I_{pa}/I_{pc} | $E_{pc}(\text{mV})$ | $E_{pa}(\text{mV})$ |
|-------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------|---------------------|---------------------|
| | -164.69 | 140.27 | 0.851 | -943 | -699 |
| | -138.9 | 132.57 | 0.954 | -1009 | -647 |

4.1.3.IX. تأثير المذيب:

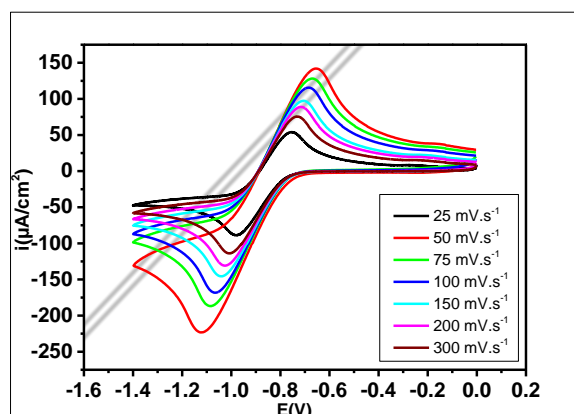
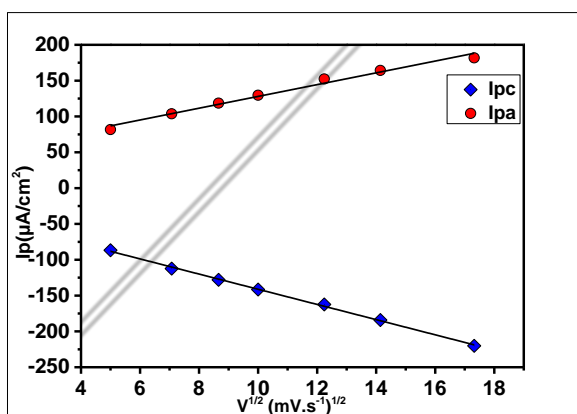
من الملاحظ في الجدول 5.IX. انه لكل مذيب خصائص تتحكم في كمونات الاكسدة و الارجاع، كما تتحكم في قيم التيار، فمثلا كمون ارجاع الاكسجين في (DMSO) هو -1.125 mV و في (DMF) هو -943 mV اما قيمتها في الاستونتريل فهي -800 mV، كما يلاحظ أيضا تباين كمون الاكسدة للمذيبات الثلاثة.

الجدول 5.IX. تأثير نوع المذيب على كمونات الاكسدة و الارجاع للنظام (O_2/O_2^-) .

| المذيب | Epc(mV) | Epa(mV) |
|-----------|---------|---------|
| DMF | -943 | -699 |
| DMSO | -1.125 | -1.19 |
| [54] MeCN | -800 | -650 |

5.1.3.IX. تأثير سرعة المسح:

تمت دراسة تأثير سرعة مسح الجهد على النظام (O_2/O_2^-) ، حيث تم رسم عدة منحنيات فولتامترية لسرعات مختلفة تراوحت بين $25 \rightarrow 300 \text{ mV.s}^{-1}$.



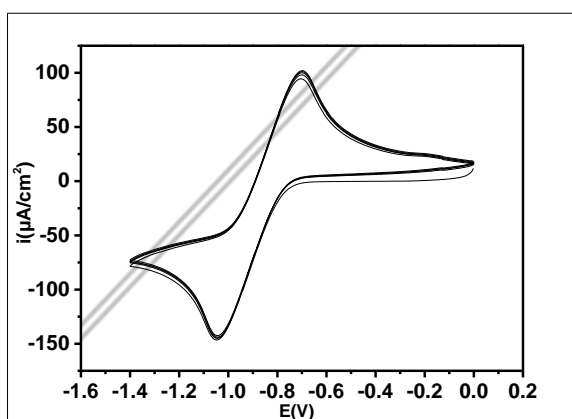
الشكل 9.IX. المنحنى الفولتامترى الحلقى للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF)، الألكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6) ، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $25 \rightarrow 300 \text{ mV.s}^{-1}$ ، درجة الحرارة 25°C .

الشكل 10.IX. منحنى العلاقة بين سرعة المسح و قيم التيار المصعدي و المهبطي للنظام (O_2/O_2^-)

نلاحظ في الشكل 9.IX و الشكل 10.IX. أن هناك زيادة للتيار المصعدي و المهبطي مع زيادة سرعة المسح وفق علاقات خطية هي $(I_{pa} = 8.223 V^{\frac{1}{2}} + 45.757)$ و $(I_{pc} = -10.595 V^{\frac{1}{2}} - 35.231)$ بمعاملات ارتباط $(R^2 = 0.985)$ و $(R^2 = 0.999)$ على التوالي مما يدل على أن عملية الاكسدة و الارجاع هي انتقال للشحنة فقط.

6.1.3.IX. أستقرارية النظام (O_2/O_2^-) :

تم اجراء عملية مسح خمس مرات متتالية للنظام (O_2/O_2^-) على مجال الدراسة و بنفس الشروط الشكل 11.IX. حيث لاحظنا المحافظة على نفس قيم النتوء المصعدي (I_{pa}) و كذا المهبطي (I_{pc}) و هذا دليل على استقرارية النظام، كما تم حساب النسبة (I_{pc}/I_{pa}) و التي وجدت انها تقارب الوحدة و هو مؤشر على ان النظام عكوس بالكترون واحد.



الشكل 11.IX. المنحنى الفولتامترى الحلقي لخمس حلقات متتالية للنظام (O_2/O_2^-) في مذيب (DMF) يحوي $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6) ، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

7.1.3.IX. تأثير السكريات على النظام (O_2/O_2^-) :

من خلال المنحنيات الفولتامترية المتحصل عليها لاحظنا أنه لا يوجد هناك تأثير واضح لإضافة الفركتوز للنظام (O_2/O_2^-) ، و هذا يعني أن السكريات ليس لديها أثر مضادة للاكسدة في الشروط التجريبية التي عملنا عليها، و هذه النتيجة تعتبر مشجعة بالنسبة للمواد التي ندرسها و هي مواد تحتوي في أغلبها على نسبة كبيرة من السكريات مثل العسل و حبوب اللقاح، كما تساعد على دراسة مواد غذائية اخرى دون اللجوء الى عمليات الاستخلاص المعقدة لتحديد السكريات.

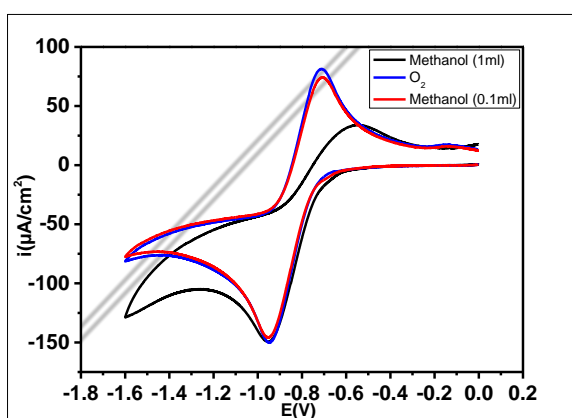
و هو ما توصلت اليه أيضا الباحثة (*J.Sia*) في دراستها للسكريات التجارية التي أثبتت أن السكريات المعالجة ليس لها فعالية مضادة للأكسدة، بعكس السكر الخام النباتي الذي له فعالية مضادة للأكسدة ناتجة عن ما يحتويه من مركبات أخرى مثل الفيتامينات و متعددات الفينول [55].

نتائجنا أعلاه جاءت بعكس ما ذهبت اليه الباحثة (*E.I.Korotkova*) أن هناك تأثير بسيط جدا علي تيار أكسدة ايون فوق أكسيد مما يعطي انطباع بأن للسكريات فعالية مضادة للأكسدة لكنها ضعيفة، هذه النتيجة ليست شاذة، لأنها جاءت وفق شروطها التجريبية، لكن الباحثة لم تعطي آلية واضحة لهذا التأثير [38].

كما جاءت نتائجنا متوافقة مع الطرق الطيفية التي تعتبر بأن السكريات مواد ليس لها فعالية مضادة للأكسدة.

8.1.3.IX. تأثير الميثانول على النظام (O_2/O_2^-):

يعتبر الميثانول من أهم المذيبات العضوية التي يُعتمد عليها خلال تجارب التقدير الكمي للمركبات الفينولية و فعاليتها المضادة للأكسدة اذ غالبا ما تذاب المادة المدروسة سواء كانت مركبا او خليط من المركبات كالمستخلصات في الميثانول. من أجل استعمال الميثانول كمذيب للمركبات القياسية و للمستخلصات درسنا تأثير وجود الميثانول على النظام (O_2/O_2^-).



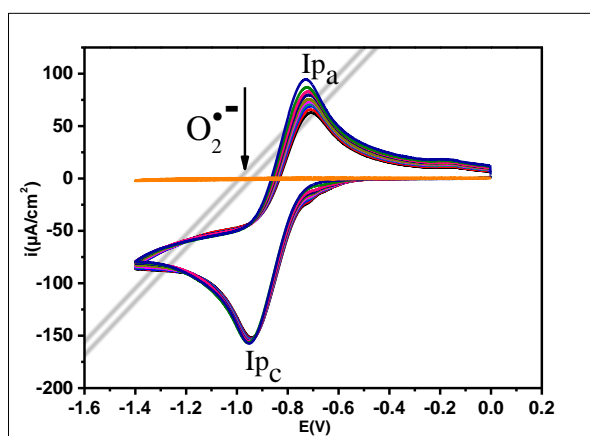
الشكل 12.IX. المنحنى فولتامترى الحلقي للنظام (O_2/O_2^-) في وجود الميثانول، في مذيب (*DMF*) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

من الواضح في الشكل 12.IX. أن هناك تأثير كبير للميثانول على النظام (O_2/O_2^-) حيث نقص التيار المصعدي بأكثر من 6% عند إضافة (0.1ml) من الميثانول كما نقص بأكثر من 50% عند إضافة

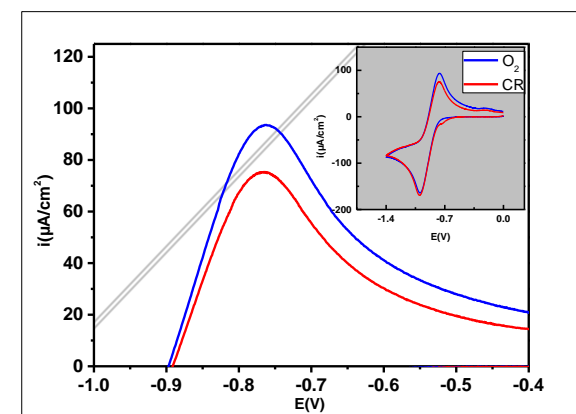
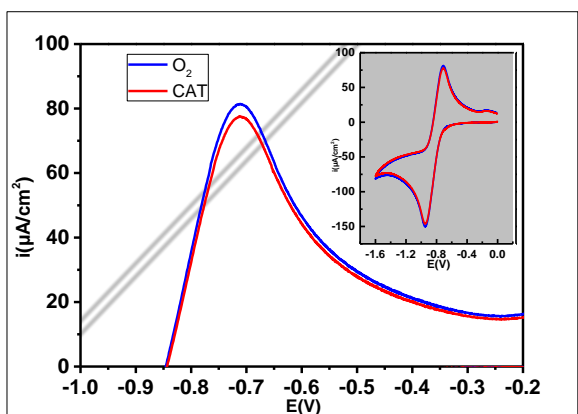
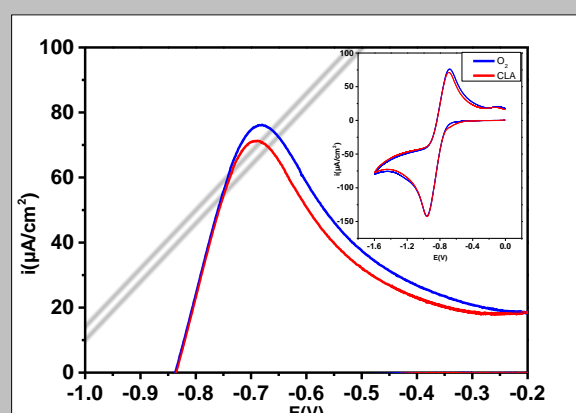
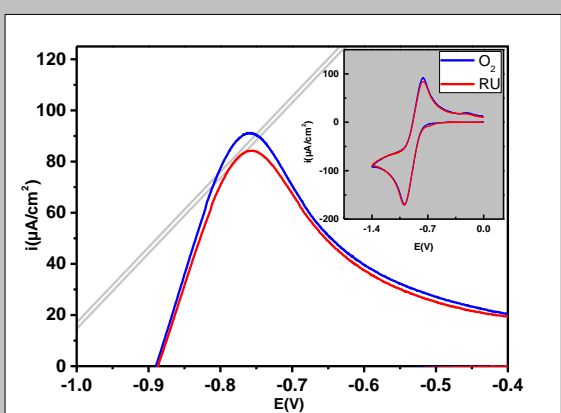
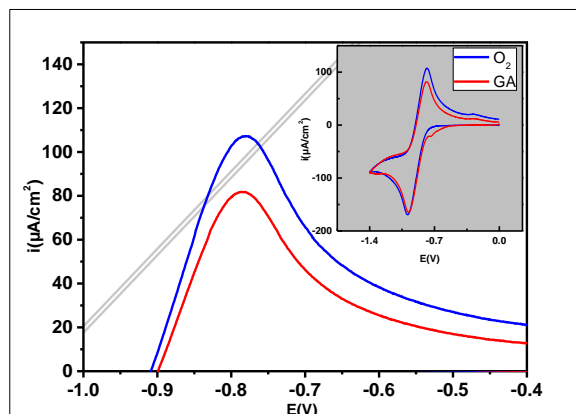
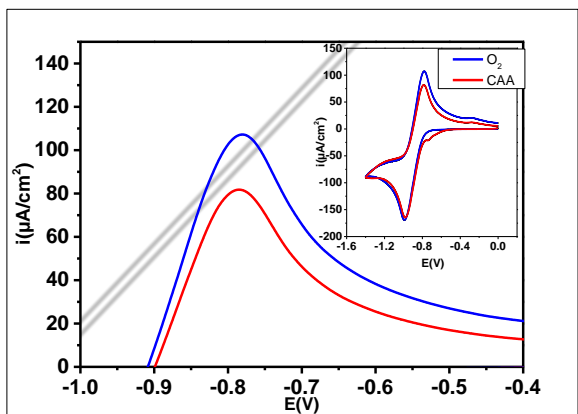
(1ml) و هذه النتيجة تلزمنا إستعمال (DMF) كمذيب للعينات المدروسة و هو نفس المذيب التي تحويه الخلية الكهروكيميائية.

2.3.IX. النظام ($O_2/O_2^{\cdot-}$) في وجود المركبات الفينولية:

في الشكل 13.IX. المنحنى الفولتامترى للنظام ($O_2/O_2^{\cdot-}$) في وجود مركب فينولي يبين تناقص تيار الاكسدة (I_{pa}) عند الاضافات المتتالية للمركب، حيث أنه كلما زاد تركيز المركب الفينولي في الوسط نقص جذر الأوكسجين ($O_2^{\cdot-}$) الذي يتم أكسدته الى (O_2)، كما يلاحظ أن تيار الارجاع (I_{pc}) يبقى ثابت، أي لا يحدث له تغيير، و هو نتاج ثبات كمية الأوكسجين (O_2) الذي يتم ارجاعه الى جذر الاكسجين ($O_2^{\cdot-}$). يمكن أستنتاج من التفسير السابق أن جذر الأوكسجين ($O_2^{\cdot-}$) المتولد يتم إقتناصه من طرف المركب الفينولي.



الشكل 13.IX. المنحنى الفولتامترى الحلقى للنظام ($O_2/O_2^{\cdot-}$) في وجود اضافات (0.1→1ml) من حمض الغاليك، في مذيب (DMF) يحوي على 0.1M من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة 25°C .

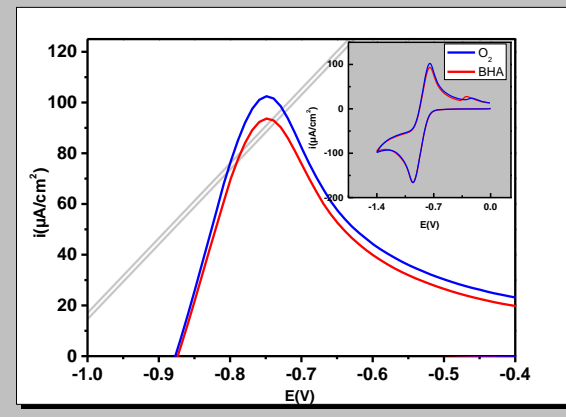
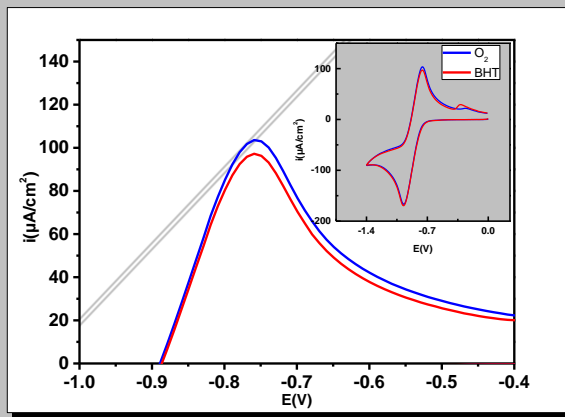
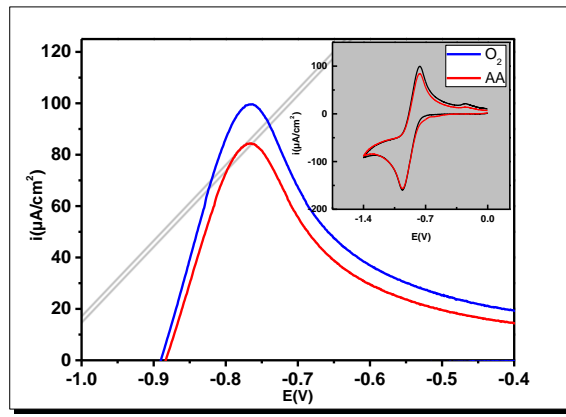
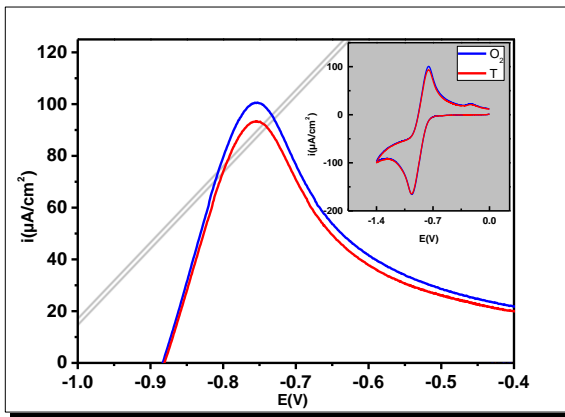


الشكل 14.IX. المنحنيات الفولتامترية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود المركبات الفينولية، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ، درجة الحرارة 25°C .

ملاحظة أولية على المنحنيات الفولتامترية في الشكل 14.IX. يظهر أنه يوجد إختلاف و تباين بين الفرق في تيار الاكسدة لكل مركب، حيث يرتبط هذا الفرق بتركيز او نسبة الاكسجين المستهلك و التي من خلالها يمكن تحديد القدرة المضادة للأكسدة حسابيا.

3.3.IX. مضادات الاكسدة الشائعة صناعيا:

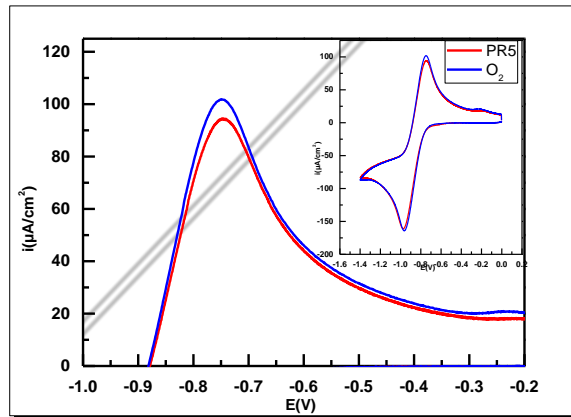
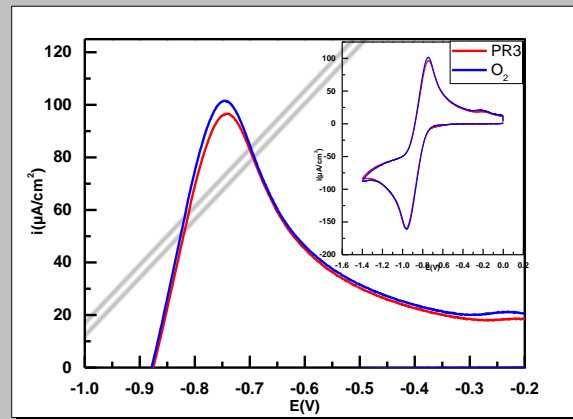
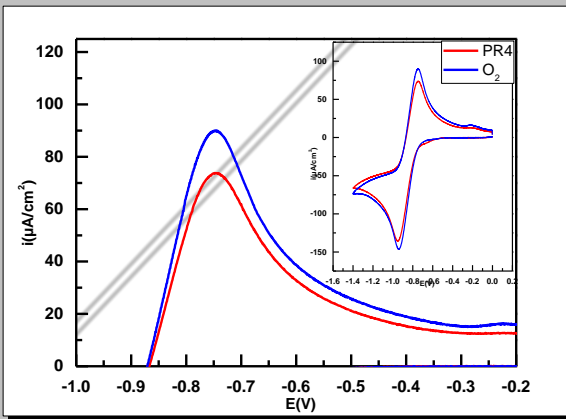
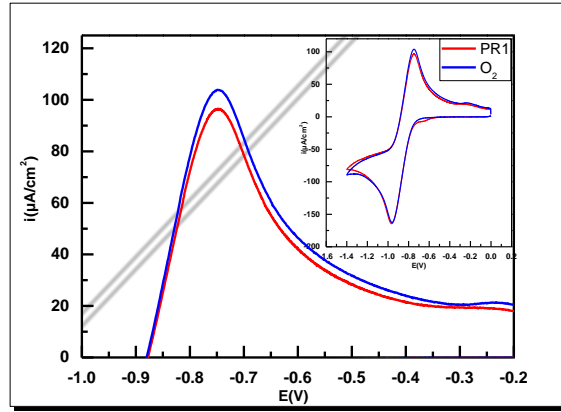
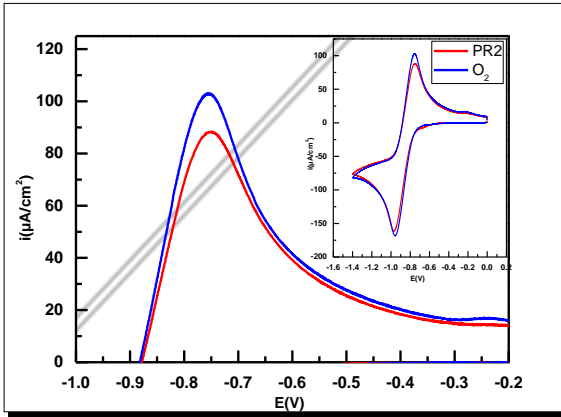
يمثل الشكل 15.IX المنحنيات الفولتامترية لمضادات الاكسدة الاكثر شيوعا في الصناعة و هي حمض الاسكوربيك المعروف بـ (Vitamin C) و α -توكوفيرول (α -Tocopherol) المعروف بـ (Vitamin E) و (BHA) و (BHT).



الشكل 15.IX. المنحنيات الفولتامترية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود المضادات الاكسدة الاكثر شيوعا في الصناعة ، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $100 mV.s^{-1}$ ، درجة الحرارة $25^\circ C$.

4.3.IX. المنحنيات الفولتامترية لعينات البروبوليس:

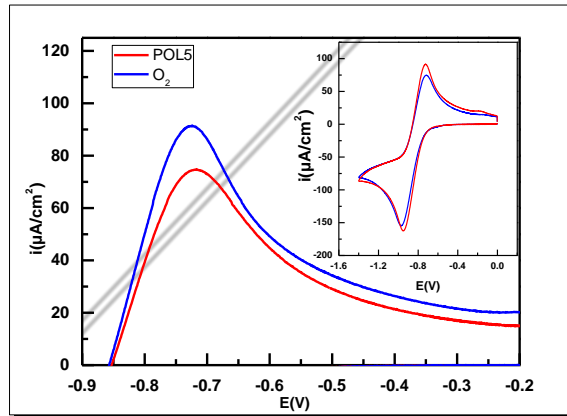
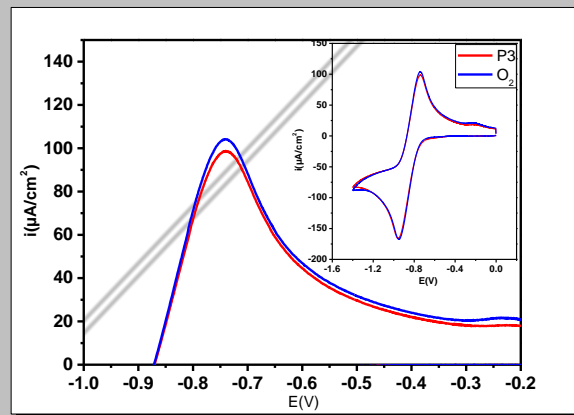
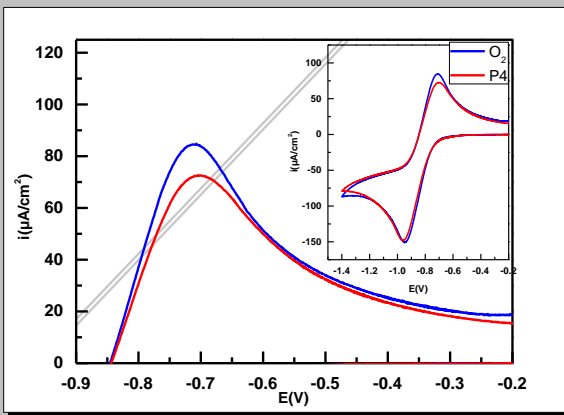
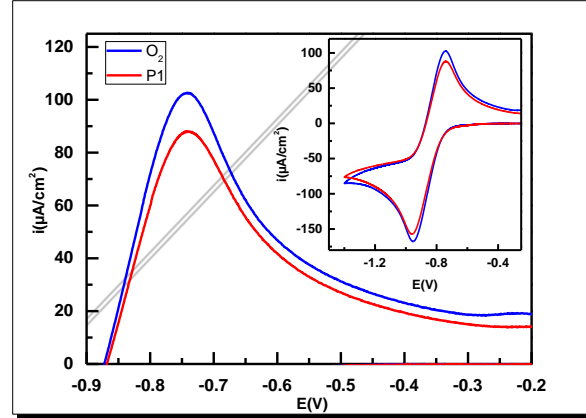
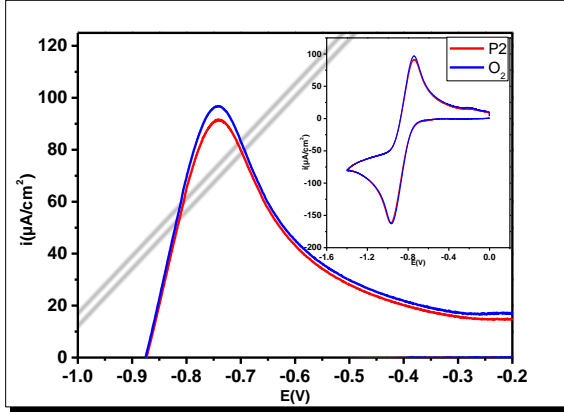
المنحنيات التالية في الشكل **16.IX**. توضح سلوك النظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات البروبوليس و هي المستخلصات التي تم إذابتها في (DMF) و إختبارها بمقدرتها على إستهلاك جذر الفوق أكسيد (O_2^-)، كما هو واضح هناك فروق في مقدرة كل مستخلص على استهلاك الجذور يعكسه الفرق في التيار المصعدي.



الشكل 16.IX. المنحنيات الفولتامترية الحلقية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات للبروبوليس، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الالكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6) ، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$.

5.3.IX. المنحنيات الفولتامترية لعينات حبوب اللقاح:

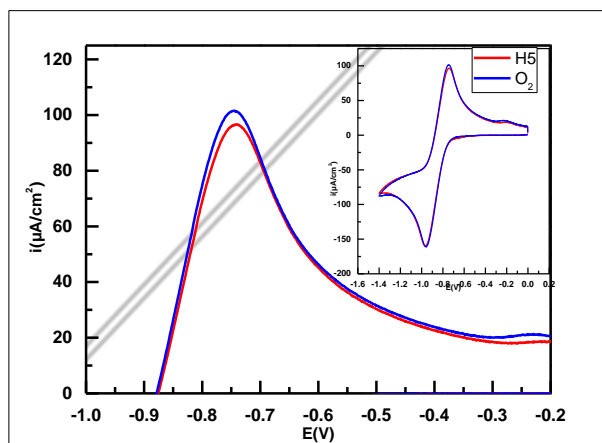
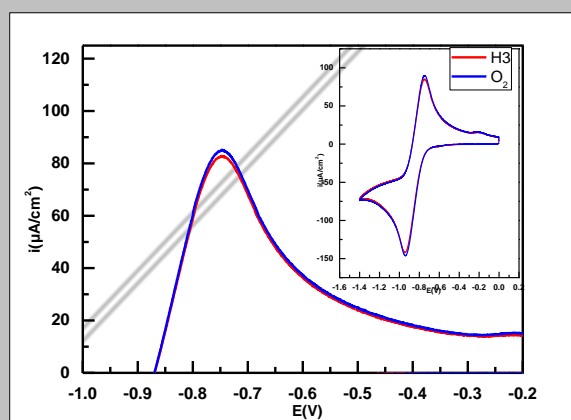
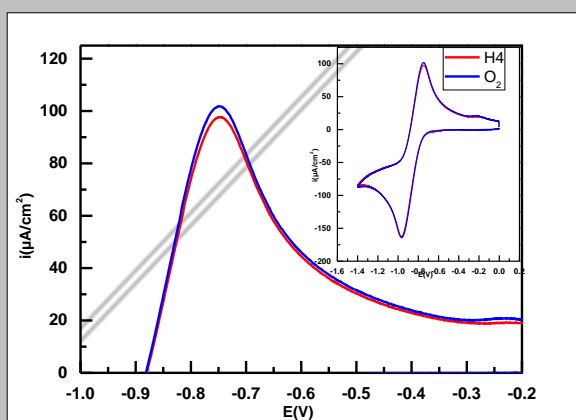
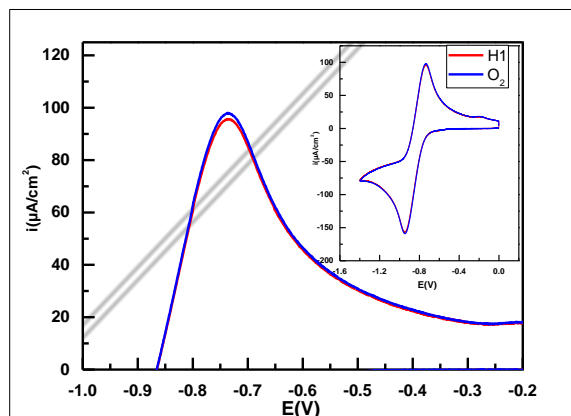
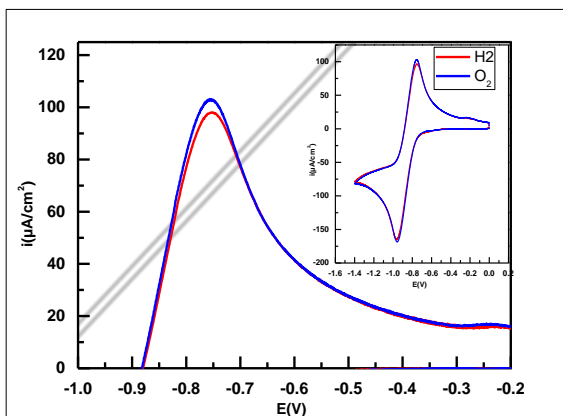
المنحنيات التالية في الشكل **17.IX**. توضح سلوك النظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات حبوب اللقاح، كما هو واضح هناك فروق في مقدرة كل مستخلص على استهلاك الجذور يعكسه الفرق في التيار المصعدي يمكن إستخلاص نتيجة اولية قبل إجراء الحسابات.



الشكل 17.IX. المنحنيات الفولتامترية الحلقية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات حبوب اللقاح، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الاكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح 100 mV.s^{-1} ، درجة الحرارة $25^\circ C$.

6.3.IX. المنحنيات الفولتامترية لعينات العسل:

المنحنيات التالية في الشكل **18.IX**. توضح سلوك النظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات العسل ، كما هو واضح أيضا هناك فروق في مقدرة كل مستخلص على استهلاك الجذور يعكسه الفرق في التيار المصعدي و الفروق هنا ضعيفة يمكننا أن نستنتج منها أن مقدرة العسل على تثبيط أقل من البروبوليس و حبوب اللقاح.



الشكل 18.IX. المنحنيات الفولتامترية الحلقية للنظام (O_2/O_2^-) في وجود عينات للعسل، في مذيب (DMF) يحوي على $0.1M$ من الألكتروليت المساعد (Bu_4NPF_6)، مسرى العمل هو الكربون الزجاجي، سرعة المسح $100\text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ، درجة الحرارة 25°C .

7.3.IX. طريقة حساب إجمالي قدرة مضادة للأكسدة من خلال المنحنيات الفولتامترية الحلقية:

قيمة تيار القمة لأكسدة جذر الأكسجين الحر (O_2^-) المحسوب انطلاقاً من المنحنى الفولتامترى بالشكل 2.IX. هو (ip_{O_2})، هذا التيار يمكننا إعتباره التيار المتعلق بمضاد للأكسدة إجمالي القدرة المضادة للأكسدة له معدومة.

التيار الناتج في الحالة التي تكون فيها الخلية مشبعة بالازوت يمكننا إعتباره التيار الناتج عن مضاد للأكسدة يملك إجمالي قدرة مضادة للأكسدة كبيرة، و المساوي لـ (ip_{N_2}) و هو أيضا التيار المتبقي في غياب الأكسجين. الشكل 3.IX.

بالاعتماد على قيم التيار السابقة يمكننا تحديد مجال سلم إجمالي قدرة مضادة للأكسدة المرتبطة بأكتساح جذر الاكسجين الحر، وفق العلاقة التالية :

$$\frac{ip_{O_2} - ip_{as}}{ip_{O_2} - ip_{N_2}} \times 100 \quad (1)$$

حيث

ip_{O_2} : تيار الأكسدة لجذر الأكسجين الحر في غياب مضاد الأكسدة.

ip_{as} : تيار الأكسدة لجذر الأكسجين الحر في وجود مضاد الأكسدة.

ip_{N_2} : التيار المتبقي في غياب الأكسجين.

وحدة القيم المتحصل عليها هي (TAC (Total Antioxydant Capacity

بتعويض مختلف قيم تيارات القمة المتحصل عليها من منحنيات الفولتامترى في الشكلين 2.IX

و الشكل 3.IX ، نحصل على:

$$\frac{140.27 - ip_{as}}{140.27 - 1.22} \times 100 = \frac{140.27 - ip_{as}}{139.05} \times 100 \quad (2)$$

مبدأ السلم نحصل عليه انطلاقاً من المعادلة 2 إذا عوضنا تيار الأكسدة لجذر الأكسجين بالقيمة

140.27 $\mu A/cm^2$ ، كما هو مبين فيمالي :

$$\frac{140.27 - ip_{as}}{139.05} \times 100 = \frac{140.27 - 140.27}{139.05} \times 100 = 0$$

أما منتهى السلم فهي النقطة المتعلقة بأقوى مادة مضادة للأكسدة حيث يكون فيها تركيز جذر الأكسجين الحر أقل ما يمكن في الخلية، هذا التركيز متعلق بتيار الأكسدة المساوي لـ $1.22 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ، بتعويض هذا التيار في المعادلة 2 نحصل على مايلي:

$$\frac{140.27 - i_{pa}}{139.05} \times 100 = \frac{140.27 - 1.22}{139.05} \times 100 = 100 \text{ TAC}$$

تم تقسيم السلم الى أربعة أقسام:

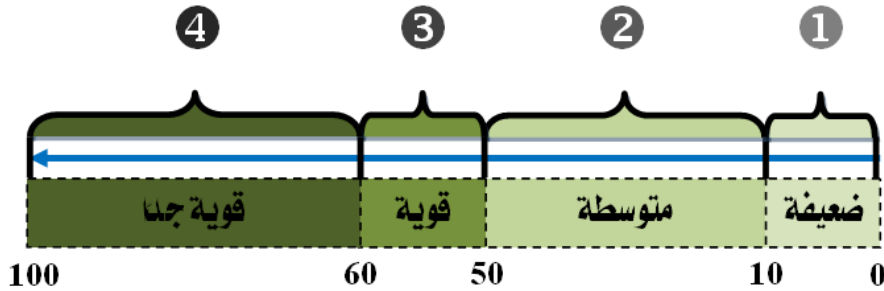
1. قسم المواد ذات القدرة المضادة للأكسدة الضعيفة [0، 10].

2. قسم المواد ذات القدرة المضادة للأكسدة المتوسطة [10، 50].

3. قسم المواد ذات القدرة المضادة للأكسدة القوية [50، 60].

4. قسم المواد ذات القدرة المضادة للأكسدة القوية جدا [60، 100].

في هذا السلم كما هو مبين في الشكل 19.IX. نستطيع ترتيب أي مادة او مركب له قدرة مضادة للأكسدة.



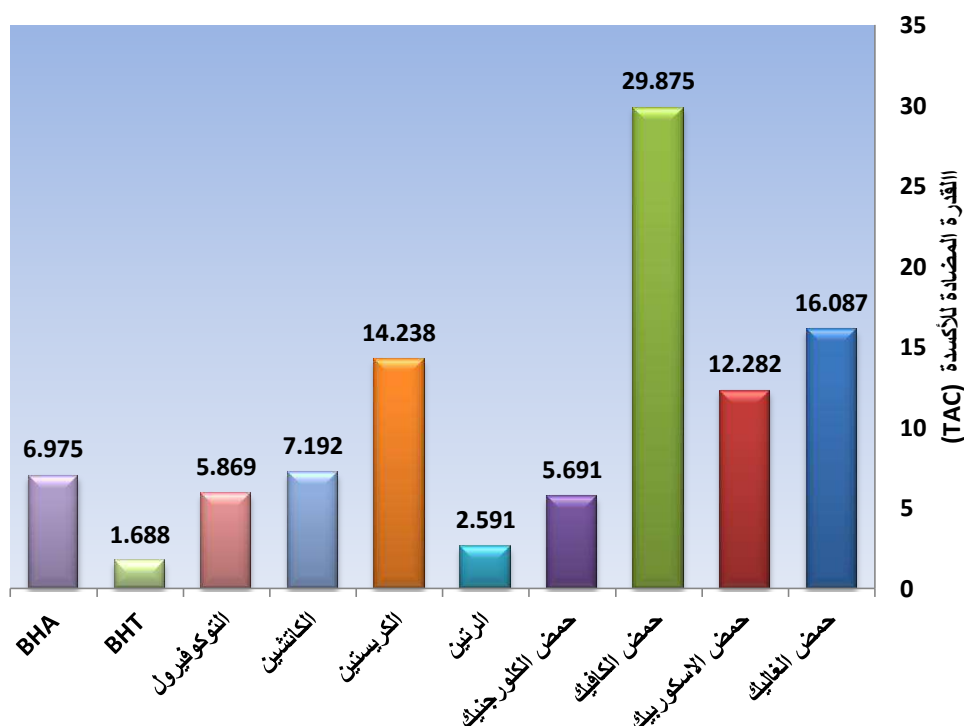
الشكل 19.IX. سلم القدرة المضادة للأكسدة المقدره بالطريقة الكهروكيميائية

على سبيل المثال لو أن لدينا مادة أنقصت تيار الأكسدة لجذر الأكسجين الحر من 140.27 الى i_{pas} $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ ، تحسب إجمالي القدرة المضادة للأكسدة لها إنطلاقا من المعادلة 2^[56] ، كمايلي:

$$\frac{140.27 - i_{pas}}{139.05} \times 100 = X \text{ TAC}$$

بالاعتماد على العلاقات أعلاه يمكننا حساب و استخراج النتائج التالية.

1.7.3.IX. القدرة المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية:



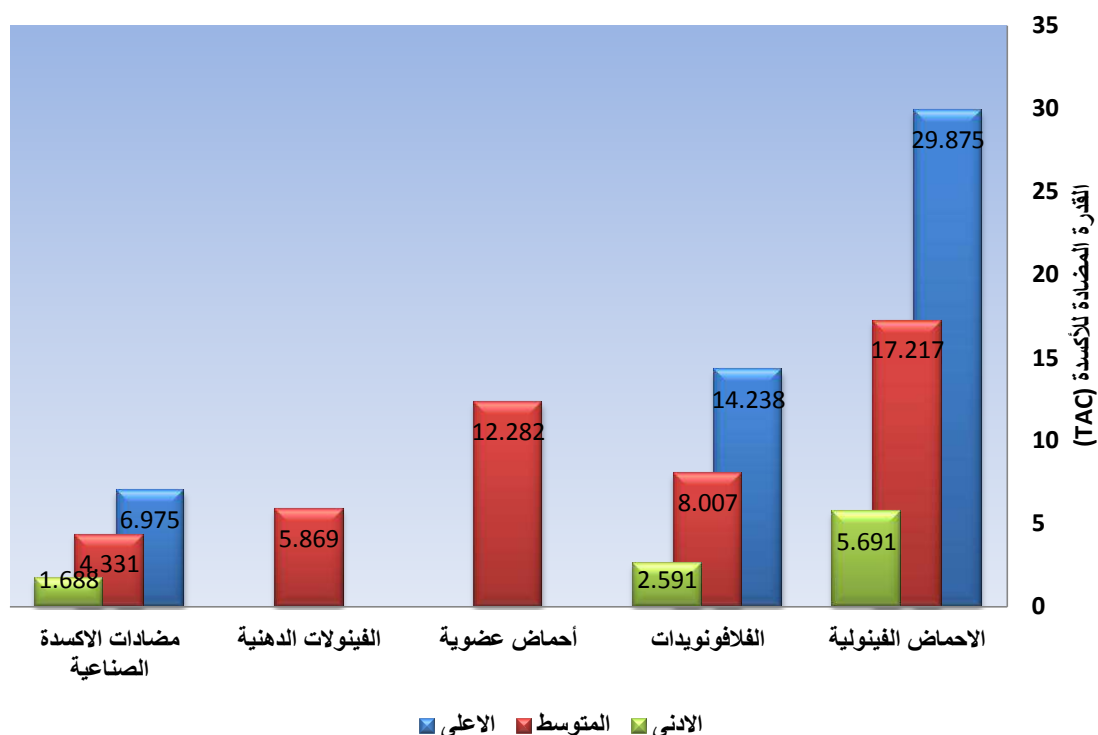
الشكل 20.IX. القدرة المضادة للأكسدة (TAC) للمركبات الفينولية بواسطة الطريقة الكهروكيميائية

من الشكل 20.IX. يمكننا ترتيب المركبات الفينولية و مضادات الاكسدة الطبيعية و الصناعية وفق مايلي:

حمض الكافيك < حمض الغاليك < الكريستين < حمض الاسكوربيك < الكاتشين < BHA < التوكوفيرول < حمض الكلورجنيك < الرتين < BHA .

كما يمكن تصنيف هذه المركبات وفق سلم القدرة المضادة للأكسدة كمايلي:

- مواد مضادة للأكسدة ضعيفة و هي الكاتشين، BHA ، التوكوفيرول، حمض الكلورجنيك، الرتين، BHA .
- مواد مضادة للأكسدة متوسطة و هي حمض الكافيك، حمض الغاليك، الكريستين، حمض الاسكوربيك.



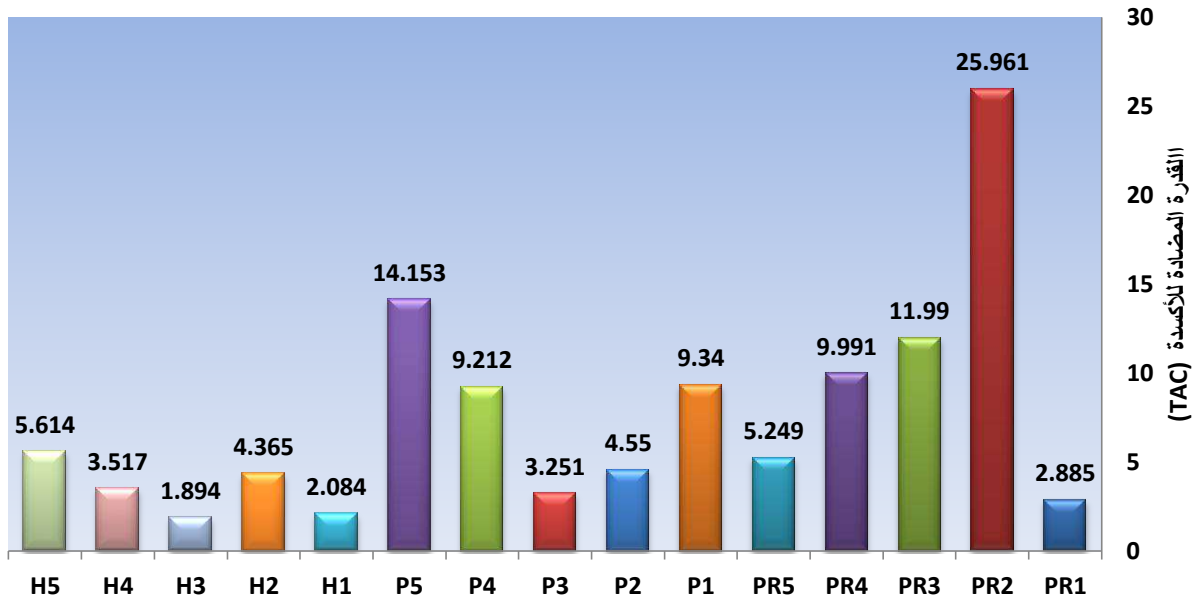
الشكل 21.IX. التمثيل البياني لقدرة المضادة للأكسدة حسب صنف المركبات

و يمكن أيضا تصنيف المركبات حسب طبيعتها أو العائلة التي تنتمي إليها كالأحماض الفينولية و الفلافونويدات و مضادات أكسدة صناعية، و ترتيبها وفق قدرتها المضادة للأكسدة و ذلك بأخذ متوسط القدرة المضادة للأكسدة للمجموعة مثل ما هو موضح في الشكل 21.IX. فيكون الترتيب كمايلي:

الاحماض الفينولية < أحماض عضوية < الفلافونويدات < الفينولات الدهنية < مضادات الاكسدة الصناعية.

2.7.3.IX. القدرة المضادة للأكسدة للعينات:

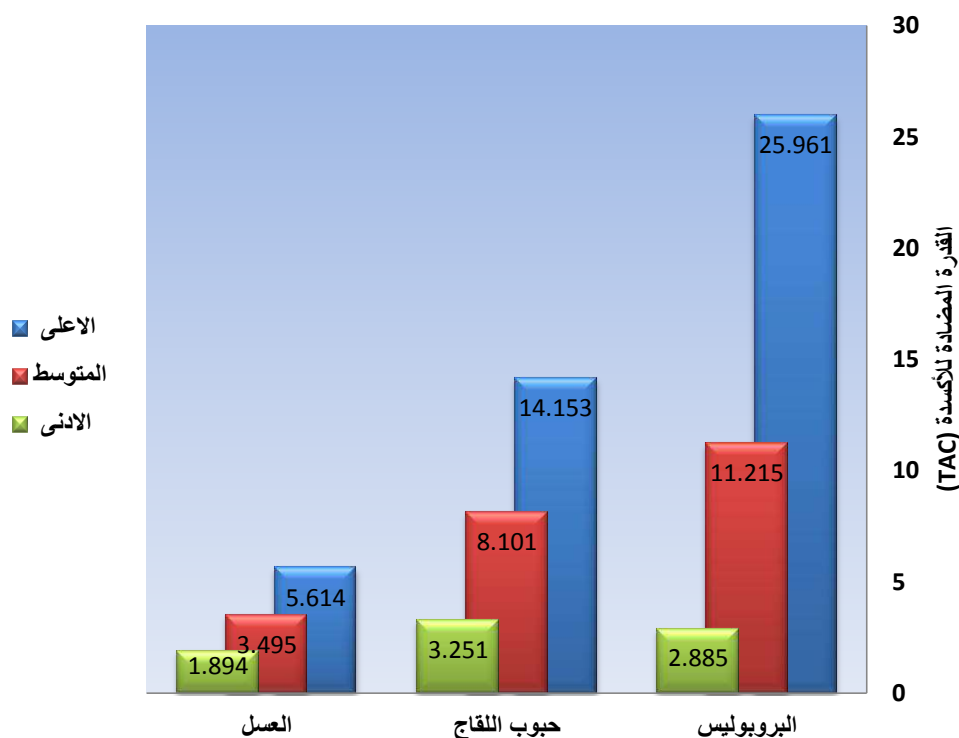
من خلال الشكل 22.IX. من الواضح أن هناك تباين في النتائج المتحصل عليها، هذا التباين راجع لعدة عوامل، يمكننا وفقا لهذه العوامل مناقشه هاته النتائج.



الشكل IX.22. القدرة المضادة للأكسدة (TAC) لمنتجات النحل بواسطة الطريقة الكهروكيميائية

نوع المنتج: يمكننا أن نلاحظ أن هناك فارق معتبر بين القدرة المضادة للأكسدة للبروبوليس و حبوب اللقاح و العسل، حيث يمكننا ترتيبهم وفق التالي:

البروبوليس < حبوب اللقاح < العسل

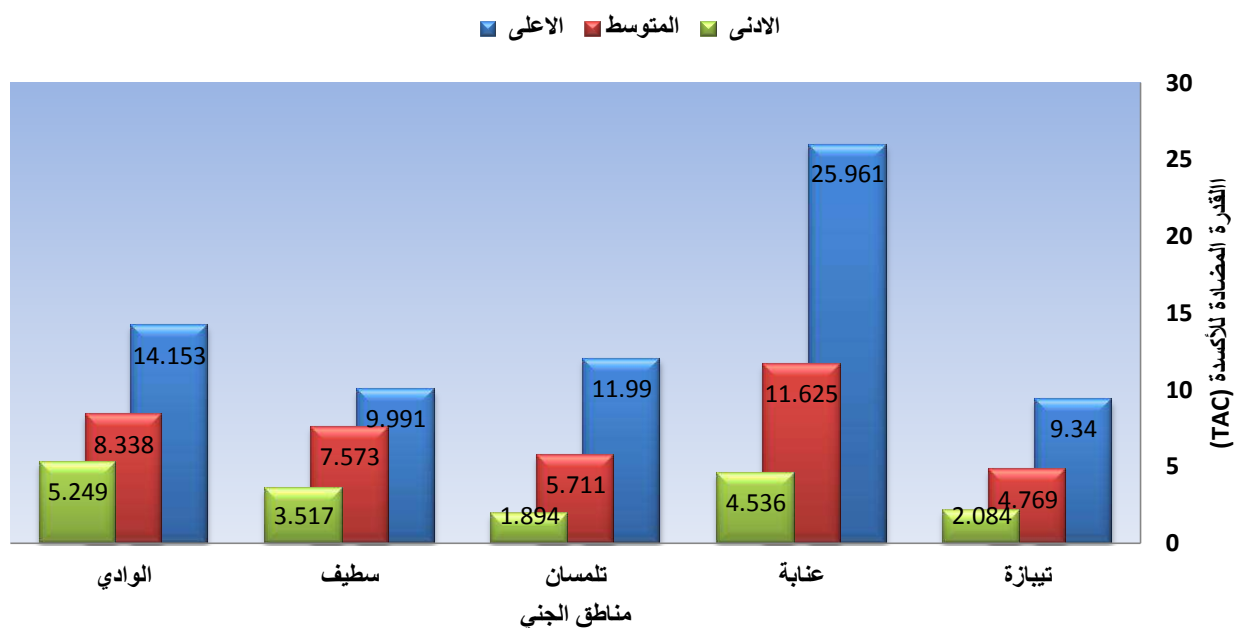


الشكل 23.IX. تقسيم القدرة المضادة للأكسدة لمنتجات النحل وقيمها الدنيا و العليا

الشكل 23.IX. يظهر أن كل منتج يتميز بقيم محصورة بين قيم دنيا و عليا تتمايز عن المنتج الآخر فمثلا القدرة المضادة للأكسدة للبروبوليس محصورة بين [25.961-2.885] و هي قيم أكبر نسبيا من قيم القدرة لحبوب اللقاح و العسل المحصورة على التوالي بين [14.153-3.251] و [5.614-1.894].

و هذه النتائج تتوافق مع نتائج دراسات أخرى^[57]، النتائج أعلاه يمكننا تفسيرها بعد الرجوع الى النتائج السابقة للتحاليل الفيزيوكيميائية أي المكونات و الخصائص لكل منتج، حيث أن أغلب مكونات البروبوليس هي مواد فعالة فينولات و فلافونويدات والتي بدورها تمتلك قدرة مضادة للأكسدة حسب كميتها و نوعيتها، أما حبوب اللقاح فهو منتج أغلب مكوناته بروتينات و كمية الفينولات به أقل من البروبوليس، كذلك العسل فأغلب مكوناته سكريات و نسبة الفينولات به أقل من حبوب اللقاح.

منطقة الجني: من الصعب علينا ترتيب القدرة المضادة للأكسدة لمنتجات كل منطقة مع المناطق الأخرى لوجود تفاوت و فروقات بين منتجات المنطقة الواحدة، مع ذلك يمكننا اقتراح متوسط القدرة المضادة للأكسدة لمنتجات كل منطقة لترتيبها و مقارنتها مع المناطق الأخرى كما هو موضح في الشكل 24.IX.



الشكل 24.IX. مقارنة القدرة المضادة للأكسدة (TAC) حسب مناطق الجني

انطلاقاً من الشكل 24.IX. يمكننا ترتيب القدرة المضادة لمنتجات كل منطقة حسب المتوسط وفق مايلي:

عنابة < الوادي < سطيف < تلمسان < تيبازة

يمكننا تفسير النتائج أعلاه بطبيعة كل منطقة و غطائها النباتي، فلكل منطقة خصائص تم التطرق إليها في الفصل الثاني من هاته الدراسة، هذه الخصائص يمكنها أن تزيد في حيوية النحل و مردوديته أو تكون عامل سلبي

فمثلاً لو أخذنا القدرة المضادة للأكسدة لمنطقة الوادي نجدها أعلى من كل من تيبازة و تلمسان و سطيف و ذلك راجع الى فعالية حبوب اللقاح، حيث يغلب عليها حبوب لقاح النحل و النباتات الصحراوية الغنية بالمواد الفعالة.

4.IX. مقارنة القدرة المضادة للأكسدة للمركبات القياسية و العينات المدروسة:

هناك عدة طرق لمقارنة النتائج المتحصل عليها خلال الاختبارات القدرة المضادة للأكسدة أغلبها تعتمد على طرق احصائية متعددة المتغيرات.

1.4.IX. حساب مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI):

و هو مؤشر افتراضي نظري مبني على العوامل الاحصائية للطرق المستعملة في تقدير الفعالية او القدرة المضادة للأكسدة اقترحه الباحث (Ting Sun) ، و ذلك بإستخلاص علاقة تربط بين هاته العوامل الاحصائية تعكس ترتيب قدرة المركب أو المستخلص المضادة للأكسدة، حيث يتم إستغلال كل النتائج المتحصل عليها من مختلف الطرق [58]. المميز في هذا المؤشر أنه قيمة رقمية لا يحتاج الى وحدة و لا تطرح نتائج الطرق الاخرى و لا وحداتها اي اشكال، كما أنه مؤشر نسبي لا يمثل طريقة بعينها من طرق التقدير و يعطي رتبة دقيقة الى حد معقول و قد تم تجربته في عدة دراسات و أثبت أنه مؤشر متكامل لتقييم القدرة المضادة للأكسدة للأغذية [59-60].

من الدراسات التي تم فيها استخدام مؤشر القدرة المضادة للأكسدة النسبي دراسات حول منتجات النحل

[61]

$$RACI = \frac{x-\mu}{\sigma}$$

x : قيمة القدرة المضادة للأكسدة.

μ : المتوسط.

σ : الانحراف المعياري.

كأبسط مثال على حساب مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI) نأخذ بعض المركبات الفينولية و المضادة للأكسدة و التي تم إجراء إختبارات القدرة المضادة للأكسدة لها بالطرق الثلاثة السابقة و التي أعطت النتائج المدونة في الجدول 6.IX.

الجدول 6.IX. بيانات حساب مؤشر النشاط المضاد للأوكسدة النسبي (RACI) لبعض مضادات الاكسدة و منتجات النحل.

| The standard score | | | | TAC | MP (mgGAE /g) | ARP* | العينة |
|--------------------|--------|--------|--------|--------|------------------|---------|---------------------|
| RACI | TAC | MP | ARP | | | | |
| -0.554 | -0.833 | -0.347 | -0.482 | 2.885 | 107.9 | 11.252 | PR1 |
| 0.727 | 3.002 | -0.288 | -0.530 | 25.961 | 122.2 | 7.996 | PR2 |
| -0.051 | 0.679 | -0.382 | -0.451 | 11.99 | 99.5 | 13.305 | PR3 |
| -0.065 | 0.347 | -0.256 | -0.287 | 9.991 | 129.83 | 24.283 | PR4 |
| -0.562 | -0.440 | -0.628 | -0.618 | 5.249 | 40.27 | 2.096 | PR5 |
| -0.279 | 0.239 | -0.597 | -0.481 | 9.34 | 47.92 | 11.312 | P1 |
| -0.550 | -0.556 | -0.575 | -0.517 | 4.55 | 53.03 | 8.8765 | P2 |
| -0.630 | -0.772 | -0.615 | -0.503 | 3.251 | 43.36 | 9.832 | P3 |
| -0.269 | 0.218 | -0.557 | -0.467 | 9.212 | 57.52 | 12.217 | P4 |
| -0.031 | 1.039 | -0.603 | -0.528 | 14.153 | 46.38 | 8.137 | P5 |
| -0.765 | -0.966 | -0.681 | -0.649 | 2.084 | 27.59 | 0.020 | H1 |
| -0.646 | -0.587 | -0.701 | -0.649 | 4.365 | 22.89 | 0.025 | H2 |
| -0.769 | -0.998 | -0.661 | -0.649 | 1.894 | 32.51 | 0.019 | H3 |
| -0.688 | -0.728 | -0.688 | -0.649 | 3.517 | 25.99 | 0.022 | H4 |
| -0.581 | -0.379 | -0.713 | -0.649 | 5.614 | 19.83 | 0.0310 | H5 |
| 1.048 | 0.728 | 1.441 | 0.976 | 12.282 | 538.87 | 108.909 | حمض الاسكوريك |
| 2.548 | 1.361 | 3.356 | 2.929 | 16.087 | 1000 | 239.751 | حمض الغاليك |
| 1.417 | 1.053 | 0.974 | 2.224 | 14.238 | 426.34 | 192.492 | الكريستين |
| 0.012 | -0.882 | 0.329 | 0.591 | 2.591 | 271 | 83.105 | الروتين |
| 0.231 | -0.337 | 0.748 | 0.283 | 5.869 | 371.95 | 62.539 | α -توكوفيرول |
| 0.66 | -0.153 | 0.898 | 1.235 | 6.975 | 408.06 | 126.294 | BHA |
| -0.201 | -1.032 | 0.552 | -0.122 | 1.688 | 324.64 | 35.366 | BHT |
| 0.832 | 1 | 1 | 1 | 6.017 | 240.84 | 66.971 | SD** |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 7.899 | 191.71 | 43.54 | Mean*** |

*ARP=1/IC50 ، ** الانحراف المعياري. *** القيمة المتوسطة.

من قيم مؤشر النشاط المضاد للأوكسدة النسبي (RACI) يمكننا أدرج المنحنى البياني لتمثيل القيم و مقارنتها كما هو موضح في الشكل 25.IX.

من الواضح من الشكل IX.25. أن أكبر قيمة لمؤشر النشاط المضاد للأكسدة هي لحمض الغاليك يليه الكريستين، أما أصغر قيمة للمؤشر فهي لـ BHT يليه الروتين، و يمكننا ترتيب المركبات حسب قيمة المؤشر كمايلي:

حمض الغاليك < الكريستين < حمض الاسكوربيك < BHA < α -توكوفيرول < الروتين < BHT

من الواضح أن حمض الغاليك هو أقوى مضاد للأكسدة ضمن المركبات المدروسة، حيث تتفق الاختبارات الثلاثة و مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي على أعطائه أكبر القيم و هذا يتوافق مع الدراسات السابقة [62].

من الواضح ايضا أن أكبر قيمة لـ (RACI) للعينات هي للينة PR2 و هي عينة بروبوليس عنابة فهي أقوى من الروتين و α -توكوفيرول و BHA و BHT.

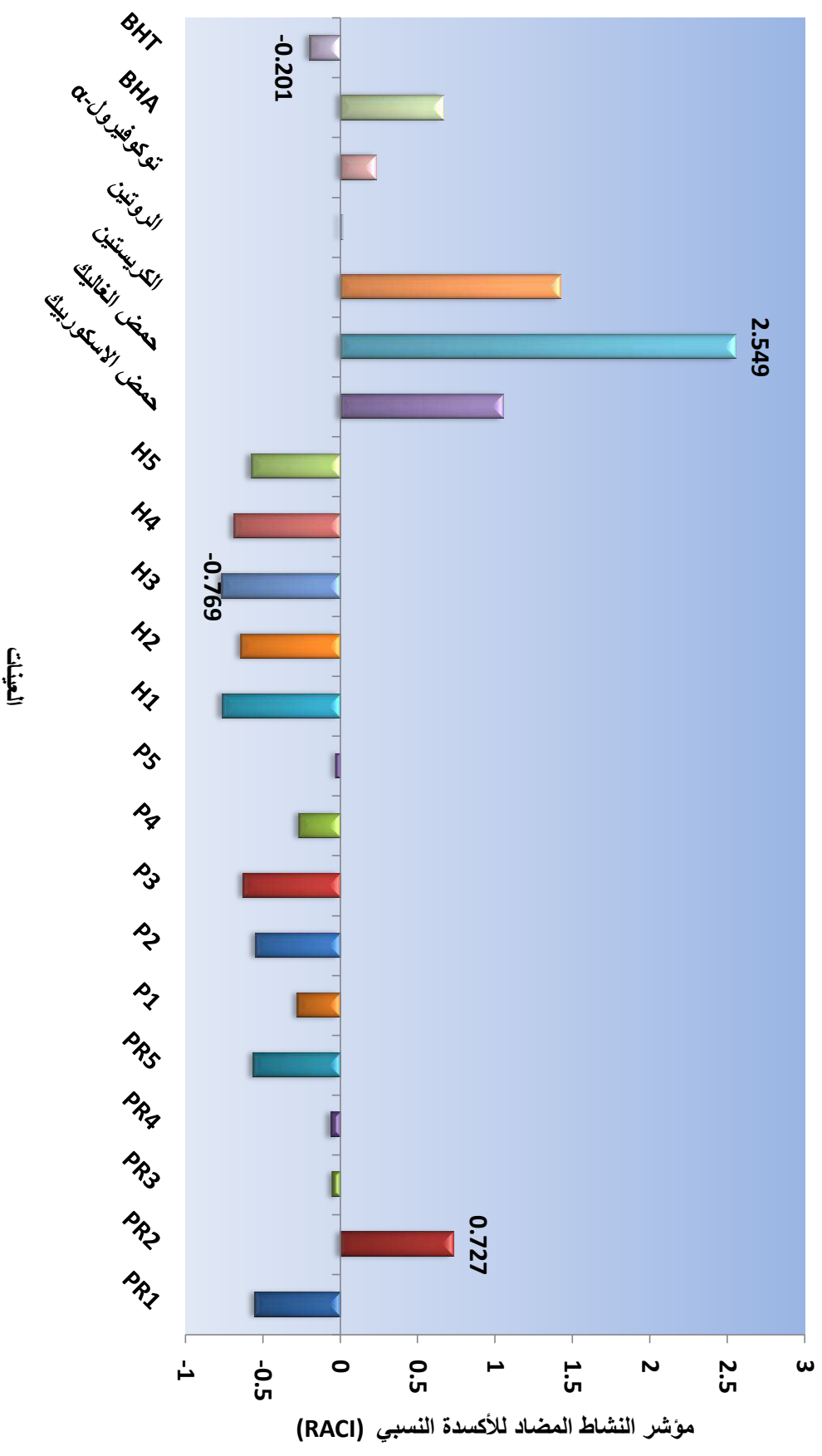
أما أقل قيمة لـ (RACI) فهي للينة H3 تليها H1 بقيم -0.769 و -0.765 على التوالي.

يمكننا ترتيب كل العينات و المركبات التي تم حساب (RACI) لها وفق مايلي:

حمض الغاليك < الكريستين < حمض الاسكوربيك < PR2 < BHA < α -توكوفيرول < الروتين <

H1 < H4 < H2 < P3 < H5 < PR5 < PR1 < P2 < P1 < P4 < BHT < PR4 < PR3 < P5

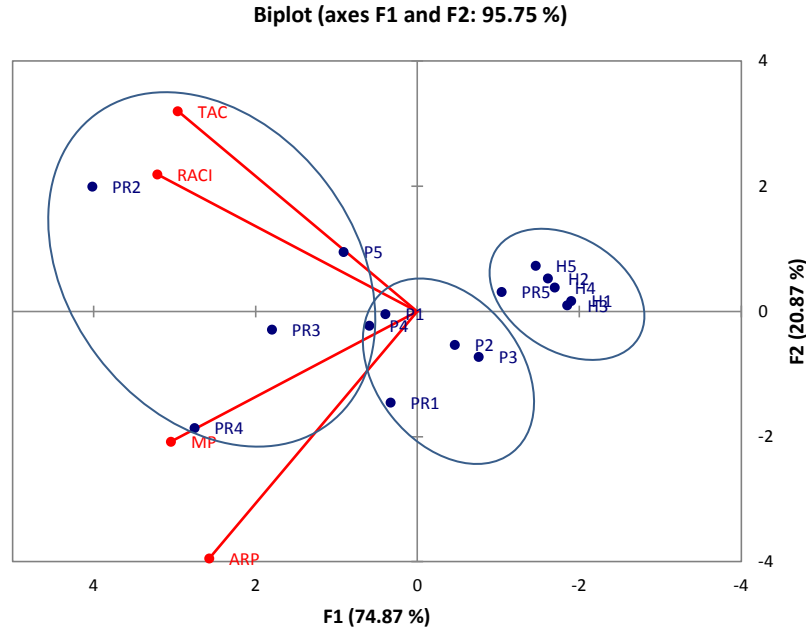
.H3 <



الشكل 25.IX. التمثيل البياني لقيم مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RAI) للمعينات

2.4.IX. طريقة تحليل العنصر الرئيسي (PCA):

تم رسم المخطط (Biplot) الشكل 26.IX. بأخذ إختبارات القدرة المضادة للأكسدة كمتغيرات.



الشكل 26.IX. منحنى تحليل العنصر الرئيسي (PCA) للعينات المدروسة اختبارات القدرة المضادة للأكسدة.

من الواضح أنه يمكن تمثيل المتغيرات وفق معاملين فقط هو $F1(74.87\%)$ و $F2(20.87\%)$ ، حسب منحنى توزيع العينات يمكن تقسيمها الى ثلاث تجمعات كمايلي:

العينات $PR2$ و $PR3$ و $PR4$ و $P5$ و تتميز هاته المجموعة بأنها أكثر المجموعات قوة بالنسبة لقدرتها المضادة للأكسدة، تليها في القوة المجموعة المتكونة من $PR1$ و $P1$ و $P2$ و $P3$ و $P4$ و هي ذات قدرة متوسطة، أما المجموعة الثالثة فهي المجموعة المتكونة $PR5$ و كل عينات العسل.

تتشابه هذه المجموعات و هذا التوزيع مع ما قرر سابقا في الفصل السادس، مما يعطي انطباع بالترابط القوي بين القدرة المضادة للاكسدة و كمية الفينولات في العينات.

الجدول 7.IX. مصفوفة العلاقة الثنائية بين الاختبارات المضادة للأكسدة و المحتوى الفينولي.

| TFC | TPC | RACI | TAC | MP | ARP | |
|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| | | | | | 1 | ARP |
| | | | | 1 | 0.788 | MP |
| | | | 1 | 0.591 | 0.368 | TAC |
| | | 1 | 0.985 | 0.716 | 0.511 | RACI |
| | 1 | 0.561 | 0.492 | 0.682 | 0.478 | TPC |
| 1 | 0.977 | 0.511 | 0.472 | 0.535 | 0.320 | TFC |

من الجدول 9.VI. يتضح أن هناك علاقات ترابط من قوية الى متوسطة بين إختبار (MP) و (DPPH)، و أيضا بين (MP) و الاختبار الكهروكيميائي (TAC). كما يلاحظ أن كل علاقات الارتباط بمؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI) ايجابية حتى مع المحتوى الفينولي و الفلافونويدي، أقوى ترابط هو بين المؤشر (RACI) و اختبار (TAC) الذي بلغ 0.985 و هذا يعنى أن نتائج المؤشر (RACI) أكثر شبيها بنتائج الاختبار الكهروكيميائي للقدرة المضادة للأكسدة.

1. Yashin, Y. I., Nemzer, B. V., Ryzhnev, V. Y., Yashin, A. Y., Chernousova, N. I., & Fedina, P. A. (2010). Creation of a databank for content of antioxidants in food products by an amperometric method. *Molecules*, *15*(10), 7450-7466.
2. Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(10), 4290-4302.
3. Milardović, S., Iveković, D., & Grabarić, B. S. (2006). A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical. *Bioelectrochemistry*, *68*(2), 175-180.
4. Bukman, L., Martins, A. C., Barizão, É. O., Visentainer, J. V., & de Cinque Almeida, V. (2013). DPPH assay adapted to the FIA system for the determination of the antioxidant capacity of wines: optimization of the conditions using the response surface methodology. *Food Analytical Methods*, *6*(5), 1424-1432.
5. Galato, D., Ckless, K., Susin, M. F., Giacomelli, C., Ribeiro-do-Valle, R. M., & Spinelli, A. (2001). Antioxidant capacity of phenolic and related compounds: correlation among electrochemical, visible spectroscopy methods and structure-antioxidant activity. *Redox Report*, *6*(4), 243-250.
6. Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(6), 1841-1856.
7. van den Berg, R., Haenen, G. R., van den Berg, H., & Bast, A. A. L. T. (1999). Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chemistry*, *66*(4), 511-517.
8. Arts, M. J., Dallinga, J. S., Voss, H. P., Haenen, G. R., & Bast, A. (2004). A new approach to assess the total antioxidant capacity using the TEAC assay. *Food Chemistry*, *88*(4), 567-570.
9. Bondet, V., Brand-Williams, W., & Berset, C. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, *30*(6), 609-615.
10. Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., & Mérillon, J. M. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(5), 1768-1774.
11. Zulueta, A., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, *114*(1), 310-316.
12. Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*, *26*(2), 211-219.
13. Tur'yan, Y. I., Gorenbein, P., & Kohen, R. (2004). Theory of the oxygen voltammetric electroreduction process in the presence of an antioxidant for estimation of antioxidant activity. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, *571*(2), 183-188.
14. Blasco, A. J., González, M. C., & Escarpa, A. (2004). Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using

- differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 511(1), 71-81.
15. Bordonaba, J. G., & Terry, L. A. (2012). Electrochemical behaviour of polyphenol rich fruit juices using disposable screen-printed carbon electrodes: Towards a rapid sensor for antioxidant capacity and individual antioxidants. *Talanta*, 90, 38-45.
 16. Wang, J., Musameh, M., & Mo, J. W. (2006). Acid stability of carbon paste enzyme electrodes. *Analytical chemistry*, 78(19), 7044-7047.
 17. Souza, L. P., Calegari, F., Zarbin, A. J., Marcolino-Júnior, L. H., & Bergamini, M. F. (2011). Voltammetric determination of the antioxidant capacity in wine samples using a carbon nanotube modified electrode. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(14), 7620-7625.
 18. Yashin, A. Y., Yashin, Y. I., & Chernousova, N. I. (2006). Definition of natural antioxidants by amperometric method. *PISHCHEVAIA PROMYSHLENNOST'-MOSKVA-AGROPROMIZDAT-*, 2, 10.
 19. Brainina, K. Z., Ivanova, A. V., Sharafutdinova, E. N., Lozovskaya, E. L., & Shkarina, E. I. (2007). Potentiometry as a method of antioxidant activity investigation. *Talanta*, 71(1), 13-18.
 20. Brainina, K. Z., Ivanova, A. V., & Sharafootdinova, E. N. (2004). Potentiometric evaluation of foodstuffs antioxidant activity. *IZVESTIYA-VYSSHIE UCHEBNIYE ZAVEDENIYA PISHCHEVAIA TEKHOLOGIYA*, (4), 73-74.
 21. Brainina, K. Z., Ivanova, A. V., Sharafutdinova, E. N., & Saraeva, S. Y. (2007). Procedure 40 Potentiometric determination of antioxidant activity of food and herbal extracts. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 49, e277-e283.
 22. Kh. Z. Brainina, A.V. Ivanova, Mean of solutions oxidant/antioxidant activity determination, Patent of RF No. 2235998 (Priority date 14/11/2002).
 23. Ziyatdinova, G. K., Budnikov, H. C., & Pogorel'tzev, V. I. (2005). Electrochemical determination of the total antioxidant capacity of human plasma. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 381(8), 1546-1551.
 24. Ziyatdinova, G. K., Budnikov, H. C., Pogorel'tzev, V. I., & Ganeev, T. S. (2006). The application of coulometry for total antioxidant capacity determination of human blood. *Talanta*, 68(3), 800-805.
 25. G. Ziyatdinova, G. K., Voloshin, A. V., Gilmudinov, A. K., Budnikov, H. C., & Ganeev, T. S. (2006). Application of constant-current coulometry for estimation of plasma total antioxidant capacity and its relationship with transition metal contents. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 40(4), 958-963.
 26. V.I. Pogorel'tzev, G.K. Ziyatdinova, H.C. Budnikov, Determination of total antioxidant capacity of Biological fluids, Patent of Russian Federation No. 2,253,114.
 27. 1 Korotkova, E. I., Karbainov, Y. A., & Avramchik, O. A. (2003). Investigation of antioxidant and catalytic properties of some biologically active substances by voltammetry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 375(3), 465-468.
 28. Chevion, S., Roberts, M. A., & Chevion, M. (2000). The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity. *Free Radical Biology and Medicine*, 28(6), 860-870.

29. Kohen, R. (1999). Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress—new approaches for their evaluation. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 53(4), 181-192.
30. SHOHAMI, E., GATI, I., BEIT-YANNAL, E. L. I. E., TREMBOVLER, V., & KOHEN, R. (1999). Closed head injury in the rat induces whole body oxidative stress: overall reducing antioxidant profile. *Journal of neurotrauma*, 16(5), 365-376.
31. CHEVION, S., CHEVION, M., Chock, P. B., & BEECHER, G. R. (1999). Antioxidant capacity of edible plants: Extraction protocol and direct evaluation by cyclic voltammetry. *Journal of medicinal food*, 2(1), 1-10.
32. Santos Raymundo, M., da Silva Paula, M. M., Franco, C., & Fett, R. (2007). Quantitative determination of the phenolic antioxidants using voltammetric techniques. *LWT-Food Science and Technology*, 40(7), 1133-1139.
33. Kilmartin, P. A., & Hsu, C. F. (2003). Characterisation of polyphenols in green, oolong, and black teas, and in coffee, using cyclic voltammetry. *Food Chemistry*, 82(4), 501-512.
34. Sun-Waterhouse, D., Smith, B. G., O'Connor, C. J., & Melton, L. D. (2008). Effect of raw and cooked onion dietary fibre on the antioxidant activity of ascorbic acid and quercetin. *Food chemistry*, 111(3), 580-585.
35. Sousa, W. R., da Rocha, C., Cardoso, C. L., Silva, D. H. S., & Zanoni, M. V. B. (2004). Determination of the relative contribution of phenolic antioxidants in orange juice by voltammetric methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(5), 619-633.
36. Chen, J., Gorton, L., & Åkesson, B. (2002). Electrochemical studies on antioxidants in bovine milk. *Analytica Chimica Acta*, 474(1), 137-146.
37. Kilmartin, P. A., Zou, H., & Waterhouse, A. L. (2001). A cyclic voltammetry method suitable for characterizing antioxidant properties of wine and wine phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 1957-1965.
38. Korotkova, E. I., Karbainov, Y. A., & Shevchuk, A. V. (2002). Study of antioxidant properties by voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 518(1), 56-60.
39. Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis*, 19(6), 669-675.
40. Le Bourvellec, C., Hauchard, D., Darchen, A., Burgot, J. L., & Abasq, M. L. (2008). Validation of a new method using the reactivity of electrogenerated superoxide radical in the antioxidant capacity determination of flavonoids. *Talanta*, 75(4), 1098-1103.
41. Hayyan, M., Mjalli, F. S., AlNashef, I. M., & Hashim, M. A. (2012). Chemical and electrochemical generation of superoxide ion in 1-butyl-1-methylpyrrolidinium bis (trifluoromethylsulfonyl) imide. *Int J Electrochem Sci*, 7, 8116-8127.
42. Hayyan, M., Hashim, M. A., & AlNashef, I. M. (2015). Kinetics of superoxide ion in dimethyl sulfoxide containing ionic liquids. *Ionics*, 21(3), 719-728.
43. Khalil, M. I., Moniruzzaman, M., Boukraâ, L., Benhanifia, M., Islam, M. A., Islam, M. N., ... & Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*, 17(9), 11199-11215.
44. Rebiai, A., & Lanez, T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of Apis mellifera bee pollen from northwest Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 4(2), 155-163.

45. Prieto, P., Pineda, M., & Aguilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341.
46. Lima, B., Tapia, A., Luna, L., Fabani, M. P., Schmeda-Hirschmann, G., Podio, N. S., ... & Feresin, G. E. (2009). Main flavonoids, DPPH activity, and metal content allow determination of the geographical origin of propolis from the Province of San Juan (Argentina). *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(7), 2691-2698.
47. Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M. H., Bilsel, M., & Gören, A. C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8), 2227-2238.
48. LeBlanc, B. W., Davis, O. K., Boue, S., DeLuca, A., & Deeby, T. (2009). Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115(4), 1299-1305.
49. Silva, T. M. S., Camara, C. A., da Silva Lins, A. C., Barbosa-Filho, J. M., da Silva, E. M. S., Freitas, B. M., & dos Santos, F. D. A. R. (2006). Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee *Melipona subnitida* Ducke. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6), 507-511.
50. Campos, M. G., Webby, R. F., Markham, K. R., Mitchell, K. A., & Da Cunha, A. P. (2003). Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(3), 742-745.
51. Alzahrani, H. A., Boukraa, L., Bellik, Y., Abdellah, F., Bakhotmah, B. A., Kolayli, S., & Sahin, H. (2012). Evaluation of the antioxidant activity of three varieties of honey from different botanical and geographical origins. *Global journal of health science*, 4(6), p191.
52. Silici, S., Sagdic, O., & Ekici, L. (2010). Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of *Rhododendron* honeys. *Food Chemistry*, 121(1), 238-243.
53. Kishore, R. K., & Banaswadi, B. . (2014). Deterioration of physicochemical and antioxidant properties of Malaysian Tualang honeys on long term storage. *International E-Publication*. 50-66 (http://www.isca.co.in/SOUV_PROC/conference/ISBN%20978-93-84648-46-6.pdf#page=58)
54. Araki, T., & Kitaoka, H. (2001). Antioxidative properties of probucol estimated by the reactivity with superoxide and by electrochemical oxidation. *CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN-TOKYO-*, 49(8), 943-947.
55. Sia, J., Yee, H. B., Santos, J. H., & Abdurrahman, M. K. A. (2010). Cyclic voltammetric analysis of antioxidant activity in cane sugars and palm sugars from Southeast Asia. *Food chemistry*, 118(3), 840-846.
56. Lanez, T., & Rebiai, A. (2013). Development of an electrochemical method for the measurement of antioxidant capacity of pure compounds and natural substances extracts. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*, 1, 46-54.
57. Sime, D., Atlabachew, M., Abshiro, M. R., & Zewde, T. (2015). Total phenols and antioxidant activities of natural honeys and propolis collected from different geographical regions of Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 29(2), 163-172.
58. Sun, T., & Tanumihardjo, S. A. (2007). An integrated approach to evaluate food antioxidant capacity. *Journal of food science*, 72(9), R159-R165.

59. Sun, T., Powers, J. R., & Tang, J. (2007). Evaluation of the antioxidant activity of asparagus, broccoli and their juices. *Food chemistry*, 105(1), 101-106.
60. Pacifico, S., Galasso, S., Piccolella, S., Kretschmer, N., Pan, S. P., Nocera, P., ... & Monaco, P. (2015). Winter wild fennel leaves as a source of anti-inflammatory and antioxidant polyphenols. *Arabian Journal of Chemistry*, (<http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.026>).
61. Gorjanović, S. Ž., Alvarez-Suarez, J. M., Novaković, M. M., Pastor, F. T., Pezo, L., Battino, M., & Sužnjević, D. Ž. (2013). Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays. *Journal of Food Composition and Analysis*, 30(1), 13-18.
62. Yen, G. C., Duh, P. D., & Tsai, H. L. (2002). Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. *Food Chemistry*, 79(3), 307-313.

الخاتمة

تعتبر خلية النحل من أقدم مصادر الانسان للغذاء و الدواء، حيث يعتبر هذا المصدر متنوع حيويًا يحوي الكثير من المركبات الكيميائية التي يحتاجها الجسم فهي بين فيتامينات و مضادات حيوية و مضادات أكسدة، و بروتينات و سكريات.

- منتجات غنية بالسكريات و هي العسل و حبوب اللقاح.
- منتجات غنية بالبروتينات و هي الهلام الملكي و حبوب اللقاح.
- منتجات غنية بالمواد الفعالة و مضادات الاكسدة و هي البروبوليس و حبوب اللقاح.

كما تعتبر الجزائر من أهم الدول الإفريقية المنتجة للعسل و ذلك لغطائها النباتي و مناخها المتوسطي، و بتنوع الغطاء النباتي تتنوع أنواع العسل و بقية منتجات الخلية. يتركز بحثنا هذا على دراسة و تبيين ثلاثة منتجات لخلية النحل هي العسل، حبوب اللقاح و البروبوليس من خمس مناطق جغرافية متنوعة من الجزائر و هي تيبازة، عنابة، تلمسان، سطيف و الوادي، حيث تم في المرحلة الأولى الكشف عن الخصائص الحسية الظاهرية و الفيزيوكيميائية للعسل فوجد أن أغلبها يتوافق مع المعايير الدولية التي وضعتها منظمة الدستور الغذائي (CODEX) و منظمة الغذاء العالمي (FAO)، كما تم أيضا الكشف عن بعض الخصائص الفيزيوكيميائية لحبوب اللقاح و البروبوليس و مقارنتها بدراسات أخرى فوجد أن الكثير من النتائج التي تحصلنا عليها تتوافق مع هاته الدراسات.

في المرحلة الثانية من الدراسة تم إستخلاص المركبات الفينولية من منتجات النحل بنظام كحولي مائي (20/80)، حيث قدرنا المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات و الفلافونولات و تم تقدير بعض المركبات الفينولية بالكروماتوغرافيا السائلة RP-HPLC، كما درسنا أيضا السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و مقارنته بالمركبات الفينولية القياسية.

المحتوى الفينولي الكلي للبروبوليس تراوح بين [28.163 - 367.39(mgGAE/g)]، و المحتوى الفينولي في حبوب اللقاح [22.83 - 32.00(mgGAE/g)]، و في عينات العسل [826.256(mgGAE/kg) - 212.657] و تعتبر هاته النتائج قيم معتبرة و تدل على غنى منتجات النحل الجزائرية بالمركبات الفينولية خاصة مع الكشف عن تراكيز بعض المركبات الفينولية مثل حمض الكافيك الذي بلغ 9.287 mg/g و الكريستين 9.961mg/g و حمض الكلوروجنيك الذي بلغ 0.148 mg/g و غيرها من المركبات التي تم تقديرها.

كما وجد أن هناك ترابط قوي بين السلوك الكهروكيميائي للمستخلصات و بعض المركبات القياسية المدروسة، و ترابط قوي أيضا بين المحتوى الفينولي و الفلافونويدي و كمية مضادات الاكسدة المقدره

كهروكيميائيا حيث بلغ الترابط ($R^2=0.939$)، أيضا تم فرز العينات و تصنيفها حسب تشبهها و دراسة أهم العوامل المساهمة في تصنيفها بالطرق الاحصائية التحليلية كطريقة المكون الرئيسي (PCA) و طريقة التحليل العنقودي الهرمي (AHC)، حيث وجد أن هناك تشابه كبير بين عينات البروبوليس لمناطق عنابة و تلمسان و سطيف، كما وجد ايضا تشابه كبير بين عينات عسل تيبازة و سطيف هذا من حيث خصائص المحتوى الفينولي و الفلافونويدي و المركبات المدروسة.

أما المرحلة الثالثة من الدراسة فقد تم تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بالطرق الطيفية المتمثلة في إختبار (DPPH) و إختبار القدرة المضادة للأكسدة (MP)، حيث وجدنا أن مستخلصات البروبوليس امتلكت أكبر قيمة للقدرة المضادة للأكسدة في الطريقتين تلتها حبوب اللقاح و العسل و هذا مبرر حيث أن القدرة المضادة للأكسدة ناتجة عن محتوى المواد الفعالة مثل الفينولات و الفلافونويدات، و الذي تأكد في المرحلة السابقة غنى مستخلصات البروبوليس بها، بلغت IC_{50} للبروبوليس $41.18 \mu\text{g/ml}$ و بلغت القدرة المضادة للأكسدة بإختبار (MP) 129.83 mgGAE/g و هذا لعينة سطيف التي كانت أقوى العينات من حيث القدرة المضادة للأكسدة.

تم أيضا تقدير القدرة المضادة للأكسدة بالطريقة الكهروكيميائية التي تعتمد على إنتاج جذر الاكسجين الحر بتقنية الفولتامترية الحلقي، حيث تم تقدير (TAC) للمركبات الفينولية القياسية و جميع المستخلصات المدروسة، حيث وجدنا أن حمض الغاليك هو الاقوى قدرة من بين المركبات القياسية المدروسة حيث بلغ (TAC) له 16.087 ، أما منتجات النحل فكانت عينة بروبوليس عنابة الاقوى حيث بلغ (TAC) قيمة 25.961 و هي أقوى من حمض الغاليك حسب الطريقة الكهروكيميائية.

النتائج المتحصل عليها في هاته المرحلة ليست متوافقة بالقدر الكافي الذي يسمح لنا بتصنيف العينات و ترتيبها لذلك استخدمنا مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI)، هذا المؤشر يعتمد على جميع النتائج المتحصل عليها من مختلف الاختبارات المستعملة في تقدير الفعالية أو القدرة المضادة للأكسدة للعينات و المركبات المدروسة، حيث يتم استغلال هذه البيانات وفق منظور إحصائي، و ذلك بإستخلاص علاقة تربط بين هاته النتائج تعكس ترتيب قدرة المركب أو المستخلص المضادة للأكسدة.

وفق مؤشر النشاط المضاد للأكسدة النسبي (RACI) تم الحصول على الترتيب التالي للعينات و مضادات الاكسدة من الاقوى قدرة الى الاضعف:

حمض الغاليك < الكريستين < حمض الاسكوريك < PR2 < BHA < α -توكوفيرول < الروتين <
H1 < H4 < H2 < P3 < H5 < PR5 < PR1 < P2 < P1 < P4 < BHT < PR4 < PR3 < P5
< H3 <

من هذه النتيجة تمكنا من دراسة علاقة الترابط بين المؤشر (RACI) و الاختبارات المضادة للأكسدة
و كذا المحتوى الفينولي و الفلافونويدي فوجدنا أن مصفوفة الترابط كانت كلها ايجابية و كانت أقوى بين
المؤشر (RACI) و الاختبار الكهروكيميائي (TAC).

يمكننا أن نؤكد في الاخير أن منتجات النحل الجزائرية من أغنى المنتجات بالمواد الفعالة حيث تمتلك
قدرة مضادة للاكسدة معتبرة تفوق في بعض الاحيان مضادات الاكسدة الشائعة، كما أنها في أغلبها توافق
معايير الجودة الدولية من حيث الخصائص الظاهرية و الفيزوكيميائية

ملحق

المنشورات و المشاركات العلمية

I. المنشورات في المجلات الوطنية

1. Rebiai, A., and T. Lanez. "COMPARATIVE STUDY OF HONEY COLLECTED FROM DIFFERENT FLORA OF ALGERIA." *Journal of Fundamental and Applied Sciences* 6.1 (2014): 48-55.
2. Rebiai, A., & Lanez, T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of *Apis mellifera* bee pollen from northwest Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 4(2), 155-163.

II. المنشورات في المجلات الدولية

1. Rebiai, Abdelkrim, Touhami Lanez, and Atef Chouikh. "PHYSICOCHEMICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF HONEY BEE PRODUCTS IN SOUTH ALGERIA." *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering* (2015): 16(2):133-142.
2. Abdelkerim Rebiai, Lanez Touhami, and Mohamed Lakhder Belfar. "Total polyphenol contents, radical scavenging and cyclic voltammetry of Algerian propolis." *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6 (2014): 395-400.
3. Rebiai Abdelkrim, and Touhami Lanez. "A Facile Electrochemical Analysis to Determine Antioxidant Activity of Bee Pollen." *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy* 9 (2013): 31-38.
4. Touhami Lanez , and Abdelkerim Rebiai. "Development of an electrochemical method for the measurement of antioxidant capacity of pure compounds and natural substances extracts." *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy* 1 (2013): 46-54.
5. Rebiai, A., T. Lanez, and M. L. Belfar. "In vitro evaluation of antioxidant capacity of Algerian propolis by spectrophotometrical and electrochemical assays." *Int J Pharmacol* 7 (2011): 113-118

III. المشاركات في الملتقيات الدولية

1. Rebiai. A , Selmane. M, and Chouikh.A. Physicochemical properties of honey products in south east of Algeria, Conference: 5th International Congress on Medicinal and Aromatic Plants (CIPAM) ZARZIS (TUNISIA)(2014).

IV. المشاركات في الملتقيات الوطنية

1. Rebiai, A., Lanez, T., & Belfar, M. L. Determination of caffeic acid and gallic acid in Algerian bee pollen by HPLC method. 4 *Phytochem & BioSub Conference*. At Bechar, Algeria (2013).
2. REBIAI, A., LANEZ, T., DIA, M., & AIBA, S. "ELECTROCHEMICAL DETERMINATION OF POLYPHENOLS CONTENT IN ALGERIAN BEE POLLEN." *Actes du Séminaire 1SNEMA*, Vol. 1 (2014): 66.