رقم الترتيب:.....

رقم التسلسل:.....

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مـــذكرة تخـــرج
لنيل شهادة ماستر أكاديمي

مـيدان: عـــلوم الـــطبيعة والـــحياة

شـــعبة: عـــلوم بيولوجيـــة

تخصص: تنوع حيـــوي وفيزيولوجيـــا النبـــات

الموضـــوع :

تقدير القيمة الغذائية ودراسة الفاعلية البيولوجية لنبات الخروب *Ceratonia siliqua* النامي في منطقتي عنابة والبليدة

من إعداد الطالبتين :

◄ عبير شيخة بلقاسم ◄ كريمة مسعي بلقاسم

نوقشت يوم .....من طرف **لجنة المناقشة:**

◄ عاطف شويخ	أستاذ محاضر أ	**رئيسا**	جامعة الوادي
◄ خالد خراز	أستاذ مساعد قسم أ	**مؤطرا**	جامعة الوادي
◄ منير قادري	أستاذ محاضر ب	**مناقشا**	جامعة الوادي

الموسم الجامعي 2020/2019

بسم الله الرحمن الرحيم

تشكرات

الحمد لله عز وجل الذي ألهمنا الصبر والثبات وأمدنا بالقوة والعزم على مواصلة مشوارنا الدراسي وتوفيقه لنا في إنجاز هذا العمل، فنحمدك اللهم ونشكرك على نعمتك وفضلك ونسألك البر والتقوى ومن العمل ما ترضى، وسلام على حبيبه وخليله الأمين المصطفى عليه أزكى الصلاة و السلام ، تتقدم بجزيل الشكر والتقدير للأستاذ الفاضل **خراز خالد** لتفضله بالإشراف على هذا العمل وسعة صدره وعلى حرصه أن يكون في صورة كاملة لا يشوهه نقص، نسأل الله أن يجزيه عنا كل خير .

تتوجه كذلك بجزيل الشكر والامتنان لكل من ساعدنا من قريب أو من بعيد على إنجاز هذا العمل و في تيسير ما واجهناه من صعوبات . . .والشكر موصول للأساتذة الكرام لجنة المناقشة لقبولهم رئاسة لجنة المناقشة ومشاركتهم في إثراء هذا العمل فكل الاحترام والتقدير .

إهداء

أولا وآخرا الشكر لله والحمد لله حمدا كثيرا طيبا مباركا فيه الذي وفقني لإتمام هذا العمل

والصلاة والسلام على نبي الرحمة ونور العالمين سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم

إلى وطني العزيز الجزائر الصامدة بأهلها . .إلى روح جدي وجدتي رحمهم الله

إلى القلب الكبير الذي شملني . . إلى بسمة الحياة . .إلى التي لن أوفيها حقها مهما قلت ومهما فعلت

والدتي حفظها الله

إلى من احمل اسمه بكل افتخار . .إلى من كلله الله بالهيبة والوقار والدي رعاه الله

إلى شقيقاتي : جهاد وكتاكيتها لجين، التوأم هبة وهدى، أنس . .و إيمان، ماريا وسيلين

إلى أخي وحيدي وسندي. . محمد علاء الدين وفقه الله ورعاه

إلى من كان بمثابة الأخ الكبير علي ونيسي حفظه الله

إلى من كانت معهم أجمل وأغلى لحظات حياتي صديقاتي ورفيقات دربي : نور الهدى، إيمان،

الروميساء، حليمة ،صورية، بسمة، مريم، وفاء، الزهرة، سارة، أمل، سمية، ليلى، كريمة، رانيا

إلى كل الزميلات والزملاء في تخصص تنوع حيوي وفيزيولوجيا النبات دفعة 2020

إلى كل من حملته ذاكرتي ولم تحمله مذكرتي أهدي ثمرة هذا الجهد المتواضع.

عبير

rawpixel

إهداء

الحمد لله الذي تتم الأعمال الصالحة بتوفيقه ورضاه، والصلاة والسلام على من بعث خيرا للبرية، نبينا محمد

وعلى آله وصحبه أجمعين ومن تبعهم بإحسان إلى يوم الدين، أما بعد :

أهدي هذا العمل:

إلى التي أسكنتني القلب قبل أن تحملني وسقتني الحب قبل أن ترضعني وأعطتني الرضي قبل أن تنشأني إلى من

أنشأت في نفسي الصبر والإحسان إلى التي بفضل دعواتها بارك الله لي خطواتي إلى أمي الحبيبة الغالية .

إلى من حملني صغيرة وتحملني شابة وسأحمل جميله إلى آخر عمري، إلى من أنار لي طريق الحياة، إلى الذي لم

يألُ جهدا في إيصالي حيث وصلت أبي الغالي.

إلى أكثر من يحبهم قلبي و تشتاق إلى رؤيتهم عيوني

أخواتي: هدى، مروة، وفاء، نور اليقين، حوى، حفظهن الله .

إلى أخي الغالي: داود، أدامه الله ذخرا لنا .

إلى رفيقات دربي صديقاتي: مسعودة، كنزة، عبير، حليمة، نجاح، وفقهن الله .

الى كل من رافقني في مساري الدراسي، الى كل من ساعدني وأسعدني، الى كل من حفظهم قلبي ونسيهم قلمي.

كريمة

الملخص

Résumé

Abstract

يهدف هذا العمل إلى معرفة مدى التأثير المناخي والموقع الجغرافي على محتوى مواد الايض الثانوي ، القيمة الغذائية وكذلك الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الخروب *Ceratonia siliqua* النامي في كل من ولاية عنابة والبليدة.

أسفرت النتائج المتحصل عليها في تقدير القيمة الغذائية لعينة البليدة تفوق العينة المأخوذة من عنابة، فمحتواها من الكربوهيدرات 13.11 mg/g، البروتين 10.38 mg/g، ثم الدهون 0.72 mg/g بينما محتوى العينة المأخوذة من البليدة من الكربوهيدرات 8.68 mg/g، ومن البروتين8.51 mg/g وكذلك الدهون 0.66 mg/g.

عديدات الفينول، الفلافونويدات، التانينات المتحللة والتانينات المكثفة سجلت أعلى قيم لها في العينة المأخوذة من عنابةExtrait /mg 354 µg EAG، 0.464 µgEQU/mg Extrait، 0.127µg AHE Extrait /mg و70.153 µg EC/mg Extrait على الترتيب، بينما في عينة البليدة فقد كان محتواها ضعيف نوعا ما، عديدات الفينول 280 µg EAG /mg، الفلافونويدات 0.43 µgEQU/mg، التانينات المتحللة 0.119 µg AHE /mg Extrait، التانينات المكثفة 61.113µg EC/mg Extrait.

أبدت نتائج النشاطية المضادة للأكسدة للجذر الحرDPPH•، تميز عينة عنابة بقيمة تثبيطية قدرت ب (IC_{50}=74.29µg/ml) أيضا إختبار الFRAP بنسبة تثبيط (IC_{50}=0.13234mg/ml) بينما في إختبار إنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) تفوقت عينة البليدة بأقل نسبة إنحلال قدرت ب 78.21%.

الكلمات المفتاحية: الخروب. *Ceratonia siliqua*،عديدات الفينول، الفلافنويدات، التانينات، النشاطية المضادة للأكسدة، اختبار الFRAP، اختبار الHémolyse .

Résumé

Ce travail vise à connaître l'étendue du climat et de l'influence géographique sur la teneur en métabolites secondaires, la valeur nutritionnelle et l'activité antioxydante de la plante Ceratonia siliqua poussant à Annaba et Blida.

Les résultats obtenus ont révélé que la valeur nutritionnelle de l'échantillon de Blida dépasse l'échantillon prélevé à Annaba, car sa teneur en glucides est de 13,11 mg / g, la protéine est de 10,38 mg / g, puis la graisse est de 0,72 mg / g, tandis que la teneur en l'échantillon prélevé sur l'échantillon de glucides est de 8,68 mg / g et de protéines 8,51 mg / g et 0,66 mg / g de matières grasses.

Les polyphénols, flavonoïdes, tanins hydrolysables et tanins condensés ont enregistré leurs valeurs les plus élevées dans l'échantillon prélevé à Annaba: g EAG / mg 354,0,464 µgEQU / mg, 0,127 µg AHE / mg Extrait et 70,153 µg EC / mg Extrait respectivement, tandis que dans le Blida échantillon, il a été perdu. Leur teneur était plus faible, polyphénols 280 µg EAG / mg, flavonoïdes gEQU / mg 0,43, tanins hydrolysables µg AHE / mg Extrait 0.119, tanins condensés µg EC / mg Extrait61.113.

Les résultats de l'activité antioxydante du radical libre DPPH ont montré que l'échantillon d'Annaba était caractérisé par une valeur d'inhibition (IC50 = 74,29 µg / ml) et pour FRAP avec une valeur d'inhibition (IC50 = 0, 13234 mg / ml), tandis que dans le test d'hémolyse des globules rouges, l'échantillon de Blida a montré la supériorité du pourcentage de dissolution estimé le plus bas à 78,21%.

Mots clés: caroube. Ceratonia siliqua, polyphénols, flavonoïdes, tanins, activité antioxydante, test FRAP, test Hémolyse.

Abstract

This work aims to find out the extent of the climate and geographical influence on the secondary metabolite content, nutritional value and antioxidant activity of Ceratonia siliqua plant growing in Annaba and Blida.

The results obtained revealed that the nutritional value of the Blida sample exceeds the sample taken from Annaba, as its content of carbohydrates is 13.11 mg / g, protein is mg / g 10.38, then fat is 0.72 mg / g, while the content of the sample taken from the sample of carbohydrates is 8.68 mg / g, and protein 8.51 mg / g and 0.66 mg / g fat.

Polyphenols, flavonoids, hydrolyzable tannins and condensed tannins recorded their highest values in the sample taken from Annaba: g EAG / mg 354,0.464 µgEQU / mg, 0.127µg AHE / mg Extrait and 70.153 µg EC / mg Extrait respectively, while in the Blida sample it was lost. Their content was weaker, polyphenols 280 µg EAG / mg, flavonoids gEQU / mg 0.43, hydrolyzable tannins µg AHE / mg Extrait 0.119, tannins condensed µg EC / mg Extrait61.113.

The results of the antioxidant activity of free radical DPPH showed that the sample from Annaba was characterized by an inhibition value (IC50 = 74.29 µg / ml) and for FRAP with an inhibition value (IC50 = 0 , 13234 mg / ml), While in the red blood cell hemolysis test, the sample from Blida showed the superiority of the lowest estimated dissolution percentage at 78.21%.

Key Words: Carob. Ceratonia siliqua, polyphenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity, FRAP test, Hémolyse test.

الفهرس

العنوان	الصفحة
الملخص	
الفهرس	
فهرس الوثائق	
فهرس الجداول	
قائمة الاختصارات	
المقدمة	
الجزء النظري	
الفصل الأول: الدراسة النباتية	
1-النباتات الطبية	1
1-1 نبذة تاريخية عن النباتات الطبية	1
1-2 تعريف النباتات الطبية	1
1-3 أهمية النباتات الطبية	1
2- العائلة البقولية	2
2-1 أهمية البقوليات	3
2-2 جنس ceratonia	3
3-الوصف المورفولوجي لنبات الخروب	4
3-1 الشجرة	4
3-2-الثمرة	5
3-3 البذور	5
3-4 الأوراق	5
3-5 الأزهار	6
4-التصنيف النباتي	7
5-التوزيع الجغرافي	7
6-التركيب الكيميائي	8
7-استعمالات نبات الخروب	9
الفصل الثاني: منتجات الأيض الثانوي	

مدخل	13
1- المركبات الفينولية	14
1-1 الأحماض الفينولية	14
1-2 الفلافنويدات	15
1-3 التانينات	15
1-3-1 التانينات المتحللة Les Tannins Hydrolysables	16
1-3-2 التانينات المكثفة Les Tanins condensée	16
1-3-3 دور وأهمية التانينات البيولوجية	16
2- القلويدات	16
2-1 الخصائص العامة	17
3- الكومارينات	17
4- الراتنجات	17
5- التربينات	18
6- الزيوت الطيارة	18
7- الصابونويزيدات	18
الفصل الثالث: الدراسة البيولوجية	
1- الإجهاد التأكسدي	20
1-1 تعريف الجذور الحرة	20
1-2 أنواع الجذور الحرة	20
1-2-1 الجذور الأوكسيجينية	20
1-2-2 الجذور النيتروجينية	21
1-3 مصادر الأنواع الأوكسيجينية النشطة	21
1-4 أضرار الإجهاد التأكسدي	22
2- مضادات الأكسدة	22
2-1 مضادات الأكسدة الطبيعية	22
2-1-1 مضادات الأكسدة الإنزيمية	22
2-1-2 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية	23
2-2 مضادات الأكسدة الإصطناعية	24
الجزء التطبيقي	

الفصل الأول: المواد المستعملة و الطرق المتبعة	
1- في الميدان	28
1-1 الموقع الجغرافي لولاية البليدة	28
1-2 الموقع الجغرافي لولاية عنابة	28
1-3 المادة النباتية	29
2- في المخبر	30
* الطرق المستعملة لتحضير المادة النباتية	31
2-1 تحضير المستخلص الكحولي لنبات الخروب	31
2-2 تقدير نسبة المردود	32
2-3 دراسة المسح الفيتو كيميائي لنبات *c-silique*	35
3-تقدير القيمة الغذائية في النبات	35
3-1 تحضير المستخلصات لتقدير مواد الأيض الأولي (البروتينات الكربوهيدرات والدهون)	37
3-2 تقدير الكربوهيدرات	37
3-3 تقدير الدهون	38
3-4 تقدير البروتين	39
4-التقدير الكمي للمركبات الفينولية	39
4-1 تقدير الفينولات الكمية (Dosage des polyphénols (PPT	40
4-2 تقدير الفلافونويدات Dosage des Flavonoïdes (FV)	40
4-3 تقدير التانينات Les Tanins	40
4-3-1 التانينات المتحللة Tanins Hydrolysables	41
4-3-2 التانينات المكثفة Tanins condensé	41
5- الدراسة البيولوجية	41
5-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة	41
5-1-1 اختبار تثبيط الجذر الحرة DPPH	42
5-1-2 اختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP	43
5-1-3 اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)	28
الفصل الثاني :النتائج والمناقشة	
1-النتائج	45
1-1 دراسة المسح الفيتوكيميائي لثمار نبات الخروب *C. siliqua*	45

2-1 حساب نسبة المردود R%	48
3-1 المحتوى الكمي للكربوهيدرات	48
4-1 المحتوى الكمي للدهون	50
5-1 المحتوى الكمي للبروتين	51
6-1 المحتوى الكمي لعديدات الفينول PPT	52
7-1 المحتوى الكمي للفلافونويدات الكلية	54
8-1 المحتوى الكمي للتانينات	55
1-8-1 المحتوى الكمي للتانينات القابلة للتحلل	55
2-8-1 المحتوى الكمي للتانينات المكثفة	56
9-1 محتوى الفعالية المضادة للأكسدة AAO	58
1-9-1 نتائج الجذر الحر • DDPH	58
2-9-1 نتائج القدرة الإرجاعية للحديد FRAP	59
3-9-1 نتائج انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse	61
2-المناقشة	63
الخاتمة	71
المراجع	74
الملاحق	

الرقم	العنوان	الصفحة
01	صور لمختلف أجزاء نبات الخروب *Ceratonia siliqua*	6
02	أصل وتوزيع شجرة الخروب في العالم	8
03	العلاقة بين الأيض الأولي و الثانوي	14
04	الهيكل العام للفلافنويدات	15
05	بنية المركب BHT	24
06	بنية المركب BHA	25
07	توضح صورة الموقع الجغرافي لولاية البليدة ومنطقة الدراسة (حمام ملوان)	28
08	صورة توضح الموقع الجغرافي لولاية عنابة ومنطقة الدراسة (البوني)	29
09	صور توضيحية للجزء النباتي المدروس (ثمار، مسحوق)	29
10	طريقة الحصول على المستخلص الميثانولي	30
11	الكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي في المستخلص الكحولي	31
12	الكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي في المستخلص الميثانولي	32
13	الكشف عن بعض مواد الأيض الثانوي في كلا المستخلصين المائي والإيثيري	33
14	مخطط يوضح خطوات استخلاص الكربوهيدرات، الدهون والبروتينات	34
15	مردود المستخلصات الميثانولية لعينتي عنابة والبليدة	36
16	المنحنى القياسي للغلوكوز	48
17	المحتوى الكمي للكربوهيدرات في المادة الجافة للعينات النباتية المدروسة	49
18	المنحنى القياسي لزيت الصوجا	49
19	المحتوى الكمي للدهون في المادة النباتية الجافة للعينات النباتية المدروسة	50
20	تحدد قيم المحتوى الكمي للبروتين بالملغ على الغرام من المادة النباتية الجافة	50
21	المحتوى الكمي للبروتينات في المادة الجافة للعينات النباتية المدروسة	51
22	المنحنى القياسي ل Acide Gallique	52
23	المحتوى الكمي لعديدات الفينول ب (الميكروغرام /ملغ) للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات الخروب عنابة و البليدة :	53
24	المنحنى القياسي لمحلول الكرسيتين	53

25	المحتوى الكمي للفلافونويدات الكلية للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات الخروب عنابة والبليدة	54
26	المنحنى القياسي لل Acide tannique	54
27	المحتوى الكمي للتانينات المتحللة للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات الخروب عنابة والبليدة (ug AHE/mg Extrait)	55
28	Acide catechine المنحنى القياسي لحمض الكاتشين	56
29	المحتوى الكمي للتانينات المكثفة للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات (ug EC/mg Extrait الخروب عنابة والبليدة)	56
30	المنحنى القياسي لمحلول حمض الأسكوربيك المعتمد في اختبار الجذر الحر DDPH •	57
31	قيم IC_{50} المثبطة ل50% من جذر DDPH • لمستخلصي نبات الخروب وحمض الأسكوربيك	57
32	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك AA المعتمد في اختبار القدرة الارجاعية للحديد FRAP	58
33	قيم الامتصاصية الضوئية لمزيج تفاعل المستخلصات الميثانولية و لحمض الأسكوربيك لاختبار FRAP	59
34	المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse	60
35	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص خروب عنابة	60
36	منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص خروب البليدة	61
37	نسبة انحلال كريات الدم الحمراء للمستخلصات ولحمض الأسكوربيك عند تركيز 0.8 mg/ml	61

الرقم	العنوان	الصفحة
01	التصنيف النباتي لنبات الخروب *Ceratonia siliqua L*	7
02	نتائج المسح الفيتوكيميائي لثمار نبات الخروب *C.siliqua*	46

PPT: Polyphénols total

FV: Flavonoïdes

$FeCl_3$: Chlorure de fer

H_2SO_4: acide sulfurique

HCl : acide chlorhydrique

Na_2CO_3 :carbonate de sodium

E AG /mg : Acide Gallique Equivalent par milligramme

E CA /mg : Catéchine Equivalent par milligramme

E T /mg : Acide Tannique Equivalent par milligramme

E QU /mg : Quercitine Equivalent par milligramme

SOD : Superoxidedismutas

DPPH·: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

IC_{50}: Inihibion Concentration 50%.

BHA : Butylated hydroxylanisole

BHT : Butyl hdroxyanisole

TCA : d'acide trichloracétiques

FRAP: Ferric **R**educing **A**ntioxydant **P**ower

MeOH: **M**éthanol.

EoH: Ethanol.

ROS: **R**eactive **O**xygen **S**pecies

I %: **P**ourcentage d'**I**nhibition.

R %: **P**ourcentage de **R**endement.

AA: Acide **A**scorbique (Vitamine C).

AAO: Activité **A**ntioxydant.

Abs contrôle: Absorbance de **S**olution son extrait.

Abs échantillon: Absorbance de **S**olution avec extrait.

AlCl3: Trichlorure d'**A**luminium.

المقدمة

مقدمة

قال تعالى في كتابه الكريم ﴿ وَفِي ٱلۡأَرۡضِ قِطَعٞ مُّتَجَٰوِرَٰتٞ وَجَنَّٰتٞ مِّنۡ أَعۡنَٰبٖ وَزَرۡعٞ وَنَخِيلٞ صِنۡوَانٞ وَغَيۡرُ صِنۡوَانٖ يُسۡقَىٰ بِمَآءٖ وَٰحِدٖ وَنُفَضِّلُ بَعۡضَهَا عَلَىٰ بَعۡضٖ فِي ٱلۡأُكُلِۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَأٓيَٰتٖ لِّقَوۡمٖ يَعۡقِلُونَ ٤ ﴾الرعد (04) .

إن من أعظم منن الله سبحانه وتعالى وعطاياه على الإنسان أن ألزم وجوده بوجود النباتات بمختلف أشكالها وألوانها وأحجامها استنادا لقوله تعالى ﴿ وَٱلۡأَرۡضَ مَدَدۡنَٰهَا وَأَلۡقَيۡنَا فِيهَا رَوَٰسِيَ وَأَنۢبَتۡنَا فِيهَا مِن كُلِّ شَيۡءٖ مَّوۡزُونٖ ١٩ وَجَعَلۡنَا لَكُمۡ فِيهَا مَعَٰيِشَ وَمَن لَّسۡتُمۡ لَهُۥ بِرَٰزِقِينَ ٢٠ ﴾ الحجر (19-20)، فإن الإنسان إذا شعر بالجوع طفق يبحث عن الطعام بحكم الغريزة التي أوجدها سبحانه فيه، فقد كان الحال كذلك عندما يشعر بالألم، فإنه يبحث عما يخفف عنه ألمه، فكان إن امتدت يده إلى البيئة المحيطة به المعروفة بصيدلية الطبيعة التي تشمل النبات والحيوان والمعادن (القحطاني.، 2011)، ومع التقدم والتطور الذي استحوذ عليه، دفعه للتخلي عن مكوناتها الطبيعية، مسترشدا بالعقاقير الكيميائية المصنعة، رغم درايته بأضرارها إلا أنه استمر في تعاطيها بهدف الشفاء العاجل، وحين أدرك مخاطرها، عاد ليرتمي في أحضان الطبيعة الأم من جديد ليستعيد ما أورثه آباءه وأجداده (علامة ورزق.، 2016) فالنباتات الطبية تعتبر من أهم المواد الإستراتيجية في صناعة الدواء، بل وتمثل أساسا في إنتاجه، وذلك لاحتوائها على مكونات فعالة تمتاز بأن لها أثر مباشر في الجسم، فهي توفر فوائد تفتقد إليها في الغالب الأدوية الكيميائية المصنعة وهذا ما دفع بالعديد من دول العالم في الآونة الأخيرة إلى زيادة الاهتمام بزراعة واستثمار النباتات الطبية (الحسانين.، 2009).

تمتلك الجزائر ثروة هائلة من الأعشاب الطبية والعطرية وهي تنتشر في مساحات شاسعة ومتفرقة وفي بيئات مناخية مختلفة في السواحل والوديان والهضاب والمرتفعات الجبلية والصحاري وفي الحقول الزراعية وغيرها، منها ماهي موسمية تظهر بعد هطول الأمطار وتختفي عند الجفاف ومنها المعمرة (بن مرعاش.،2012).

تركز نظر الباحثين في الآونة الأخيرة وتجدد منحنى اهتمامهم نحو المصادر النباتية، بهدف تثمين محتواها الطبيعي من المركبات الكيميائية الناتجة من الإستقلابات الثانوية داخل هذه العضوية (سعد.، 1994) ارتأينا في هذه الدراسة العلمية إلى تسليط الضوء على إحدى النباتات الأطلس التلي، وذلك بطرح الإشكال الآتي: هل يتغير المحتوى الكمي لهذا النبات باختلاف المنطقة الجغرافية؟ وهل يؤثر ذلك على نشاطيته المضادة للأكسدة؟

وبهدف إيجاد حل لهذه الإشكالية سنعمل في بحثنا هذا إلى دراسة نبات الخروب *Ceratonia siliqua* الذي ينتمي للعائلة البقولية Fabaceae النامي في كل من ولايتي عنابة والبليدة، وذلك من خلال تحضير المستخلص الكحولي "الميثانولي" للنبات بطريقة النقع، ومن ثم تقدير القيمة الغذائية وكذلك المحتوى الكمي لمنتجات الأيض الثانوي، وتطرقنا لكل من إختبار الـDPPH•، FRAP والـ Hémolyse لدراسة النشاطية المضادة للأكسدة، حيث قمنا بتقسيم بحثنا إلى قسمين: جزء نظري وجزء عملي.

الجزء النظري يتضمن ثلاثة فصول، الأول خصص لدراسة نبات الخروب *Ceratonia siliqua* والعائلة البقولية Fabaceae ، أما الفصل الثاني فتمت فيه دراسة مركبات الأيض الثانوي مع ذكر أهم أقسامه وبعض خصائصه البيولوجية، بينما الفصل الثالث فيهتم الإجهاد التأكسدي والنشاطية المضادة للأكسدة.

الجزء التطبيقي ويتضمن هو الآخر فصلين، تطرقنا في فصله الأول إلى الحديث عن المواد والطرق المستعملة في هذا البحث، في حين قمنا في الفصل الثاني بتحليل النتائج ومناقشتها.

الجزء النظري

الفصل الأول

الدراسة النباتية

1-النباتات الطبية

1-1 نبذة تاريخية عن النباتات الطبية

منذ أن خلق الله الإنسان وأوجده على هذه الأرض، أوجد معه أسباب فنائه كما أوجد أسباب بقائه، فخلق فيه الآفات والأمراض وخلق معها أسباب علاجها .وكما جعل النباتات غذاء لا يُستغنى عنه في الحياة، جعل فيها أيضا الدواء الشافي للأمراض .ووهب الله للحيوان الذي لا يعقل غريزة الاهتداء إلى نوع النبات الذي يلائمه و يحفظ وجوده، وترك للإنسان العاقل أن يهتدي لما يناسبه من النباتات بالبحث و التجربة بفضل العقل الذي خصه به من بين سائر الحيوانات (شمس الدين.،2000).

وقد وضع أول دستور للتداوي بالأعشاب في الصين، يضم حوالي 365 عقارا نباتي يطلق عليه (بن تساو) أي مجموعة الأعشاب، وكان للعرب الدور الكبير في تطوير علوم الطب حيث اهتم الكثير منهم بخصائص الأعشاب وطرق التداوي بها فاستفادوا من المعارف والمعلومات التي توصل إليها الإغريق والهنود والصينيون وبرعوا في ترجمتها وتدوينها وجعلوها سهلة وميسرة، فانتشرت كتب ابن سينا والرازي و البغدادي وغيرهم (أبو القاسم و آخرون.،2016) . وتميزت الحضارة الفرعونية عن غيرها من الحضارات بمعرفة علمائها لأسرار النباتات العلاجية، ببرديات أهمها بردية إيبرس التي احتوت على وصف الكثير من الأمراض وأعراضها و كيفية علاجها باستعمال العقاقير النباتية (شمس الدين.،2000).

1-2 تعريف النباتات الطبية

يُعرّف النبات الطبي على أنه النبات الذي يحتوي في عضو أو أكثر من أعضائه المختلفة أو تحوراتها على مادة كيماوية واحدة أو أكثر بتركيز منخفض أو مرتفع ولها القدرة الفسيولوجية على معالجة مرض معين أو على الأقل تقلل من أعراض الإصابة بهذا المرض إذا ما أعطيت للمريض إما في صورتها النقية بعد استخلاصها من المادة النباتية أو تم استخدامها وهي مازالت على سيرتها الأولى في صورة عشب نباتي طازج أو مجفف أو مستخلص جزئيا. وقد عرّف العالم Dragendroff النبات الطبي على أنه كل شيء من أصل نباتي و يستعمل طبيا فهو نبات طبي (هيكل وعمر.، 1988).

1-3 أهمية النباتات الطبية

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة كبيرة في الإنتاج الزراعي والصناعي حيث أن النباتات الطبية هي المصدر الرئيسي للعقاقير الطبية النباتية أو مصدر المواد الفعالة التي تدخل في تحضير الدواء، وخاصة بعد إعلان منظمة الصحة العالمية ضرورة العودة إلى العلاج بالأعشاب الطبيعية أو الحد من تناول الأدوية المصنعة كيميائيا لما لها من تأثيرات جانبية سلبية (محمد.، 2012)

كما أثبتت الدارسات العديدة أن المواد الكيميائية الدوائية الصناعية في غالب الأحيان تملك تأثيرات ضارة بجانب الأثر العلاجي الأساسي المستخدمة من أجله، وكذلك قد لا تؤدي إلى التأثير الوظيفي نفسه المواد الفعالة في النباتات الطبية ومن هنا تظهر أهمية النباتات الطبية في العلاج، لأن المواد الفعالة في النباتات لا تنفرد بجزء واحد له علاقة خاصة بعضو معين في الجسم، إنما تحوي على المواد الفعالة الشافية مما يجعلها مفيدة في مداواة أمراض مختلفة كما تكمن أهمية النباتات الطبية في احتوائها على مواد كيميائية ذات فائدة وأهمية تأثيرها الفيزيولوجي ونشاطها الدوائي على أعضاء الجسم البشري والحيواني(العابد.، 2009) كما تستخدم كتوابل وبهارات للأطعمة مما يكسبها طعما ولونا مُميزا (العطيّات.، 1995).

ونظرًا للأهمية الطبية لهذه النباتات فقد تطرقنا إلى إجراء دراسة كيميائية وبيولوجية لنبات *Ceratonia Siliqua* التابع للعائلة البقولية.

2-العائلة البقولية

تعد العائلة البقولية Leguminosae (Fabaceae)، يطلق عليها كذلك العائلة الفراشية وهي من الفصائل واسعات الإنتشار تأتي في جميع أصقاع العالم، أشكالها المتخشبة مسيطرة على المناطق المدارية، ونماذجها العشبية تأتي في بقية المناطق، (الخطيب.، 1979)، وهي ثالث أكبر عائلة نباتية بعد العائلتين Asteraceae و Orchidaceae ،حيث تتربع على ما يقارب 727 جنسا وحوالي 19325 نوع (الشمري و الجبوري.،2016). كما أنها تضم نباتات ذات طبائع نمو مختلفة، فمنها النباتات الزاحفة والمتسلقة والشجيرية الضخمة بخلاف العشبيات المعمرة والنباتات الحولية (العطيّات.، 1995).

تتميز هذه العائلة بأوراق غالبا مركبة ريشية متبادلة الوضع على السيقان والأفرع ونادرًا ما تكون بسيطة، وتكون الأزهار في عناقيد طرفية في نورات عنقودية أو سنبلية والتي تنضغط أحيانا في شكل كريات صغيرة كما في البرسيم والأكاسيا والميموزا وغيرها، أما الثمار غالبا قرنية عديدة البذور، وقد تكون الثمرة قرظة كما في الفول السوداني والسنط العربي والتمر الهندي. المتاع يتكون من كربلة وبويضات عديدة أما الأسدية من عديدة إلى 10 أو أقل في وضع سفلي أو محيطي وهي سائبة أو ملتحمة إلى حد ما في أنبوبة حيث تكون في حزمة واحدة أو حزمتين وذلك بانفصال السداة الخلفية (الحسيني والمهدي.،1990).

2-1 أهمية البقوليات

تزرع البقوليات الغذائية أساسا من أجل حبها الغني بالبروتينات وبعض الأحماض الأمينية الأساسية والضرورية لجسم الإنسان. كما إن إدخالها في الدورة الزراعية مع المحاصيل الحبية الأخرى مثل

الحبوب يساعد على تحسين إنتاجية هذه الأخيرة و كذا تحسين خواص التربة الكيمائية و الفيزيائية و زيادة خصوبتها (حمداش.، 2001) .

ومن أهم أجناس العائلة البقولية جنس: ***Ceratonia***

2-2 جنس Ceratonia

اشتق الإسم العلمي من keras اليوناني الذي يعني القرن والسيليكا اللاتينية ملمحا إلى صلابة وشكل الجراب (NASAR-ABBAS.,2015). ينتمي هذا الجنس الى عائلة البقوليات، يمتاز بأشجاره المزهرة ويستوطن منطقة البحر الأبيض المتوسط والشرق الأوسط (SBAY.,2008) .

كما توجد العديد من الأصناف لنبات *Ceratonia siliqua* وهي:

1. **Amele:** صنف تجاري قديم تنتشر زراعته في إيطاليا –الأشجار أنثى –القرون ذات لون بني خفيف مستقيمة أو منحنية قليلاً –يبلغ طول القرن 5.5 –4/1 6 بوصة (14 –16سم) والعرض 4/3 1 بوصة (2–2.5 سم) محتوي القرون من السكريات 53.8 % –ذات نكهة جيدة –تنضج القرون في سبتمبر وأكتوبر.
2. **Casuda:** تنمو الأشجار في إسبانيا بوفرة –الأشجار أنثى –القرون ذات لون بني داكن – مستقيمة طولها حوالي 4/3 4 بوصة (12سم) والعرض 5/3 بوصة (1.5 سم) تحتوي علي نسبة عالية من السكريات تتراوح ما بين 15.7 – 56.7 % – ذات نكهة جيدة – الأشجار ذات حمل غزير ومنتظم تنضج القرون في أكتوبر.
3. **Clifford:** أشجار طرق بذرية –الأزهار خنثى –القرون ذات لون بني خفيف – منحني قليلاً يبلغ طول القرن 8/1 5 بوصة (13سم) والعرض 4/3 بوصة (2سم) تحتوي القرون علي 52.9 % سكريات – النكهة شديدة – الحمل غزير ومنتظم تنضج في أكتوبر.
4. **Sfax :** صنف ينمو في تونس – الأشجار أنثي – القرن بني مائل الي الاحمرار – القرون مستقيمة أو منحنية قليلاً – الطول 6 بوصة (15سم) والعرض 4/3 بوصة (2سم) – المحتوي من السكريات 56.6 % متوسط الحمل – منتظم تنضج القرون في أغسطس وسبتمبر.
5. **Santa Fe :** الأشجار خنثي خصبة ذاتياً – القرون ذات لون بني فاتح – ملتفة غالباً أو منحنية قليلاً – طول القرن 7 – 8/7 7 بوصة (18 – 20سم) والعرض 4/3 بوصة (2سم) نسبة السكريات 47.5 % – الأشجار ذات حمل منتظم ومحصول جيد تجود زراعتها في المناطق الساحلية ولا تحتاج إلي ري منتظم – تنضج القرون في أكتوبر .

6. **Tontillo**: صنف منتشر في جزيرة سيشل – الأشجار خنثي – القرون ذات لون بني غامق مستقيمة يبلغ طولها 8/1 5 – 6 بوصة (13 – 15 سم) والعرض 4/3 بوصة (2سم) النكهة جيدة – الأشجار ذات حمل غزير ومنتظم – تنضج القرون في سبتمبر إلي منتصف أكتوبر .
7. **Tylliriia**: تنتشر زراعتها في قبرص – الأشجار مؤنثة – القرون ذات لون بني ماهوجني غامق – منحنية قليلاً – طول القرن 6 بوصة (15سم) والعرض من 4/3 – 1 بوصة (2 – 2.5 سم) تبلغ نسبة السكريات من 47.4 – 50.9 % – القرون ذات نكهة جيدة – الحمل غزير ومنتظم – تنضج في خلال المدة من منتصف أغسطس حتي أكتوبر وذلك طبقاً للمناطق التي تنتشر فيها زراعة هذا الصنف.
8. **Koundourka** : الأشجار غزيرة التفريع – القرون ذات لون بني فاتح – طول القرن حوالي 6.5 بوصة (17سم) العرض 4/3 بوصة (2سم) تنشق القرون طولياً – وتحتوي البذور علي نسبة 14.7 % من المادة اللائكة (اللبان) وتحتوي القرون علي 58 % من اللبان .
9. **Koumbota** : أشجار كبيرة الحجم – القرون تحتوي علي عدد قليل من البذور – ومحتوي السكريات يبلغ 53 % وتحتوي البذور علي 53 % لبان (عبده .،2019).

3- الوصف المورفولوجي لنبات الخروب

3-1 الشجرة

Ceratonia Siliqua هو نبات بري يكون على شكل أشجار مستديمة الخضرة بطيئة النمو(هيكل و عمر.،1988) مع تاج واسع نصف كروي وجذع سميك مع لحاء خشن بني وفروع متينة (BATLLE et TOUS., 1997) يصل ارتفاعها إلى 30 متر (هيكل و عمر.،1988)، ثنائية الجنس وثنائية المسكن(عبده.، 2019)، لها قمة ممتدة للغاية (SBAY., 2008)، ذات تفريع غزير أو متوسط – والتفريع صادق المحور يبلغ ارتفاعها من15 – 17متر في عمر 18 سنة، الساق قائمة يبلغ سمك الساق 85 سم (عبده.، 2019)، ويمكنها أن تعيش إلى 200 عام. تحمل البشرة طبقة سميكة من البوليفينول لحمايتها.

تثمر الأشجار مبكراً بوجه عام في عمر 7-8 سنوات ولكن البذور الجيدة لا تؤخذ إلا من ثمار الأشجار التي يتجاوز عمرها 20 سنة (هيكل و عمر.، 1988).

3-2 الثمرة

الثمرة تسمى "كاروبس"، هي قرون متدلية يتراوح طولها بين (10إلى 30 سم) وعرضها من (1إلى3 سم) (DRICI et BENSOUNA., 2017) وسمكها حوالي 1سم مع قمة حادة أو شبه حادة، بنية اللون

مع سطح متجعد بشكل ممدود، مضغوط، مستقيم أو منحني، سميك عند الغرز لامع صلب عندما يجف يحتوي علي نسبة عالية من الألياف اللب طري شبه شفاف عطري منتفخ يتم اكتمال نمو القرن في حوالي 11 شهر من التلقيح يحتوي القرن غير الناضج على نسبة مرتفعة من التانينات تعطي له المذاق القابض وعند جفاف القرن يصبح المذاق حلو ولائك. وتحتوي قرون الخروب الجافة على نكهة عطرية رائعة وترجع إلى محتويات القرن من حمض الإيزوبيوتريك حيث تبلغ نسبته حوالي 1.3% (عبده،2019)، يمتلئ كل جراب ببذور بنيّة صلبة جداً حوالي 15 إلى 20 بذرة في كل جراب (DRICI et BENSOUNA.,2017).

3-3 البذور

بذور شجرة الخروب صغيرة ومسطحة، بيضاوية الشكل تقريبًا، مع قطب قاعدي مقطوع وسحق في المنطقة القمية. تكاملها عادة ما يكون قاسيا، شهباء اللون تحتوي على 30-33 % أغلفة و 42-46% أندوسبرم و23-25% جنين(AVALLONE et *al*., 1997) تبلغ أبعادها من 8 إلى 10ملم وعرضها من 6 إلى 8 ملم بسمك من 3 إلى 5 ملم (MAHDAD., 2013). ذات لون بني غامق أو باهت لامعة ذات غلاف صلب غير منفذ للماء وتكون سائبة قبل إكتمال جفاف القرن وتصبح ذات خشخشة بعد جفافه (الحسنين.،2009).

3-4 الأوراق

ريشية تتكون من عنق طويل يحمل من 6 – 10 وريقات متقابلة و الورقة بيضاوية الشكل (SBAY., 2008) يبلغ طولها (2.5-6.25) (الحسنين .،2019) الحافة مستوية مستديرة عند القمة وهي جلدية صلبة(SBAY., 2008)، خضراء داكنة ولامعة أعلاه، خضراء شاحبة تحتها ومعروفة بدقة مع هوامش صغيرة قليلاً، ومتطلبات صغيرة. الأوراق متصلبة ولها بشرة علوية سميكة ذات طبقة واحدة، وخلاياها تحتوي على مركبات فينولية في الفجوات الكبيرة، والثغور موجودة فقط في البشرة السفلية ومرتبة في عناقيد (BATLLE et TOUS.,1997).

3-5 الأزهار

الأزهار خضراء، صغيرة الحجم (بسمك 6 إلى 16 مم)، متصاعدة ومتحدة بأعداد كبيرة لتشكل عناقيد إبطية مستقيمة، أقصر من الأوراق الموجودة في المحاور (BATLLE et TOUS.,1997).

الوثيقة (01): صور لمختلف أجزاء نبات الخروب*Ceratonia siliqua*

(شيخة بلقاسم.، 2019) .

4- التصنيف النباتي لنبات الخروب *Ceratonia siliqua L*

حسب ما جاء به (K.GéDIRA et P.GOETZ.,2019) فان نبات *C .siliqua* يتبع التصنيف التالي:

الجدول (01): التصنيف النباتي لنبات الخروب *Ceratonia siliqua L*

Règne	Plantae	**المملكة**
Sous- règne	Viridiplanatae	**تحت المملكة**
Superdivision	Embryophyta	**فوق الشعبة**
Division	Tracheophyta	**الشعبة**
Subdivision	Spermatophytina	**تحت الشعبة**
Classe	Magnoliopsida	**القسم**
Superordre	Rosanae	**فوق الرتبة**
Ordre	Fabales	**الرتبة**
Famille	*F*abaceae *(*Légumineuses)	**العائلة**
Genre	Ceratonia	**الجنس**
Espéce	*C.siliqua*	**النوع**

5- التوزيع الجغرافي

منشأ *C. siliqua* غير واضح. تم وضعها من قبل De Candolle (1883) و Vavilov (1951) في منطقة شرق البحر الأبيض المتوسط (تركيا وسوريا). ومع ذلك، اعتبر شفاينفورث (1894) الخروب مواطنًا في مرتفعات جنوب شبه الجزيرة العربية (اليمن). واقترح Mitrakos (1988) أن شجرة الخروب قد تطورت في ظل مناخ غير البحر الأبيض المتوسط. اقترح نطاقها في البرية تركيا. قبرص. سوريا ولبنان وجنوب الأردن ومصر والجزيرة العربية وتونس وليبيا وأنها تحركت غربًا في مرحلة مبكرة. يعتقد أن الخروب قد انتشر من قبل اليونانيين إلى اليونان وإيطاليا ثم من قبل العرب على طول ساحل شمال أفريقيا إلى جنوب وشرق إسبانيا، حيث هاجروا إلى جنوب البرتغال وجنوب شرق فرنسا، يتوزع نبات الخروب البري والمتجنس في الحزام الجغرافي والمناخي تقريبًا كما يزرع. تُعد أشكال السخرية التلقائية شائعة بشكل خاص على ارتفاعات منخفضة على طول ساحل البحر الأبيض المتوسط الإسباني وجنوب غرب إسبانيا وجنوب البرتغال وجزر البليار وجنوب شرق فرنسا وشواطئ جنوب إيطاليا بما في ذلك صقلية والساحل الأدرياتيكي لكرواتيا ومنطقة بحر إيجه في اليونان وتركيا، على طول السلاسل الشمالية والجنوبية لجزيرة قبرص، في

جزر مالطا، في الحزام البحري للبنان، وشمال وجنوب المغرب والساحل في تونس. ومن المرجح أن شجرة الخروب أدخلت إلى الولايات المتحدة من إسبانيا من قبل مكتب براءات الاختراع الأمريكي في عام 1854 .(BATLLE et TOUS., 1997)

الوثيقة (02): أصل وتوزيع شجرة الخروب في العالم (BATLLE et TOUS., 1997)

6- التركيب الكيميائي لنبات الخروب

المكونان الأساسيان لجراب الخروب هما (بالوزن): اللب (90٪) والبذور (10٪)، يعتمد التركيب الكيميائي للب على الصنف والأصل ووقت الحصاد (BATLLE et TOUS., 1997). ووفقا للباحثين، فمن خلال التركيب الكيميائي العام وجد أن لب الخروب يحتوي على كمية عالية من السكريات الإجمالية بين 48 و56 %، مادة السكروز التي تتراوح من 32 إلى 38 %، الجلوكوز من 5 إلى 6 %، الفركتوز من 5 إلى 7 % وتم العثور على المالتوز أيضا. بالإضافة إلى أنه يحتوي على حوالي 18٪ من السليلوز و hemicellulose. يتراوح محتوى الدهون بين 0.2 إلى 0.6 % حيث تتكون من نسب متساوية تقريبًا من الأحماض المشبعة وغير المشبعة. وتحتوي قرون الخروب الناضجة على كمية كبيرة من التانينات المكثفة (16-20 % من الوزن الجاف) (BASTON، 2016)، ومحتوى منخفض جدا من القلويدات (PAPAEFSTATHIOU et al.,2018). والرماد أيضا بين 0.9-1.3 ٪(ABBAS *et* 2016 *al.*,

ووجد ما بين 3.07 – 4.42٪ من البروتين. وقد تم الكشف عن ما مجموعه 17 من الأحماض الأمينية، بما في ذلك الأحماض الأمينية السبعة الأساسية (ألانين، جلايسين، ليسين، برولين، فالين، التيروزين والفينيل ألانين). كذلك وجد محتوى الألياف الغذائية غير القابلة للذوبان 18٪، (2011 ,.SIGGE) .بالإضافة إلى الفيتامينات التي يمكن أن نذكر من بينها فيتامينات E، D، C،B_6 ، حمض الفوليك والنياسين، (DUMITRI *et al.*, 2018)،وفيتامين B_{12}، وB_2 وفتامين A كذلك (PAPAEFSTATHIOU *et al.*,2018). وبالنسبة للتركيبة المعدنية (بالملغ في كل 100 غ من اللب) فهي:

Mn=0.4 ،Fe= 104 ،Cu = 0.23 ،Na = 13 ، Ca=307 ، K = 1100 ،Mg = 42، Zn=0.59(1997 ،. BATLLE et TOUS).

يتكون زيت مسحوق الخروب من 17 حمضًا ذهنيًا، بشكل رئيسي حمض الأوليك واللينوليك والبالمتيك وحمض الستاريك بنسبة 40.45٪ و 23.19٪ و 11.01٪ و 3.08٪ على التوالي (يوسف، المنفلوتي، وعلي .، 2013). يوجد أيضًا عدد من الحلقات في حبوب الخروب. السيكلتول الرئيسي هو D-pinitol (3-0-methyl-D-chiro-inositol) مع فوائد صحية متعددة (PAPAEFSTATHIOU *et al.*,2018).

أما بالنسبة للتركيب الكيميائي للبذور فكان كالتالي: 87.5% سكريات (مع 43.7% سكروز، 39.5% جلوكوز، 4.2% فركتوز)، الألياف 7.7%، البروتين 4.5 %، الدهون 1.4%، الرماد 2.2%،وبعض المركبات الفينولية، الألياف الغذائية والعناصر المعدنية أيضا (2016،. BASTON)

7- استعمالات نبات الخروب

تعتبر شجرة الخروب حاليًا أكثر الأشجار فاعلية بين أشجار الفاكهة والغابات نظرًا لأن جميع أجزاء الشجرة (الأوراق، والزهرة، والفاكهة، والخشب، واللحاء، والجذر) مفيدة بسبب صلابتها وتكيفها مع جميع القيود البيئية (BINER *et al* ., 2007).

من الناحية الغذائية: تُستخدم قرون الخروب تقليديًا ليس فقط في تغذية المجترات وغير المجترات، و لطالما استخدم اللب كعلف للحيوانات إلى جانب الأعلاف الأخرى مثل دقيق الشعير (AIT AIT CHITT et al., 2007)، و استخدمت أيضًا في طعام الإنسان بفضل محتواها العالي من السكريات والمركبات الفينولية (SAHLE *et al.*,1992).

يستخدم الدقيق الذي يتم الحصول عليه عن طريق تجفيف وتحميص وتشكيل القرون بعد تحريرها من بذورها، بشكل رئيسي في صناعة المواد الغذائية في تحضير العصائر الحلوة، وحمض الستريك في الشوكولاتة، والبسكويت وكبديل للكاكاو ويعتبر (BERROUGUI.,2007)، دقيق الحليب (YOUSSIF *et al*.,2000. ؛ MAKRIS and KEFALAS.,2004 ؛ DAKIA *et al* .,2007) والذي يمكن استخدامه كمكون في بعض الأطعمة، مثل الكعك، الحلويات والآيس كريم والمشروبات. يتم إستخراج صمغ الخروب من زلال البذور، ويستخدم في صناعة المواد الغذائية كمثخن معروف تحت الرمز القياسي E410، في صناعة الحلويات، وصناعة البهار العطري المسمى nětětu، و بديل عن البكتين، الجيلاتين، وكمثبت غذائي في مختلف المجالات (الجبن، الصلصة، المايونيز، الآيس كريم، أغذية الأطفال، منتجات الألبان المخمرة ...)، مصدر جيد للكربوهيدرات التي يتم استكشافها حاليًا كمواد لإنتاج الإيثانول الحيوي، مع العديد من المزايا مقارنة بالمحاصيل الزراعية الأخرى الغنية بالسكر (VOURDOUBAS *et al*.,2002؛ TURHAN *et al*.,2010)

من الناحية العلاجية: يستخدم لحاء وأوراق هذا النوع في الطب التقليدي كمضاد للالتهابات ومضاد للقرحة، ملين، وكمضاد للإسهال وذلك لقدرته على حفظ الماء في الأمعاء ولهذا يكون الخروب منظماً لحركة الأمعاء والسوائل الموجودة فيها، نقص السكر في الدم والتهاب المعدة والأمعاء عند الرضع. بالإضافة إلى ثراء المركبات الفينولية لأوراق *C.siliqua* والقرون التي لها خصائص مزيلة للقلق ومهدئة. وأيضًا نشاطًا مضادًا للأكسدة بفضل تركيبته الغنية بالبوليفينول ومضادًا للتكاثر ضد سرطانات الإنسان (سرطان غدة عنق الرحم والبروستاتا. سرطان الثدي والقولون وما إلى ذلك)، أو ضد الضرر التأكسدي الناجم عن رابع كلوريد الكربون في الأنسجة، كما يستعمل لحاء شجرة الخروب في وقف النزيف وذلك لاحتوائه على التانين القابض للأوعية الدموية (DUMITRI *et al* .، 2018).

أفاد باحثون بأن قرون الخروب هي غذاء طبيعي وملين لحالات الإمساك خصوصا عند الأطفال، حيث تقلل حالات القيئ، وتساعد على تقليل التهابات الجيوب الأنفية والأحبال الصوتية، كما أنها تنشط الدورة الدموية، وتقوي الجهاز المناعى. ويستعمل مشروب ثمار *Ceratonia siliqua* في الطب الشعبي لعلاج حالات الروماتيزم وارتفاع درجة الحرارة، تخفيف ألم الأسنان، تنقية الدم وإزالة الإرهاق، وتفيد ثمار الخروب الفجة في إزالة الثآليل من جذورها (القحطاني.،2011).

يوصى باستخدام اللب ضد مرض السل الرئوي وأمراض الشعب الهوائية. نظرًا لكونه غنيًا بالمواد المؤكسدة (السكريات والمركبات الكيماوية والبروتينات والألياف والبوتاسيوم والكالسيوم، فإن هذا النبات

معروف في العلاج بخفض الكوليسترول، ومضادات التكاثر، ومضادات الإسهال، واضطرابات الجهاز الهضمي، وقد أظهرت دراسات تجريبية أخرى قدرتها على قتل الجراثيم (BERROUGUI., 2007).

ولصمغ الخروب فوائد طبية منها: معادلة الحمضية أو القلوية في الأمعاء وامتصاص بعض السموم والأعفان الموجودة فيها، كما يثبط نمو بعض الجراثيم ويستعمل شراب الخروب في الطب الشعبي لتخفيف حدة السعال حيث يعمل الصمغ الموجود فيه على ترطيب وتوسيع الشعاب التنفسية، وتنصح المرضعات بتناول الخروب أو الشراب المصنوع منه لإدرار الحليب وتعزيز قوته الغذائية، كما ينصح المرضى المحتاجين للتخلص من الماء الزائد في أجسامهم بتناول الخروب والأطعمة المصنوعة منه وذلك بزيادة إدرار البول، (عبده.،2019) .

من الناحية الصناعية: يتم استغلاله أيضًا في قطاع مستحضرات التجميل (الصابون، الكريمات، معاجين الأسنان ...) لقدرته على تكوين محلول شديد اللزوجة، وتركيز منخفض بسبب خواصه في التثخين والاستحلاب والتثبيت، كما يستخدم صمغ بذور الخروب في الطباعة والتصوير والبلاستيك والحبر والتشميع واستخدامات النسيج الأخرى (BATTLE et TOUS.,1997).

أما بالنسبة للخشب، فهو يحظى بشعبية كبيرة في صناعة الخزائن وصنع الفحم. ويستخدم اللحاء والجذور في الدباغة بفضل محتواها من التانينات. إنه صلب، أحمر اللون، ذو قيمة عالية في الفحم والنجارة (HARIRI et *al* .,2009).

من الناحية البيئية: تستعمل الأشجار لإعادة التحريج وإعادة تشجير المناطق المتأثرة بالتعرية والتصحر (.REJEB *et al*.,1991 ؛ BINER *et al* .,2007) وفي تشجير الغابات ومقاومة الحرائق وللتخفيف من ظاهرة الإحتباس الحراري(سامي وأحمد امراجع .،2018). كما أنها تستخدم كمصنع للزينة على طول جوانب الطرق والحدائق (BATLLE et TOUS., 1997).

الفصل الثاني

منتجات الأيض الثانوي

مدخل:

جميع الكائنات الحية تنتج مواد الأيض الذي يوفر لها الجزيئات الأساسية (الأحماض النووية،الدهون، البروتينات، الأحماض الأمينية، الكربوهيدرات) في المملكة النباتية بالإضافة إلى هذا تنتج النباتات عدد كبير من المركبات والتي ليست مستمدة بشكل مباشر من التمثيل الضوئي وإنما تأتي نتيجة للتفاعلات الكيميائية اللاحقة، وتسمى هذه المركبات بمواد الأيض الثانوي (MOHAMMDI.,2011)المتمثلة في المركبات الفينولية والتربينات والمركبات الآزوتية (القلويدات)....إلخ (ZEGHEB.,2013)

المنتجات الطبيعية

هي مركبات عضوية من أصل طبيعي، فهي مواد أنتجتها الكائنات الحية، وأكثر هذه المواد أهمية هي تلك التي تؤدي دورا في تفاعلات الإستقلاب، والتي يتم فصلها من النباتات والكائنات الحية الدقيقة. (العابد..،2009)

تصنف المنتجات الطبيعية إلى قسمين كبيرين:

- ✓ **القسم الأول: منتجات الأيض الأولية (Métabolites primaire)**

مركبات تدخل في التفاعلات الأولية وتشير في الغالب إلى العمليات الأيضية الأساسية (Métabolisme Primaire) التي ينتج عنها الأحماض الكربوكسيلية البسيطة والأحماض الأمينية، السكريات، الدهون، والبروتينات والأحماض النووية.

وتعتبر مركبات هذا القسم هي المواد البادئة لمركبات تؤلف في مجملها القسم الثاني المتمثلة في مركبات الأيض الثانوي (Métabolisme secondaire).

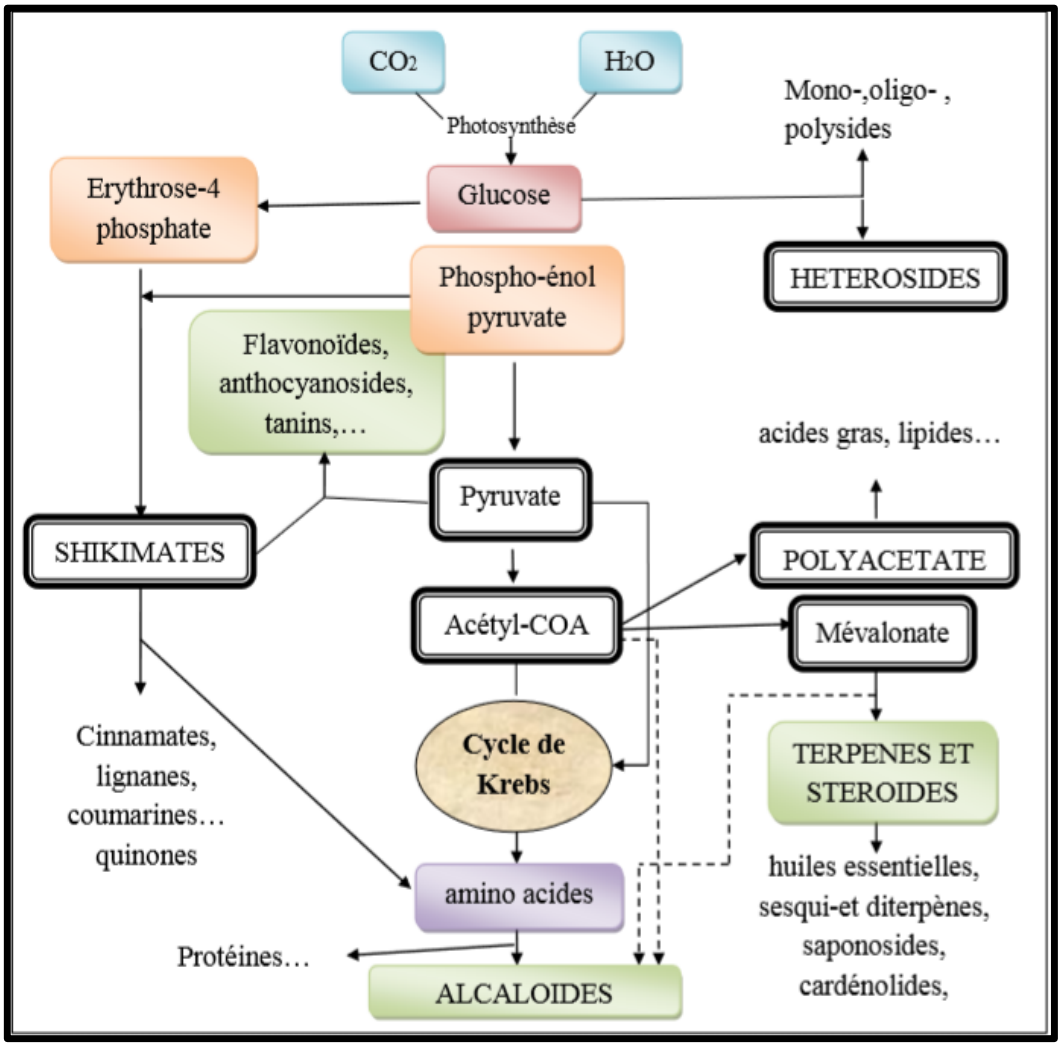
- ✓ **القسم الثاني: منتجات الأيض الثانوية (Métabolites secandaires)**

هناك ثلاث مواد رئيسية: حمض الشيكميك، الأسيتات والأحماض الأمينية، تعد وحدات بناء الأيض الثانوي.

تقسم منتجات الأيض الثانوي إلى أصناف متعددة وذلك حسب العديد من الخواص فقد تصنف أحيانا وفقا للمصادر الطبيعية التي تنتج منها وأحيانا أخرى على حسب تأثيرها الفيزيولوجي (إذ يستخدم بعضها كمضادات حيوية والبعض الآخر كمسكن للآلام)، كما تصنف أيضا تبعا لتركيبها البنائي إلى:

- ✓ التربينات ومشتقاتها
- ✓ المركبات الفينولية

- ✓ القلويدات
- ✓ الزيوت الطيارة (مخدمي.،2014)



الوثيقة (03): العلاقة بين الأيض الأولي و الثانوي (BRUNETON.,2009)

1-المركبات الفينولية

تعتبر المركبات الفينولية من أكثر المركبات انتشارا في المملكة النباتية حيث تم التعرف على أكثر من 8000 مركب فينولي (جرموني.،2009)، و تعرف المركبات الفينولية على أنها مركبات فعالة ذات أوزان جزيئية منخفضة حاوية على حلقة أروماتية تحمل واحدا أو أكثر من مجاميع الهيدروكسيل (PANDEY et RIZVI., 2009) وتنقسم إلى عدة مجموعات أهمها:

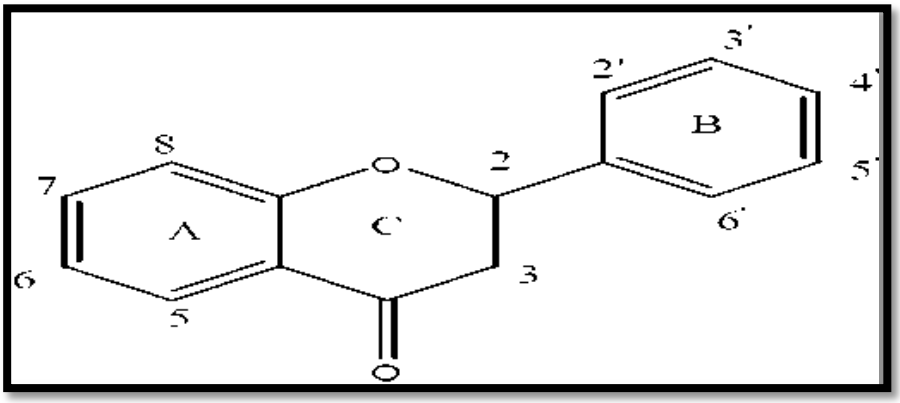
1-1 الأحماض الفينولية

الأحماض الفينولية هي مركبات قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية .تنقسم إلى ثلاث أقسام أحماض فينولية بسيطة وأحماض مشتقة من حمض البنزويك وأحماض فينولية مشتقة من حمض السينامك

يعتبر القسم الأول نادرا ماعدا مركبات Hydroquinone التي توجد في العديد من العائلات النباتية،أما الأحماض المشتقة من حمض البنزويك تتواجد عموما في الحالة الحرة، كما يمكن أن ترتبط بسكريات أو أسترات (حمض الغاليك) بينما تنتشر الأحماض المشتقة من السيناميك بكثرة مثل حمض caffeic الموجود في القهوة وحمض ferulic المتواجد في الأغذية الغنية بالحبوب (جرموني.، 2009).

1-2 الفلافنويدات

تمثل الفلافنويدات القسم الأكبر من الميتابوليزم الثانوي للنبات وهي عبارة عن مركبات نباتية من عائلة عديدات الفينول تنتشر في أجزاء النبات المختلفة تحوي جميع الفلافنويدات 15 ذرة كربون في هيكلها الأساسي موزعة على 3 حلقات كما في الصيغة إذ تتميز ببنية C_6- C_3-C_6 والفلافنويدات عموما مركبات ملونة هي المسؤولة عن لون الأزهار والثمار والأوراق (ميثاق الجبر.، 2010).



الوثيقة (04): الهيكل العام للفلافنويدات (شباح.،2008)

1-2-1 الخصائص البيولوجية

في الوقت الحاضر تم دراسة خصائص العلاجية للفلافونويدات، حيث تم التعرف على الأنشطة البيولوجية والدوائية لها والمتمثلة في إستعمالها كمضادات للحساسية والتشنج مثل فلافونيات الزعتر" *Thymus vulgaris*" وهي مدرة للبول، ومضادة أيضا للبكتيريا والفيروسات. لها مجال واسع من الأفعال فهي مضادة للإلتهابات ومفيدة خاصة في الحفاظ على الدوران الصحي. كما لها القدرة على خفض نفاذية الشعيرات الدموية وتقوية مقاومتها، وتلعب دور مثبطات الإنزيمات مثل مثبط "ايلاستاز"elastase". (حميدي.، 2014).

3-1 التانينات

مركبات عضوية متعددة مجاميع الفينول توجد في الأجزاء المختلفة من النبات وفي جميع مراحل النمو حيث تكون معقدات مع مكونات النباتات مما يقلل من توفرها والإستفادة منها. (جندل.، 2011) تتميز بقابليتها للذوبان في الماء، وهي مركبات تستخدم في الدباغة فهي تحول جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن، وقليلة النفاذية، ويعزى ذلك على قدرتها على الإتحاد بالبروتينات (زمالي.، 2007).

1-3-1 التانينات المتحللة Les Tannins Hydrolysables

حسب (بن ذهيبة.، 2013) فإن التانينات المتحللة هي عبارة عن هي أسترات لسكر وحمض الفينول، عند إماهتها ينتج جزء سكري في أغلب الأحيان يكون غلوكوز glucose وجزء فينولي مشكل من حمض الجاليك (acide gallique) أو حمض الإيلاجيك (acide ellagique)
(بن ذهيبة .،2013).

2-3-1 التانينات المكثفة Les Tannins condensée

هي مركبات ناتجة من بلمرة لجزيئات أولية تملك البنية العامة للفلافونويدات، حيث ترتبط فيما بينها بروابط كربون – كربون (c-c) مما يجعلها صعبة الانحلال (بن ذهبية.،2013) وترجع خواص التانينات المتراكمة إلى طبيعة الجزيئات الأولية الداخلة في تركيبها وخاصة الوزن الجزيئي، حيث أن الخواص الطبيعية لعينة ما أي قابليتها للارتباط بالبروتين تزداد من (bimere-decamere) وتنقص بعدها، فيمكن للجزيئات الكبيرة أن تكون عديمة الذوبان. (قمولي.،2011).

3-3-1 دور وأهمية التانينات البيولوجية

للتانينات خصائص بيولوجية مهمة، فهي تستخدم طبيا كمضادات للتسمم بالقلويدات والمعادن الثقيلة، كما تستعمل كمواد قابضة في حالات الإسهال ومعالجة الأمراض الإشعاعية، وعرفت أيضا بخاصيتها المضادة للالتهاب ولها دور أيضا في وقاية النبات من الأمراض التي تسببها البكتيريا والفطريات (عودة .، 2014).

2-القلويدات

القلويدات عبارة عن مواد عضوية أزوتية ذات حلقة غير متجانسة، يتم تخليقها من الأحماض الأمينية حيث تم معرفة أكثر من 12000 قلويد موجود في حوالي 20% من الأنواع النباتية، عدد قليل فقط تم استغلاله في أغراض طبية. ينتهي اسم معظم القلويدات بمقطع –ine– خاصة المستعملة في الطب

والصيدلة (CROTEAU., 2000)، ولا يقتصر وجود القلويدات على جزء محدد من أجزاء النبات فقد يوجد في البذور، الثمار والأوراق، وقد توجد بصورة حرة أو على شكل أملاح لبعض الأحماض الموجودة في النباتات حيث تحميها من الحشرات، والحيوانات آكلة العشب، ولبعض القلويدات وظيفة تنظم نمو النباتات، كما أنها مخزن للعناصر الضرورية التي قد يحتاج إليها النبات في ظروف معينة، ومن أهم هذه المواد النتروجين. (الشافعي.،2014).

2-1 الخصائص العامة

القلويدات مواد صلبة متبلورة عديمة اللون غير متبخرة لا تذوب في الماء ولكنها تذوب في المذيبات العضوية (الايثر، الكلوروفورم، الكحول). كما توجد بعض القلويدات بشكل سائل تذوب في الماء مثل النيكوتين " Nicotine " وقد تكون ملونة باللون الأصفر، وأغلب هذه القلويدات لها طعم مر وفعالة بصريا وتحتوي على ذرة أزوت أو أكثر ضمن تركيب حلقي. تملك أوزان جزيئية تصل إلى 900غ /مول.

الأسس المتبلورة تحرف الضوء المستقطب لديها درجة إنصهار مرتفعة، لا تتفكك في أقل من 200°م الميزة الأساسية للقلويدات وهي تشكيل الأملاح مع الأحماض المعدنية والعضوية. (حميدي.،2015).

3-الكومارينات

الكومارينات هي مجموعة من المركبات الفينولية يعبر عنها بالصيغةC_6-C3، تعرف باسم «Coumarou» وهو الاسم العام للنبات (*Dipteryx odorata* willd , Fabaceae) الذي عزل منه الكومارين لأول مرة سنة 1820 (DIGHE *et al*., 2010).

تمتلك الكومارينات عدة أنشطة بيولوجية فهي مضادة للتخثر، مضادة للميكروبات، مضادة للالتهابات، مضادة للأكسدة، مضادة للسرطان، مضادة للفيروسات، ومضادة للملاريا. (SAHOO *et al*., 2012).

4- الراتنجات

هي عبارة عن مواد كيميائية مختلفة منها الكحولية والفينولية والحمضية وغيرها، وهي مواد سائلة تتحول إلى صلبة عندما تخرج من النبات إلى الضوء والهواء، وهي تفرز من أنسجة بعض النباتات، وتكون على هيئة دموع صغيرة. (القحطاني.،2008)

5- التربينات

هي مركبات هيدروكربونية غير مشبعة قابلة للاشتعال تدخل في بنائها وحدة Isoprene (C5H8)، وتعرف كيمائيا باسم (2-methyl-1,3-butadiene)، ترتبط وحدات الإيزوبرين غالبا باتحاد رأس إلى ذيل وتشمل التربينات على عدد كبير من المواد الهامة للنبات، أهمها الزيوت الطيارة والكاروتينيدات والمطاط

وبعض الهرمونات، إذ أحصى العلماء أكثر من 40000 مركب تربيني في الطبيعة معظمها ذات الأصل النباتي (MICHAEL.,2010).

6- الزيوت الطيارة

الزيوت الطيارة هي مركبات تتبخر عند تعرضها للهواء على درجات الحرارة العادية كما أنها تتطاير مع بخار الماء (حمزة.، 2006). لها مظهر زيتي، يتم الحصول عليها من النباتات العطرية بواسطة العديد من طرق الإستخلاص. وهي قابلة للذوبان في الدهون والمذيبات العضوية، كثافتها أقل من كثافة الماء، تتشكل الزيوت الطيارة في الكثير من النباتات كمنتجات أيض ثانوية. لها خصائص وأساليب إستخدام محددة أعطت بذلك فرعا جديدا في التداوي بالأعشاب :la phytothérapieوهو طب الروائح l'aromathérapie تتواجد الزيوت الطيارة في البروتوبلازم le protoplasme على شكل مستحلب وهي تميل إلى التجمع في قطرات كبيرة الحجم (زردومي.،2015).

7- الصابونوزيدات

هي مواد عضوية تقع في قائمة الغليكوزيدات تتكون من جزء كربوهيدراتي وجزء غير كربوهيدراتي، ذات طعم مر لاذع، تعطي رغوة في المحاليل المائية عند تحريكها أو ضخها، وتفيد الصابونينات في تقليل كمية السكر والدهون التي تمتصها الأمعاء الدقيقة وكذلك المواد السامة كالرصاص والزئبق، والصابونينات سامة إذا ما أعطيت في الوريد حيث تعمل على تحليل كرات الدم الحمراء. وتقسم الصابونينات إلى نوعين: صابونينات ثلاثية التربينويد و لها تأثيرات علاجية تساعد على امتصاص المواد الغذائية، والصابونينات الستيرويدية لها تأثيرات هرمونية واضحة مثل الحلبة (الشافعي.، 2014).

الفصل الثالث

الدراسة البيولوجية

1-الإجهاد التأكسدي

الإجهاد التأكسدي هو حدوث إختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة/مولدات الأكسدة لصالح هذه الأخيرة. هذا الإختلال يعود لعدة أسباب منها: الإنتاج المفرط الداخلي لمولدات الأكسدة ذات أصل إلتهابي أو نتيجة نقص غذائي لمضادات الأكسدة أو نتيجة التعرض إلى عوامل محيطية (التبغ، الكحول، الأشعة غاما، المبيدات العشبية، الأشعة فوق البنفسجية، معادن سامة)، (جرموني.، 2009).

1-1 تعريف الجذور الحرة

الجذور الحرة عبارة عن ذرة أو مجموعة من الذرات تحتوي على إلكترون غير مزدوج على الأقل، وعندما يتحول الإلكترون من مزدوج إلى غير مزدوج فإن خطره يزيد ويصبح غير مستقر، وعموما فإن الجذور الحرة تنتج طبيعيا من خلال التفاعلات الحيوية داخل الجسم والذي يحاول أن ينظم تركيزها، ولذلك فإن تواجدها في الدم بتركيز منخفض يعتبر أمرا طبيعيا ولكن المشكلة تكمن عندما يزيد تركيزها داخل الجسم البشري (حميدي.، 2014).

1-2 أنواع الجذور الحرة

1-2-1 الجذور الأوكسجينية

❖ **جذر فوق الأكسيد Superoxide anion $O2^{\bullet -}$**

وهو عبارة عن جذر أحادي مشحون بشحنه سالبة، وينتج عن إختزال الأكسجين الجزيئي الذي يستقبل إلكترونا أثناء التفاعل ويتطلب طاقة (محمد بو عبد الله.،2011).

$$O_2 + 1é \longrightarrow O_2^{\bullet -}$$

❖ **جذر فوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide**

ينتج النوع H_2O عن عملية دسمتة(dismutation) لأيون $O_2^{\bullet -}$ بواسطة إنزيم Super oxide (SOD) dismutase حسب التفاعل التالي (VINATIER et *al*., 2010).

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

يعتبر من الأنواع الأكسيجينية الأكثر سمية، لأن غياب شحنة عليه يجعله قابل للمرور عبر الأغشية البيولوجية، كما يمكن لـ H_2O_2 أن يتحول إلى جذر $OH^{\bullet}$ في وجود بعض أيونات المعادن وفقا لتفاعل Fenton بتفاعله مع O_2^- حسب المعادلة (SATO et *al* , 2011).

$$H_2O_2 + O_2^{\bullet -} \xrightarrow{Fe^{+2}/Cu^{+2}} OH^- + OH^{\bullet} + O_2$$

❖ **جذر الهيدروكسيل($OH^{\bullet}$)**

يمكن أن يتكون منH_2O_2 في تفاعل غير إنزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديدوز(Fe^{+2})، ويسمى هذا التفاعل بتفاعل Fenton. إن جذر الهيدروكسيل$OH^{\bullet}$ هو جزيء نشط جدا ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية واللبيدات وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلفا للأنسجة (محمد بوعبد الله.، 2011).

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH^{\bullet} + Fe^{+3} + OH^-$$

1-2-2 الجذور النيتروجينية

يتم إنتاجNO في الكائنات الراقية بأكسدة ذرة guanido-nitrogen النهائيةL-arginine بواسطة إنزيم NO synthase ويمكن لـNO أن يتحول إلى مختلف الأنواع النيتروجينية النشطة الأخرى مثل كاتيون nitrosonium (NO^+) أنيونnitroxyl (NO^-) أوperoxynitrite ($ONOO^-$)، (إراتني.، 2008).

1-3 مصادر الأنواع الأوكسيجينية النشطة

تنشأ الجذور الحرة في جسم الإنسان من مصادر داخلية Endogène , وخارجية Exogène وتزداد في حالات المرض والإرهاق النفسي والجسدي وبتقدم العمر شيئاً فشيئاً، ويعتبر النشاط الأيضي داخل الخلايا مصدراً داخلياً للجذور الحرة، كما أن العديد من المركبات في الجسم مثل الأدرينالين والدوبامين وبعض مكونات الميتوكوندريا وهذا خلال التنفس الخلوي حيث تخلق الميتوكندري الـ ATP عن طريق اختزال الأكسجين الجزيئي من خلال سلسلة نقل الإلكترونات، و أيونات الـ H^+ على مستوى الغشاء الداخلي للميتوكندري وينتج كذلك أنيون$O_2^{\bullet -}$ الذي يتحول فيما بعد الى H_2O_2 أو $HO^{\bullet}$ يمكن أن تتفاعل مع الأكسجين لإنتاج جذر فوق الأكسيد والذي يتم إنتاجه كذلك داخل الجسم من خلايا الدم البيضاء كآلية دفاعية ضد البكتيريا.

كما تنشأ الجذور الحرة في جسم الكائن الحي من عدة مصادر خارجية أهمها :الأشعة فوق البنفسجية وكل أنواع التدخين والمبيدات والمواد البتروكيميائية والمذيبات كالبنزين وبعض العقاقير وأشعة X والقوى الكهرومغناطيسية المنبعثة من خطوط الضغط العالي والمولدات الكهربائية والهواتف الجوالة وشاشات التلفزيون والحاسب الآلي وبعض المركبات الموجودة ضمن الأطعمة المأكولة والغازات المنبعثة، إننا لا

نستطيع إيقاف تكون الجذور الحرة، لأنها جزء من عملياتنا الأيضية وحياتنا اليومية في هذا العالم الصناعي (محمد بو عبد الله.، 2011).

1-4 أضرار الإجهاد التأكسدي

الإجهاد التأكسدي هو السبب الرئيسي في إحداث العديد من الأمراض: السرطان، تكثف عدسة العين، الشيخوخة المبكرة، مرض السكري، Parkinson،Alzheimer الروماتيزم، الإلتهابات المعدية-المعوية، أمراض القلب والشرايين و القرحة المعدية (عمر.،2010).

- ✓ أمراض الكلى.
- ✓ الأمراض الجلدية.
- ✓ الاضطرابات العصبية.
- ✓ أمراض الكبد (DROG.,2002 ; CIULEL.,1983)

2-مضادات الأكسدة

- ✓ **تعريفها**

يطلق مصطلح مضادات الأكسدة على كل مادة أو مركب له فعالية ضد الأضرار التأكسدية ويعمل على تأخير أو الوقاية من فعل الجذور الحرة، تعمل مضادات الأكسدة على الحماية بعدة طرق إما بالتثبيط المباشر لإنتاج ROS أو منع إنتشارها أو هدمها. تستعمل الخلية العديد من الأليات المضادة للأكسدة، وتختلف طبيعة هذه الأنظمة المضادة للأكسدة حسب الأنسجة والنوع الخلوي وحسب تواجدها في الوسط داخل وخارج الخلوي، تقسم الأنظمة المضادة للأكسدة إلى أنظمة إنزيمية وأخرى غير إنزيمية (بن سلامة.،2011).

2-1 مضادات الأكسدة الطبيعية

2-1-1 مضادات الأكسدة الإنزيمية

- **إنزيم Super oxide dismutase**

يعتبر إنزيم(SOD) super oxide dismutase من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للميتابوليزم الخلوي، فهو يقوم بإزالة جذر O_2^{o-} وذلك بتسريع معدل تحوله إلىH_2O_2 بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم والزنك والنحاس (بن سلامة.،2011).

ويوجد هذا الإنزيم في النباتات والحيوانات وبتركيز عالي في المخ والكبد والقلب وكريات الدم الحمراء (النسر وآخرون.، 2013).

- **إنزيم الكاتالازCatalase**

إنزيم الكاتالاز هو واحد من الإنزيمات المضادة للأكسدة، يلعب دورا محوريا في حماية الخلايا من تأثير العديد من المواد السامة وذلك من خلال أكسدتها وبالتالي تثبيط فعاليتها، ومن هذه المواد، فوق أوكسيد الهيدروجين H_2O_2 الذي يعد مضرا لجميع مكونات الخلية تقريبا، وبالتالي فإن إزالته السريعة ذات أهمية حيوية للكائنات الهوائية فهو بذلك يحفز تكوين الأكسجين والماء من جزيئات H_2O_2 (مسلم وتوميات.،2019).

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

- **إنزيم جلوتاثيون بيروكسيداز Glutathione peroxidas**

يوجد هذا الإنزيم في خلايا الدم الحمراء والأنسجة الأخرى. ويقوم هذا الإنزيم بتحفيز تكسير H_2O_2و Hydroperoxides الليبيدات بواسطة الجلوتاثيون المختزل(GSH) وH_2O_2 لتعطي الجلوتاثيون المؤكسد (GSSG) والماء، كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$H_2O_2+H_2O+2GSH \longrightarrow 3H_2O+GSSG$$

يقوم الجلوتاثيون بيروكسيداز بحماية دهون الأغشية الحيوية والهيموجلوبين ضد الأكسدة بواسطة Peroxides التي يمكن أن يستخدمها كركائز أخرى (عزري.،2013).

2-1-2 مضادات الأكسدة غير إنزيمية

- **فيتامينC**

مركب قابل للذوبان في الماء، يتواجد في السيتوزول وفي السوائل خارج خلوية، يتم صنعه في الكبد إبتداءا من الغلوكوز عند كل الثديات ولا يتم صنعه عند الإنسان. يمتلك حمض الأسكوربيك وظائف متعددة مضادة للأكسدة من أهمها إزاحة OH^o وO_2^{o-}. بإمكان حمض الأسكوربيك أن يتفاعل مع الفيتامينE (SEBASTIAN *et al.*, 2003).

- **فيتامينE**

من المركبات المضادة للأكسدة الذائبة في الدهون، يتواجد على مستوى الأغشية ويثبط سلسلة تفاعلات فوق أكسدة الدهون. تساعد بنيته في إلتقاط الجذور الحرة، فعلى الناحية الليبيدية للغشاء الخلوي تتدخل سلسلة phytyle في إزاحة الجذور الحرة، أما من الناحية القطبية على سطح الغشاء البلازمي فيعود تأثيرها إلى المجاميع الهيدروكسيلية الموجودة بها.

يتفاعل فيتامينE مع الجذور الأكسجينية اللبيدية ويمنع إنتشارها حيث يعمل على إلتقاط الجذور اللبيدية البيروكسيلية، ويتحول بدوره إلى جذر حر لكنه أقل نشاطا مقارنة بجذر البيروكسيل(LOO^-) (جرموني.،2009). يتم تجديد فيتامين (E) بفيتامين (C) الذي هو نفسه تم تجديده بواسطة الإنزيمات (FAVIER., 2003).

- **الجلوتاثيون Glutathione**

هو عبارة عن ببتيد ثلاثي تقدر تراكيزه بالميلي مولر في جميع الخلايا تقريبا كما يوجد في السوائل الخارج خلوية بتراكيز ضعيفة جدا وهو مركب مهم في النظام الداخلي المضاد للأكسدة حيث يعتبر كعامل مساعدلإنزيم glutathione peroxidase لتخفيض الإنتاج الداخل خلوي لجذور البيروكسيد كما تعمل على الإزاحة المباشرة لROS وRNS ويعملGSH على حماية البروتينات التي تحمل مجموعة SH من الأكسدة والتقاط الأيونات المعدنية مثل النحاس (جيدل.،2009).

- **الكاروتنويدات**

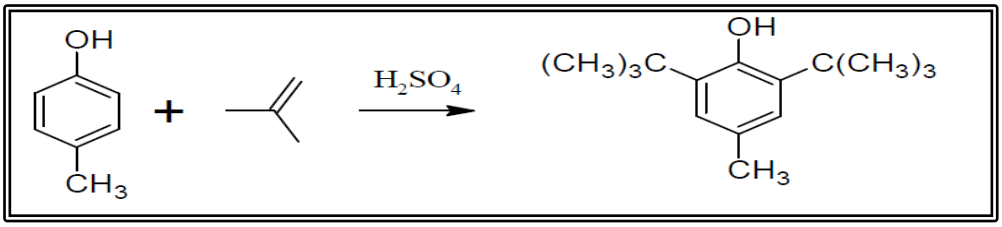
توجد الكاروتينات بشكل رئيس في النبات، وبالتحديد تلك التي تمتلك ألوانا صفراء، حمراء وبرتقالية، ويعد الجزر، المشمش، البطاطس الحلوة، الباباي والشمام من النباتات الغنية بالكاروتينات، ويوجد من الكاروتينات أكثر من600 صنف وتقسم إلى قسمين هما: xanthophylls ويحتوي على الأوكسجين، xanthophylls والكاروتين الذي لايحتوي على الأوكسجين، ولكنه يحتوي على هيدروكربونات نقية (الشافعي.،2012).

2-2 مضادات الأكسدة الإصطناعية

هي مضادات أكسدة تحضر وتستعمل تجاريا حفظ المنتجات الطبيعية وكذا في الصناعة كصناعة المطاط والمشتقات البترولية من أمثلة ذلك:(وائل غالب.،2008)

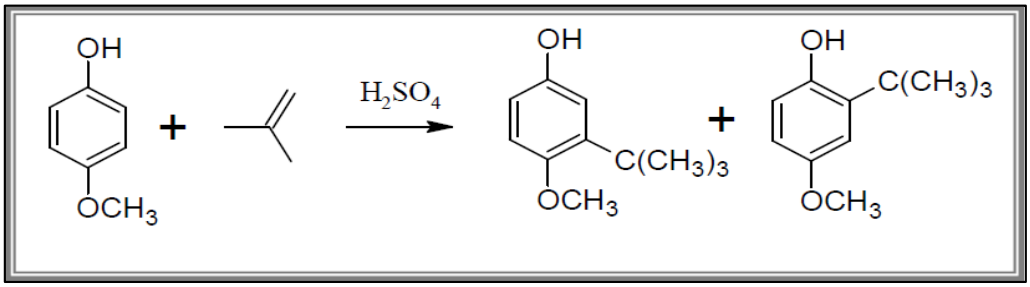
- **مركب BHT**

لتحضيره يستعمل تفاعل فريدل-كارفت ويستخدم في حفظ الأطعمة ومنع تأكسدها، ويتم وفق التحول التالي:



الوثيقة (05): بنية المركب BHT (وائل غالب.،2008).

- **مركب BHA**



الوثيقة (06): بنية المركب BHA (وائل غالب ..،2008).

الجزء التطبيقي

الفصل الأول

المواد المستعملة والطرق المتبعة

1-في الميدان

1-1 الموقع الجغرافي لولاية البليدة

تعد ولاية البليدة من أهم الولايات الشمالية الجزائر سواء من الناحية الجغرافية، السكانية أو الاقتصادية، تتوزع على مساحة إجمالية تقدر ب 1479 كم^2 وتحتوي جنوبا على جبال الأطلس (الأطلس البليدي) وشمال سهل متيجة. يحتل الأطلس البليدي جزءا مهما من المساحة الإجمالية للولاية و تغطى الغابات مساحة إجمالية قدرها 65253 هكتار، أي ما يعادل 14.14 بالمائة من مساحة الولاية، (أمقران ومباركي ،.2018).

الوثيقة (07): توضح صورة الموقع الجغرافي لولاية البليدة ومنطقة الدراسة

(حمام ملوان)،(GOOGLE MAPS,2020)

1-2 الموقع الجغرافي لولاية عنابة

تقع ولاية عنابة في الجهة الشمالية الشرقية للجزائر، يحدها شمالا البحر الأبيض المتوسط على طول 80 كم، جنوبا ولاية قالمة، ولاية الطارف من الجهة الشرقية، في حين تحيط بها ولاية سكيكدة غربا، تتربع الولاية على مساحة قدرها 1412 كم^2 وتتميز بتضاريس متنوعة، مكونة أساسا من سلسلة جبلية، هضبات وسهول تشكل الجبال أكثر من نصف تراب الولاية (52.16 %) من المساحة الإجمالية للولاية أي 365 كم^2، بينما السهول فهي قليلة نسبيا وهذا بعد انفصال ولاية الطارف عن الولاية الأم، أما المناطق الجغرافية المتبقية، فهي غير متميزة تغطي فقط 56 كم^2 أي نسبة ضئيلة ب 3,94 % (سعدان،.2005).

ومناخ الولاية هو مناخ البحر الأبيض المتوسط الذي يتميز بصيف حار وشتاء ممطر أي يقع في منطقة بيومناخية تجعله يمتاز بنطاق رطب ونطاق شبه رطب.

وبذلك فهذا الموقع يشكل همزة وصل بين ولايات الوطن – ناهيك عن الشريط الساحلي الذي يميزه شريط غابي كثيف وهذا كله جعل من الولاية ذات مناظر خلابة ومتنوعة المظاهر والأشكال (مريخي.،2010).

الوثيقة(08): صورة توضح الموقع الجغرافي لولاية عنابة ومنطقة الدراسة (البوني).

(GOOGLE MAPS,2020)

1-3 المادة النباتية

في هذا البحث استعملنا ثمار نبات الخروب حيث جمعنا عينة ولاية البليدة من منطقة حمام ملوان الذي يقع شمال شرق عاصمة الولاية ويبعد عنها بحوالي 34 كلم يبلغ تعداد سكانه حوالي 10 ألاف نسمة، (أمقران ومباركي.، 2018) .أما عينة ولاية عنابة فكانت من منطقة البوني والتي تعد مقرا للبلدية والدائرة في آن واحد، تبعد عن مدينة عنابة عاصمة الولاية بحوالي خمس كم من الجهة الجنوبية الشرقية، كما يمتد تجمع البوني بموازاة مع الطريق الوطني رقم : 16 عنابة الحجار على طول 2,5 كم، فمركز البوني يحده من : الشمال، التجمع الثانوي بوخضرة (بوحمرة سابقا) – الغرب منطقة السوق ذات المنفعة العامة الشرق : الطريق الوطني رقم 16 (عنابة الحجار) الجنوب : التجمع الثانوي بوزعرورة وسيدي عمار(سعدان .،2005).

2- في المخبر

- **الطرق المستعملة لتحضير المادة النباتية**

حضرت المادة بواسطة الطرق الموضحة أدناه:

الجمع

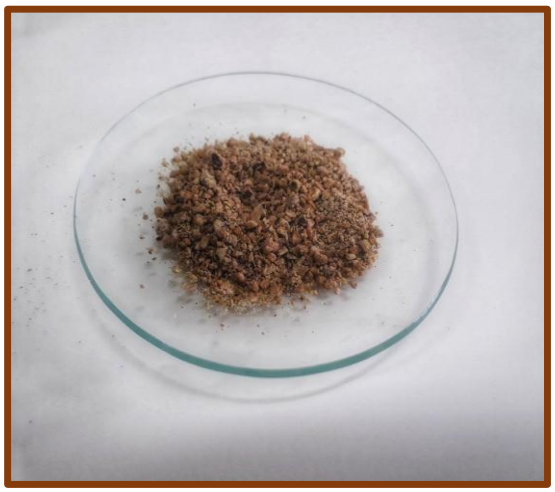
تم جمع كلا العينتين بتاريخ 2019/08/08 من منطقتي حمام ملوان والبوني.

التجفيف

بعد عملية الجمع تم غسل ثمار قرون الخروب بماء الحنفية جيدا، ثم وضعت في مكان بارد وبعيد عن أشعة الشمس لحين استعمالها.

الطحن

قمنا بطحن القرون جزئيا بآلة كهربائية بعد التأكد من جفافها كليا ونزع البذور منها، حيث يتم الحفاظ على المسحوق في قارورات زجاجية محكمة الغلق وبعيدة عن كل من الحرارة والضوء والرطوبة قبل استعمالها بيوم.

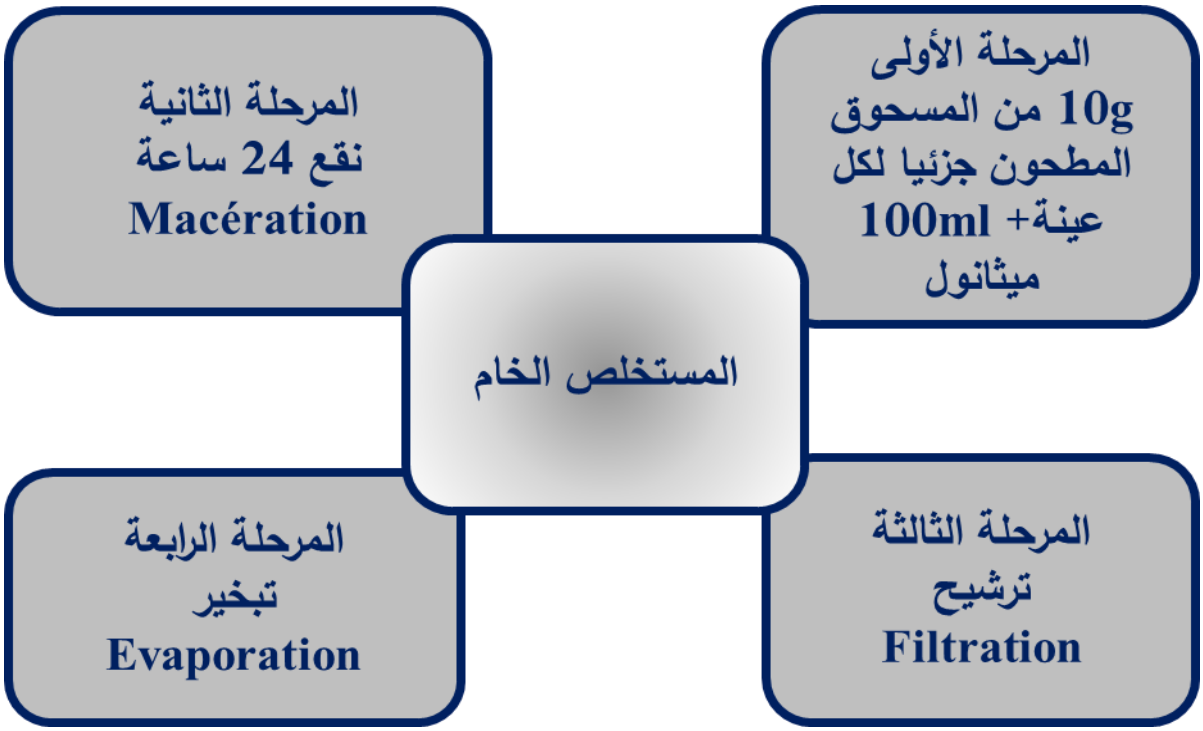


الوثيقة(09):صور توضيحية للجزء النباتي المدروس (ثمار، مسحوق)

2-1 تحضير المستخلص الكحولي لنبات الخروب

النقع هو أبسط طريقة استخلاص صلب سائل، ويكون بتلامس المادة النباتية مع المذيب مع أو بدون تقليب، (LEYBROS et FREMEAUX.,1990).

حيث تم نقع 10 غ من مسحوق المواد النباتية في 100 مل من الميثانول (70%) عند درجة حرارة المخبر بعيدا عن أشعة الشمس لمدة 24 ساعة، ثم يتم ترشيح الخليط بواسطة ورق ترشيح وتتكرر العملية مرة أخرى ثم نقوم بنقل المرشحات التي يتم الحصول عليها وتبخيرها حتى الجفاف باستخدام جهاز التبخير الدوراني عند درجة حرارة 40–50 م° بعد ذلك يتم تخزين المستخلص الجاف في الثلاجة إلى حين استعماله (REBAYA *et al*,2015).



الوثيقة (10): طريقة الحصول على المستخلص الميثانولي.

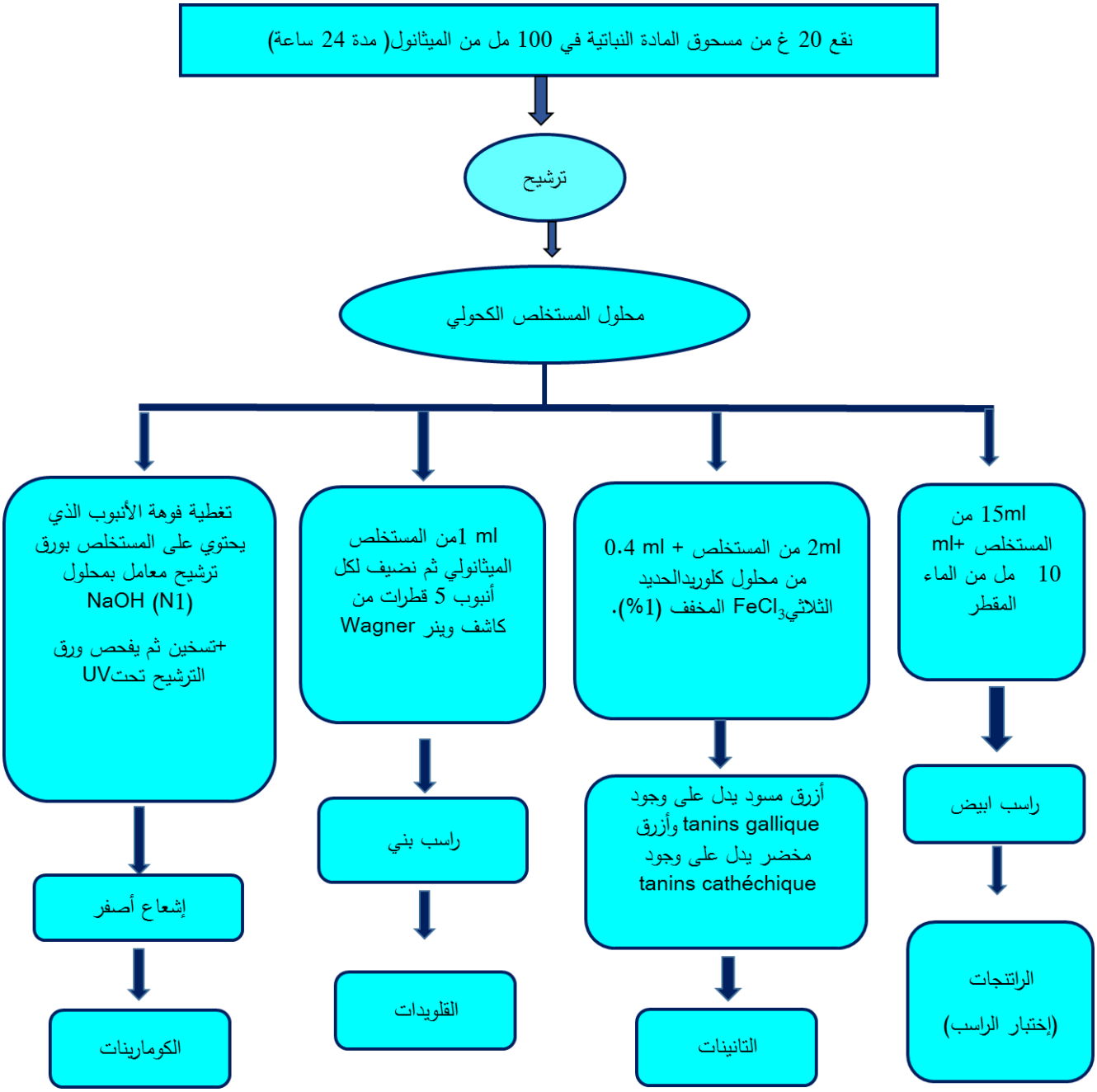
2-2 تقدير نسبة المردود

المردودية هي عبارة عن حاصل قسمة بين كتلة المستخلص النباتي وكتلة المادة الجافة المستخدمة في الإستخلاص (كتلة المادة الإبتدائية الجافة)، وتقدر حسب (GUETTAF *et al* .,2016) بالعلاقة التالية:

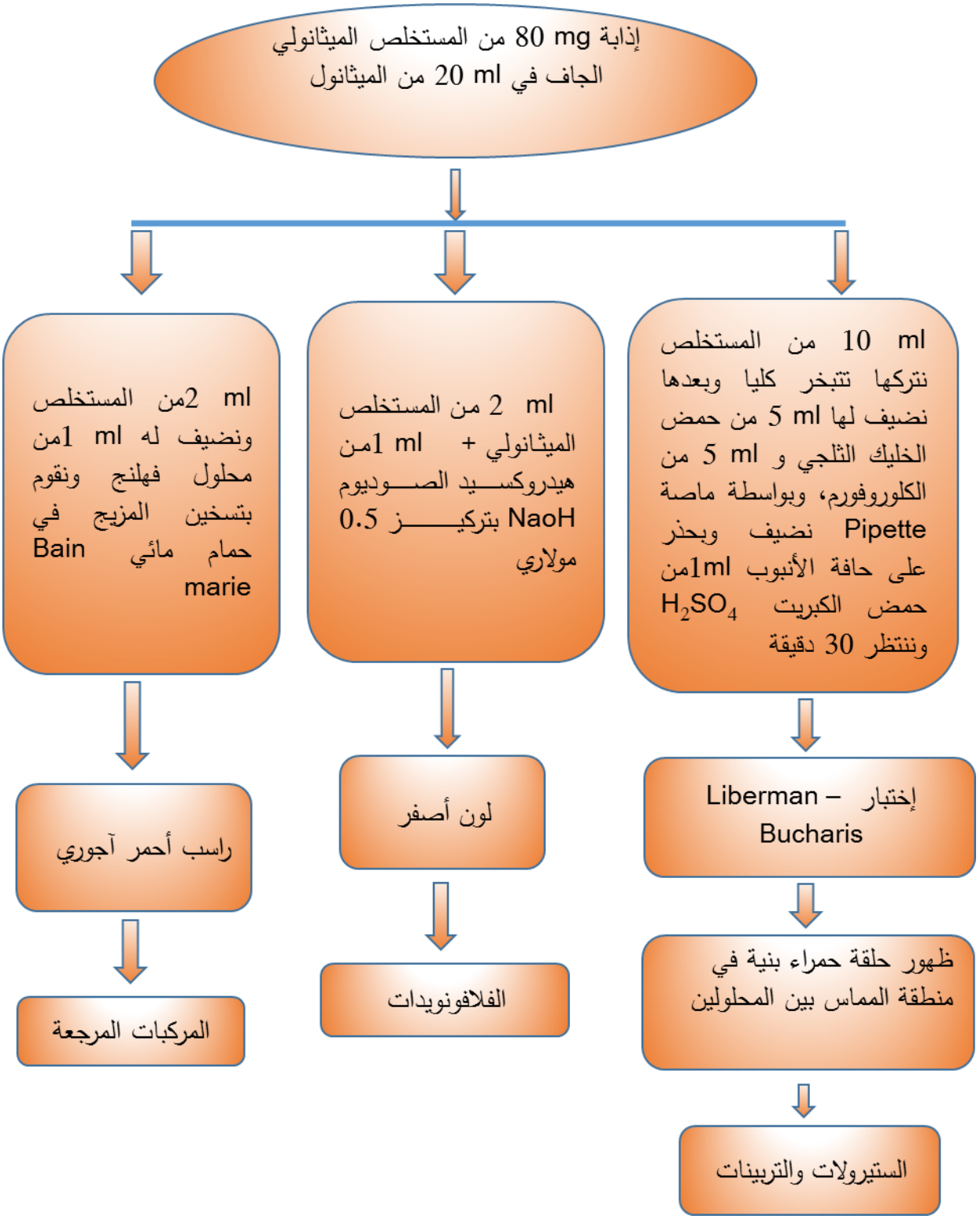
المردودية% = (كتلة المستخلص /كتلة المادة النباتية الابتدائية الجافة) * 100

2-3 دراسة المسح الفيتو كيميائي لنبات *C. Siliqua*

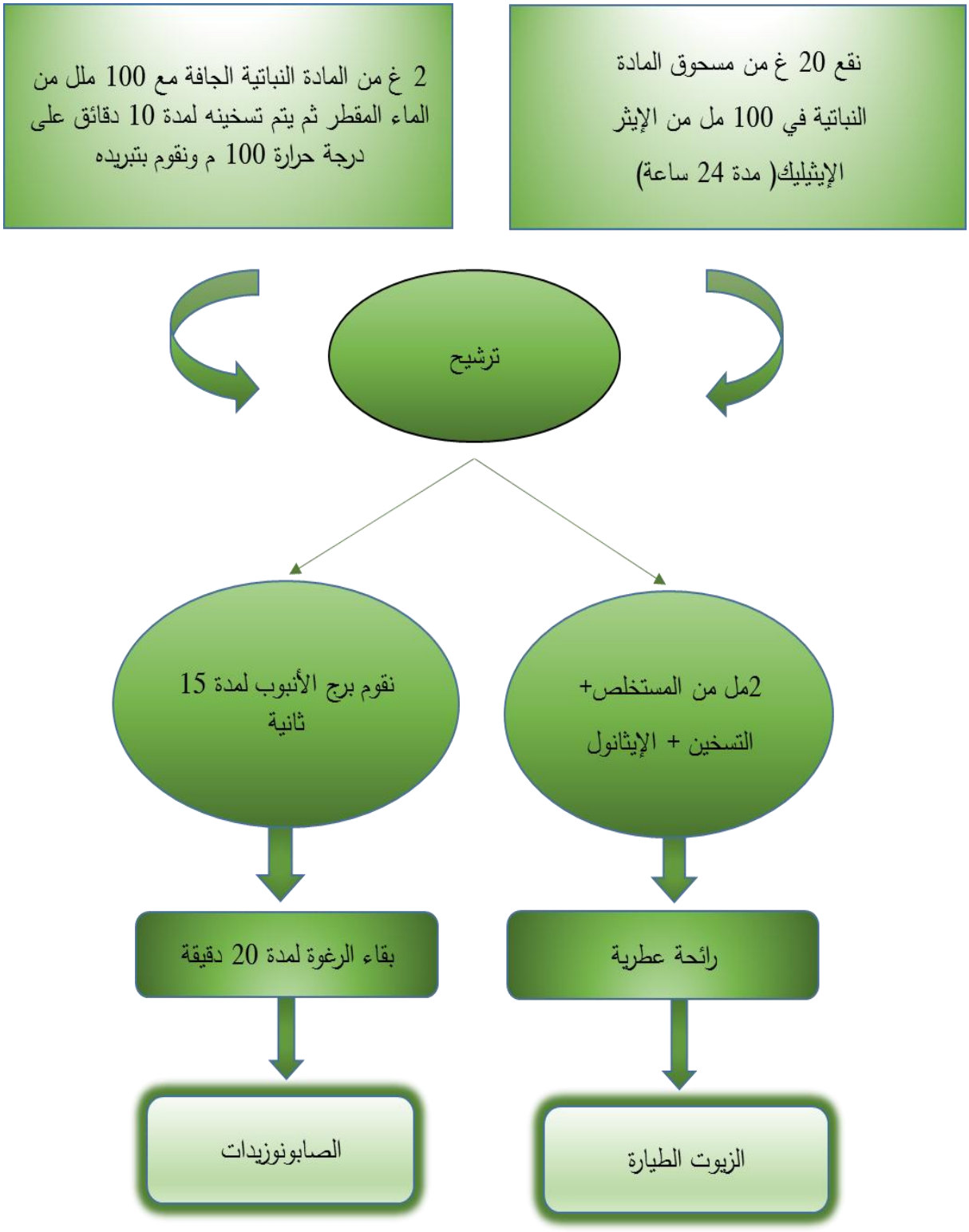
أجريت الكشوفات النوعية حسب كل من (TREASE et EVANE.,1989) و (نعمة وآخرون.،2007) (AZZI.,2013)،(DAHOU et *al*., 2003)، وتم تطبيقها على مستوى مخابر البيولوجيا في جامعة الوادي والمتمثلة في الوثائق (11)، (12) و(13) .



الوثيقة (11): الكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي في المستخلص الكحولي.



الوثيقة(12): الكشف الكيميائي عن بعض نواتج الأيض الثانوي في المستخلص الميثانولي.



الوثيقة (13): الكشف عن بعض مواد الأيض الثانوي في كلا المستخلصين المائي والإيثيري.

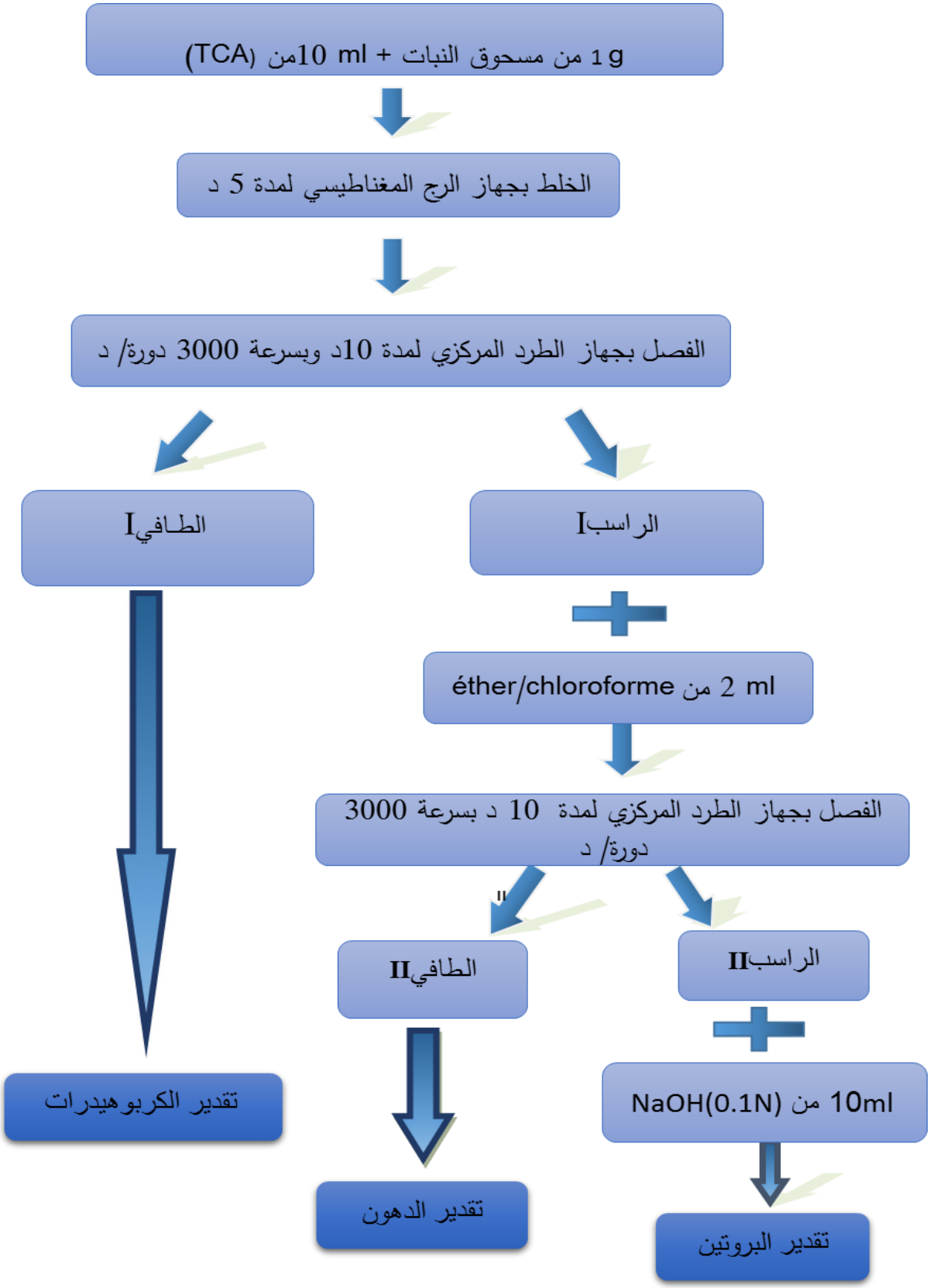
3- تقدير القيمة الغذائية في النبات

3-1 تحضير المستخلصات لتقدير مواد الأيض الأولي (البروتينات، الكربوهيدرات والدهون)

تم تقدير مواد الأيض الأولي حسب طريقة (SHIBKO *et al.*,1966) . الموصوفة من طرف (BELDI.,2007;AMIR. ,2013). وذلك باتباع الخطوات التالية :

- أخذ 1g من مسحوق النباتات المدروسة كل عينة ووضعها في بيشر.
- اضافة 10ml من(TCA) d'acide trichloracétiques (20%) ثم الخلط بجهاز الرج المغناطيسي لمدة 5 د ثم وضعها في أنابيب زجاجية.
- فصل الخليط بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 د وبسرعة 3000 دورة / د للحصول على الطافي I الذي نقدر به الكربوهيدرات.
- بالنسبة للراسب I نضيف له 4ml من محلول éther/chloroforme (V1/V1)
- فصل الخليط مرة أخرى بجهاز الطرد المركزي لمدة 10 د وبسرعة 3000 دورة / د للحصول على الطافي II الذي نقدر به الدهون.
- أما الراسب II نضيف له 10ml من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.1 N) ويرج الخليط لنقدر به البروتين.

والوثيقة (02) توضح أهم مراحل استخلاص الكربوهيدرات، الدهون، البروتين حسب طريقة (SHIBKO *et al*, 1966) من مسحوق نباتات المدروسة.



الوثيقة (14): مخطط يوضح خطوات استخلاص الكربوهيدرات، الدهون والبروتينات (BELDI,2007;AMIRA ,2013)

3-2 تقدير الكربوهيدرات

تم تقدير الكربوهيدرات وفق طريقة (DUBOIS *et al.*, 1956) الموصوفة من طرف (بن جامع ،. 2008) وذلك بإتباع الخطوات التالية مع إجراء التعديلات :

- **تحضير المحلول القياسي للغلوكوز**

إذابة 5mg من الغلوكوز في 5ml من حمض الكبريت (1N) للحصول على محلول ذو تركيز 1000 µg/ml، ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml (0، 25، 100، 200).

- **خطوات العملية للتقدير**

- وضع1ml من سلسلة المحلول القياسي المحضرة وكذلك من مستخلص العينات (الطافيI) في أنابيب اختبار زجاجية.
- إضافة 1ml من الفينول (5%) ثم 5ml من حمض الكبريت المركز.
- رج وترك العينات لمدة 15 دقيقة.
- قراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 490 نانومتر بواسطة المطيافية الضوئية.
- رسم المنحنى القياسي باستغلال نتائج قراءة المحاليل القياسية التي تحدد تركيز الكربوهيدرات في كل عينة.

3-3 تقدير الدهون

تم تقدير الدهون وفق (GOLDSWORTHY *et al*, 1972) الموصوفة من طرف (BELDI.,2007) مع إحداث التعديلات وذلك بإتباع الخطوات التالية:

- **تحضير المحلول القياسي للدهون**

إذابة 2.5 mg من الزيت (صوجا 100%) في 1ml من محلول éther/chloroforme (1V /1V) للحصول على محلول ذو تركيز 2500µg/ml، ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml(0، 500، 1000، 1500، 2000، 2500).

- **تحضير المحلول الكاشف sulfophosphovanillinique**

إذابة 76 mg من Vanilline في 11ml ماء مقطر ثم إضافة 39 ml من حمض الفوسفوريك H_3PO (85%) للحصول على حجم 50 ml.

خطوات العملية للتقدير

- وضع 0.1ml سلسلة المحلول القياسي المحضرة وكذلك من مستخلص العينات (الطافي II) في أنابيب اختبار زجاجية.
- إضافة 1ml من حمض الكبريت المركز.
- رج الأنابيب ثم تترك لمدة 10 د في حمام مائي عند 100 م°.
- بعد أن تبرد الأنابيب نأخذ منها 0.15 ml ونضعها في أنابيب أخرى.
- إضافة 1.5mlمن الكاشف المحضر (sulfophosphovanillinique).
- رج الأنابيب وتركها في الظلام لمدة 30 دقيقة.
- قراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 530 nm بواسطة جهاز المطيافية الضوئية.
- رسم المنحنى القياسي باستغلال نتائج قراءة المحاليل القياسية التي تحدد تركيز الدهون في كل عينة
- في وجود الدهون يتحول لون المحلول إلى اللون الوردي.

3-4 تقدير البروتين

تم تقدير البروتين وفق طريقة (Lowry *et al*, 1951). الموصوفة من طرف (PRABHU et KRISHMASZAMY.,2012) وذلك تبعا للخطوات التالية:

تحضير المحاليل

- **المحلول (أ):** يتم تحضيره بمزج 50 ml من كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (2%) مع 50 ml من هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.1N).

- **المحلول (ب):** يتم تحضيره بمزج 10 ml من محلول كبريتات النحاس $CuSO_4$ (0.5%) مع 10 ml من محلول تيترات الصوديوم – بوتاسيوم $KNaC_4H_4.O_64H_2O$ (1%).

- **المحلول (ج):** يتم تحضيره بإماهة محلول الفولن سيكالتو Folin-Ciocalteau المركز بنسبة (1V /1V)

- **المحلول (د):** يحضر كاشف كبريتات النحاس القاعدي بمزج 50 ml من المحلول (أ) مع 1ml من المحلول (ب).

تحضير المحلول القياسي للبروتين

إذابة 3mg من بروتين ألبومين مصل البقر (BSA) في 3ml من هيدروكسيد الصوديوم NaOH (0.5N) للحصول على محلول ذو تركيز 1000µg/ml، ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml (0، 100، 400، 600، 800، 1000).

الخطوات العملية للتقدير

وضع 0.2 ml من سلسلة المحلول القياسي المحضرة وكذلك من المستخلص. البروتيني للعينات في أنابيب اختبار زجاجية.

- إضافة 2ml من المحلول (د).
- إضافة 0.2ml من المحلول (ج).
- تترك في الظلام لمدة 30 د بدرجة حرارة المختبر.
- قراءة شدة الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 750 nm بواسطة جهاز المطيافية الضوئية.
- رسم المنحنى القياسي باستغلال نتائج قراءة المحاليل القياسية التي تحدد تركيز البروتين في كل عينة.

4- التقدير الكمي للمركبات الفينولية

4-1 تقدير الفينولات الكلية Dosage des Polyphénols (PPT)

تم تقدير محتوى المركبات الفينولية الكلية في مختلف المستخلصات باستعمال Folin-Ciocalteau حسب طريقة SINGLETON وآخرون (1996) حيث تعطي هذه المركبات لونا أزرقا بارتباطها مع حمض phosphomolybdic – phosphotungstic الذي يتم قياس امتصاصيته عند طول موجة nm 765.

الخطوات العملية للتقدير

- وضع 0.2ml من سلسة المحلول القياسي المحضرة وأيضا من المستخلصات في أنابيب اختبار زجاجية.
- إضافة 1ml من محلول Folin-ciocalteau المخفف 10 مرات.
- ترج الأنابيب جيدا، وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 دقائق.
- إضافة 0.8 ml من كربونات الصوديوم Na_2Co_3 بتركيز (02%).
- نرج ونترك الأنابيب في درجة حرارة المخبر في الظلام لمدة 30 دقيقة.
- نقيس امتصاصية المزيج عند طول الموجة 765nm في جهاز المطيافية الضوئية.

كما تم تحضير المنحنى القياسي لحمض الغاليك وذلك بإذابة 8mg من هذا الحمض في 2ml ماء المقطر للحصول على محلول ذو تركيز 4000 µg/ml ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml (5، 62، 125، 250) ثم معاملة الأنابيب بنفس الخطوات السابقة لتقدير المحتوى الفينولي، بعد ذلك قراءة شدة الامتصاصية بجهاز المطيافية ورسم المنحنى القياسي للتراكيز بدلالة شدة الامتصاصية الذي يعتبر عنه بمعادلة خطية التي تحدد تراكيز المحتوى الفينولي في عينة (بوحدة mg/g من المادة الجافة لحمض الغاليك).

4-2 تقدير الفلافونويدات Dosage des Flavonoides (FV)

تم تقدير كمية الفلافونويدات الكلية في مختلف المستخلصات حسب طريقة ORDONEZ وآخرون (2006) باستعمال ACl_3 حيث يشكل هذا الأخير معقدات مع الفلافونويدات ذات اللون الأصفر، يتم قياس كمية هذه المعقدات لونيا باستعمال جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجة 420 nm.

الخطوات العملية للتقدير

- أخذنا 1ml من كل مستخلص ونضيف لها 1ml من محلول $AlCl_3$ ذو تركيز 2%المذاب في الميثانول
- نرج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة واحدة.
- نقوم بقياس الامتصاصية في طول موجة 420nm

كما حضر المنحنى القياسي للكرسيتين وذلك بإذابة 5mg من هذا الحمض في 10ml ميثانول للحصول على محلول ذو تركيز 500µg/ml ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز (150،100،50،25،0µg/ml) ثم معاملة الأنابيب نفس الخطوات السابقة لتقدير المحتوى الفلافونويدات بعد ذلك قراءة شدة الامتصاصية بجهاز المطيافية ورسم المنحنى القياسي للتراكيز بدلالة شدة الامتصاصية الذي يعبر عنه بمعادلة خطية التي تحدد تراكيز الفلافونويدات في كل عينة (بوحدة mg/g من المادة الجافة المكافئة الكرسيتين).

4-3 تقدير التانينات Les Tanins

4-3-1 التانينات المتحللة Tanins Hydrolisables

نأخذ 0.5 مل من المستخلص ونضيف له 1.75 مل من كلوريد الحديد Fecl3 ثم نضيف له 1.5 مل من حمض الكلور المركز Hcl نمزج المزيج جيدا ونترك الأنابيب في درجة حرارة المخبر ثم يتم قياس الامتصاصية في طول موجة 600 nm (MOLE et WATERMAN, ,1987) .

4-3-2 التانينات المكثفة Tanins condonsé

حسب (F. MEDINI *et al*,2014)، تم تقدير التانينات بواسطة الفانيلين(vanillin) حيث قمنا بمزج 50µl من المستخلص النباتي مع 3 مل من الفانيلين (4%)، ثم أضفنا 1.5مل من حمض الكلور المركز HCl، تركنا المزيج لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة المخبر، ثم قمنا بقياس الامتصاصية الضوئية بواسطة جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotométre) على طول موجة 500 nm.

5-الدراسة البيولوجية

5-1 تقدير الفعالية المضادة للأكسدة

لغرض تقدير الفعل التثبيطي المضاد للأكسدة للمستخلصات النباتية، تم استعمال اختبار DPPH واختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP اللذان يعتبران من لأكثر الطرق استعمالا في تقدير التأثير الإزاحي المضادة للتأكسد مخبريا IN VITRO، واختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) باعتباره اختبار IN VIVO.

5-1-1 اختبار تثبيط الجذور الحرة DPPH

و هو إختبار مضاد للجذور الحرة حيث سبق وتم تعريفه من50 سنة ماضية من طرف BLOIS سنة 1985، يعتمد هذا الاختبار على تثبيط الجذر الحر DPPH وذلك اعتمادا على قابلية إعطاء المركبات (مضادات الأكسدة) لذرة الهيدروجين أو إلكترون حيث يمكن تتبع عملية إرجاع جذر DPPH لونيا باستعمال جهاز المطيافية الضوئية وذلك بقياس مقدار الانخفاض في الامتصاصية، هذا الانخفاض في الامتصاصية يمكننا من معرفة قدرة وكفاءة المركبات من تثبيط الجذور، ويعتمد هذا الاختبار على قدرة المستخلص على أسر الجذر المستقر بعد مدة زمنية قدرها 30 دقيقة، ويظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر •DPPH ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلى DPPH-H ذو اللون الأصفر.

يعبر عن النشاط المضاد للأكسدة لكل مستخلص بقيمة IC_{50} وهي تركيز المادة القادرة على تثبيط 50% من جذر DPPH ويتم حسابها بتطبيق المعادلة الخطية لمنحنى تغير نسبة التثبيط (I%) بدلالة التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية (بن عربية.،2013) .

طريقة العمل

- نقوم بتحضير محلول DPPH وذلك باذابة 4 ملغ من مسحوق DPPH في 100 ml من الميثانول للحصول على تركيز 0.1 ملي مول/ل (mmol/L).

- نقوم بالرج جيدا قبل استعماله في دراسة النشاطية المضادة للأكسدة.
- نقوم بتحضير مجموعة من التراكيز لمختلف المستخلصات (1000µg/ml، 500µg/ml، 250µg/ml، 125µg/ml، 65.5µg/ml، 32.75µg/ml، 06.25 µg/ml).
- نأخذ 0.2ml من كل تركيز ونضيف له 0.8ml من محلول DPPH
- يرج جيدا ويترك في الظلام مدة 30 دقيقة في درجة حرارة المخبر.

نقيس الامتصاصية عند طول موجة 517 nm بواسطة جهاز قياس المطيافية الضوئية.

ومن خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط I% وذلك وفق المعادلة التالية:

$$I\%=(A_0-A_i/A_0)\times 100$$

A_0 :امتصاصية DPPH في غياب المستخلص.

A_i: امتصاصية DPPH في وجود المستخلص بعد 30 دقيقة.

ثم نقوم برسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز $I\% = f(C)$

5-1-2 إختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP

يستخدم كثيرا إرجاع الحديد الثلاثي كمؤشر يبين فعالية الإلكترونات المانحة التي هي مهمة في آلية تفاعل مضادات الأكسدة الفينولية.

في اختبار القدرة الارجاعية للحديث تمنح مضادات الأكسدة إلكترونات تعمل على إرجاع الحديد الثلاثي إلى الحديد الثنائي ويمكن تحديد كمية معقد الحديد الثنائي بقياس طول موجه تشكل اللون الأزرق الداكن عند 700 nm.

$$K_3[Fe(CN)_6] + FeCl_3 \xrightarrow{\text{Antioxidant}} K_4[Fe(CN)_6] + FeCl_2$$

- **طريقة العمل**

تحدد القدرة الارجاعية للمستخلصات حسب طريقة JAYANTHI و LALITHA (2011)، تتفاعل المستخلصات التي تملك قدره على الإرجاع مع فريسيانيد البوتاسيوم $K_3[Fe(CN)_6]$ لتشكيل فيروسيانيد البوتاسيوم $K_4[Fe(CN)_6]$، يتفاعل هذا الأخير مع كلوريد الحديد لإعطاء مركب يمتص طول موجه 700nm. عمليا يمزج 250µl من تراكيز مختلفة للمستخلصات مع625 µl من المحلول المنظم

فوسفات(PH-6.6) و 625 µl من محلول فريسيانيد البوتاسيوم (1%). بعد فترة حضن لمدة 20 د في حمام مائي بدرجة حرارة 50 م° يضاف للمزيج 250µl من حمض الخل ثلاثي الكلورور acid (TCA) trichloroacetic (10%). ثم نضيف 125 µl من كلوريد الحديد $FeCl_3$، تقاس الامتصاصية عند طول موجة 700، تمت مقارنة النتائج باستعمال فيتامين c كشاهد موجب، يدل التزايد في امتصاصية مزيج التفاعل على التزايد في القدرة الإرجاعية.

3-1-5 اختبار انحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)

يهدف هذا الإختبار إلى التعرف على مدى حماية المستخلص النباتي لكريات الدم الحمراء من الانفجار عقب تعرضها للمواد المؤكسدة والجذور الحرة، وذلك من خلال قياس نسبة الكريات المنحلة.

حيث يعتمد هذا الإختبار على كريات الدم الحمراء السليمة للإنسان، يتم الحصول عليها بعد عملية التخفيف بالماء المقطر وباستعمال جهاز الطرد المركزي عند سرعة 3000 دورة /د لمدة 10 دقائق.

- **طريقة العمل**

اعتمدنا في هذا الإختبار طريقة (OYAIZU.,1986)، حيث يؤخذ 40 µl من كريات الدم الحمراء، يضاف لها 2 ml من كل نوع من المستخلصات ويحفظ لمدة 5 د في درجة حرارة 37 م°، ثم يضاف للمزيج 40 µl من محلول كل من البيروكسيد(H_2O_2)30ml، ثلاثي كلور الحديد ومحلول حمض الأسكوربيك، ثم يترك الخليط لمدة ساعة في الحاضنة عند درجة حرارة 37 م°، بعدها ينقل لجهاز الطرد المركزي ويوضع في سرعة 700 دورة/د لمدة 10 دقائق، ثم يقرأ في جهاز الامتصاصية الضوئية عند طول موجة 540 نانومتر . وتحسب نسبة انحلال كريات الدم الحمراء وفقا للقانون التالي:

$$\textbf{Hémolyse \%} = [\text{Abs contrôle}/\text{Abs échantillon}] \times 100$$

- **Abs contrôle :** شدة الامتصاص في غياب المستخلص النباتي
- **Abs échantillon :** شدة امتصاص الخليط في وجود المستخلص النباتي.

الفصل الثاني

النتائج والمناقشة

1-النتائج

1-1 دراسة المسح الفيتوكيميائي لثمار نبات الخروب *C- siliqua*

أظهرت نتائج المسح الفيتوكيميائي أن المستخلص الميثانولي لثمار خروب كلا المنطقتين بالبليدة وعنابة احتواءه على العديد من المركبات الكيميائية والمتمثلة في التانينات، المركبات المرجعة، الفلافونويدات، القلويدات، الصابونوزيدات، الكومارينات، الراتنجات، الفينولات، التربينات والستيرولات.

إتضحت النتائج في ظهور اللون الأصفر في اختبار الفلافونويدات بعد معاملة المستخلص بهيدروكسيد الصوديوم، أما في اختبار التربينات والستيرولات فظهرت لنا حلقة حمراء في منطقة اتصال الطبقتين عند معاملة المستخلص بحمض الكبريت وفق تفاعل Lieeberman-Burchard. إضافة إلى تشكل راسب بني في اختبار الكشف عن القلويدات في وجود كاشف ماير، في حين لوحظ تشكل راسب أحمر في اختبار المركبات المرجعة عند معاملة المستخلص الكحولي بمحلول الفهلنغ، ووجود رائحة عطرية للمستخلص الأثيري بعد معاملته بالكحول هذه النتائج متفقة مع نتائج العمل التي قام بها. (OUIS et HARIRI., 2017).

كما أنّ ظهور إشعاعات صفراء بتعريض المستخلص الكحولي للأشعة UV في اختبار الكشف عن الكومارينات دليل على مدى غنى ثمار هذا النبات المنتمي للعائلة البقولية بالكومارينات وهو ما أكده (YOUSSEF *et al.*, 2013)

أظهر الكشف عن الراتنجات باستعمال الماء المقطر نتيجة إيجابية حيث بيّن (يحي.، 2003) أن نبات*C.Siliqua* يحتوي على مواد صمغية تعرف باسم tragacanthol وهذا الصمغ الموجود في النبات يجعل منه نباتا هاضما كما له دور في علاج الإسهال وأيضا يساهم في تعديل حموضة المعدة، في حين جاءت نتائج عمل (LACHKAR *et al.*,2016) مؤكدة تواجد هذا المركب في لحاء شجرة *C.Siliqua* وهذا دلالة على غنى هذا النبات بهذا المركب الكيميائي .

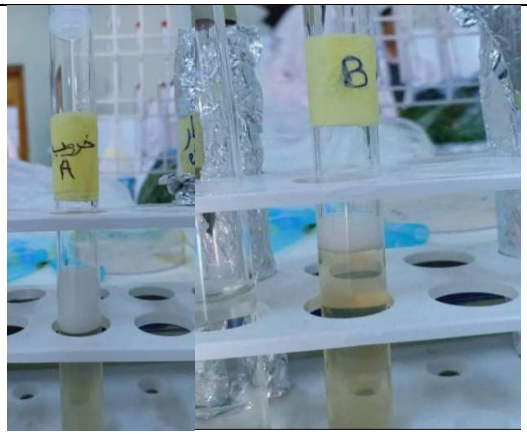
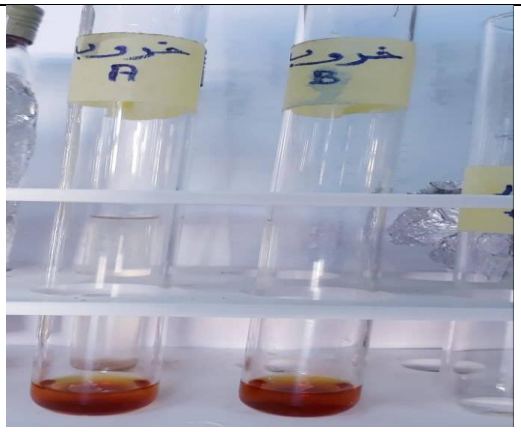
كذلك قد جاءت النتيجة إيجابية للكشف عن الصابونوزيدات والمتمثلة في ظهور رغوة كثيفة بارتفاع 1,8 سم عند عينة البليدة بينما في عينة عنابة فكانت وهي كتأكيد لدراسة (Fadel et *al.*,2011) أين بيّنت الدور الفعال للصابونوزيدات في الدفاع عن نبات *C. Siliqua* ضد الهجمات الفطرية.

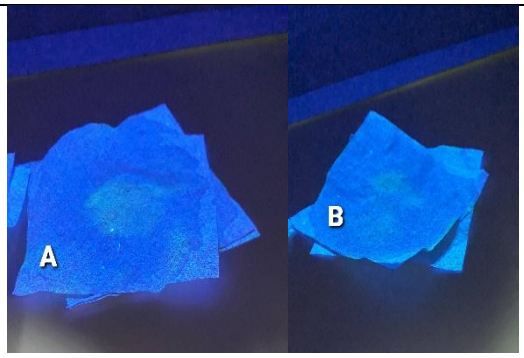
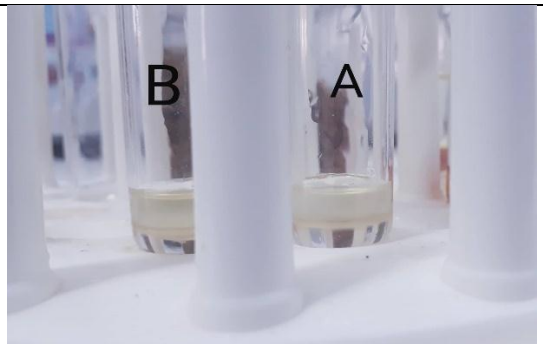
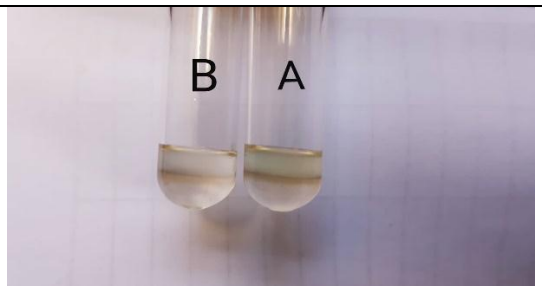
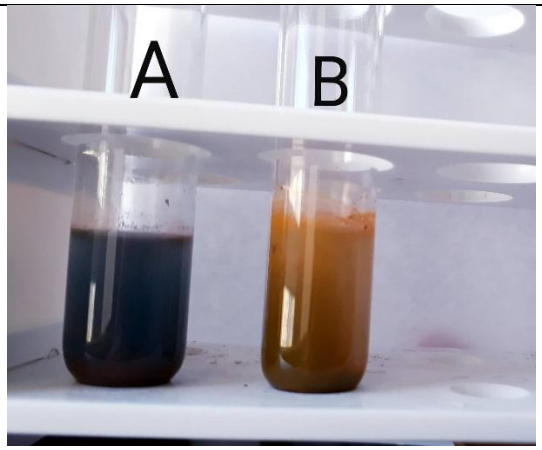
في حين أظهرت الدراسة التي قام بها (AVALLONE et *al.*,1997) أن ثمار نبات *C.Siliqua* مصدر غني بالتانينات التي لها تأثير في تركيز الكوليسترول الكلي في البلازما هذه النتائج تدعم ما توصلنا إليه، حيث في اختبار التانينات ظهر لنا اللُون الأزرق المخضر بعد معاملة المستخلص بكلوريد الحديد،

كما بيّن (العيد.، 2010) أن التانينات تلعب دور في علاج التلبكات المعوية لمفعولها القابض على الأمعاء وتأثيرها المطهر وتستعمل في إيقاف النزيف ومعالجة الجروح والقروح.

إن وجود هذه المركبات الفعالة في ثمار نبات *C.Siliqua* يدل على أهمية هذا النبات وسبب استخدامه في الطب القديم والحديث.

الجدول (02): نتائج المسح الفيتوكيميائي لثمار نبات الخروب *C.siliqua*

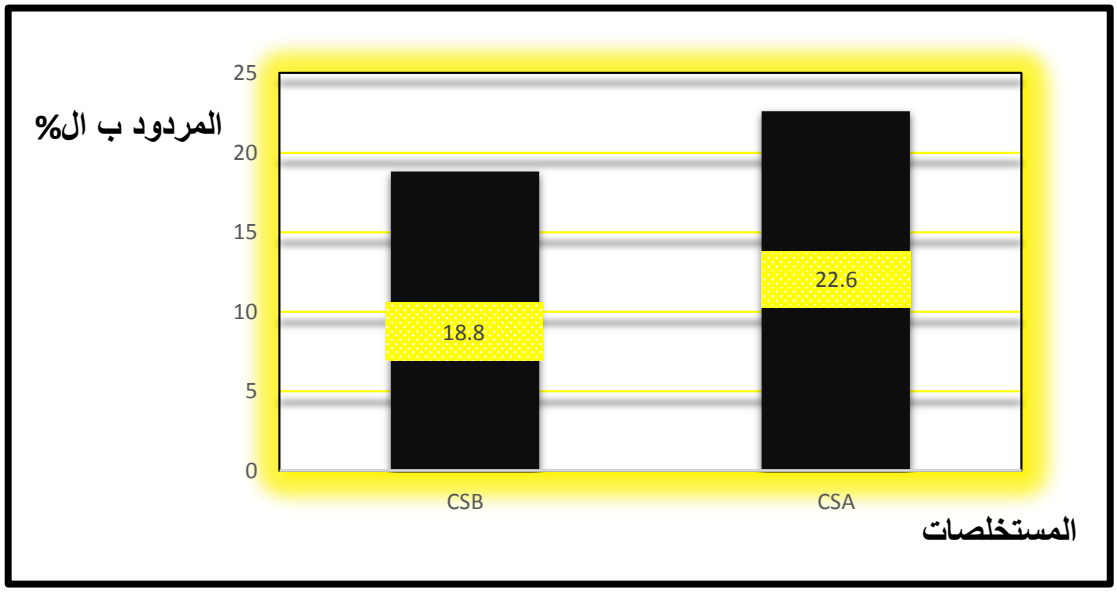
مواد الأيض الثانوي	النتيجة	الملاحظة
الصابونوزيدات		ظهور رغوة في عينة كل من البليدة وعنابة
القلويدات		ظهور الراسب البني بنسبة ضئيلة جدا في كلا العينتين
الفلافونويدات		ظهور اللون الأصفر الغامق في عينة البليدة بنسبة أكبر من عينة عنابة

الكومارينات		ظهور الإشعاع بنسبة أكبر في عينة البليدة
الراتنجات		ظهور الراسب الأبيض في كلا عينتي البليدة وعنابة
الستيرولات والتربينات		ظهور حلقة بنية حمراء تفصل بين الطبقتين في كلا العينتين
المركبات المرجعة		ظهور الراسب الأحمر الآجوري في عينة عنابة بنسبة أكبر من عينة البليدة

1-2 حساب نسبة المردود R%

بعد عملية الاستخلاص بطريقة النقع بالبارد باستخدام الميثانول كمذيب، تم تقدير المردود اعتمادا على العلاقة المذكورة عند (GUETTAF *et al.*,2016)

حيث كانت النتيجة كما هي موضحة في الوثيقة (15)



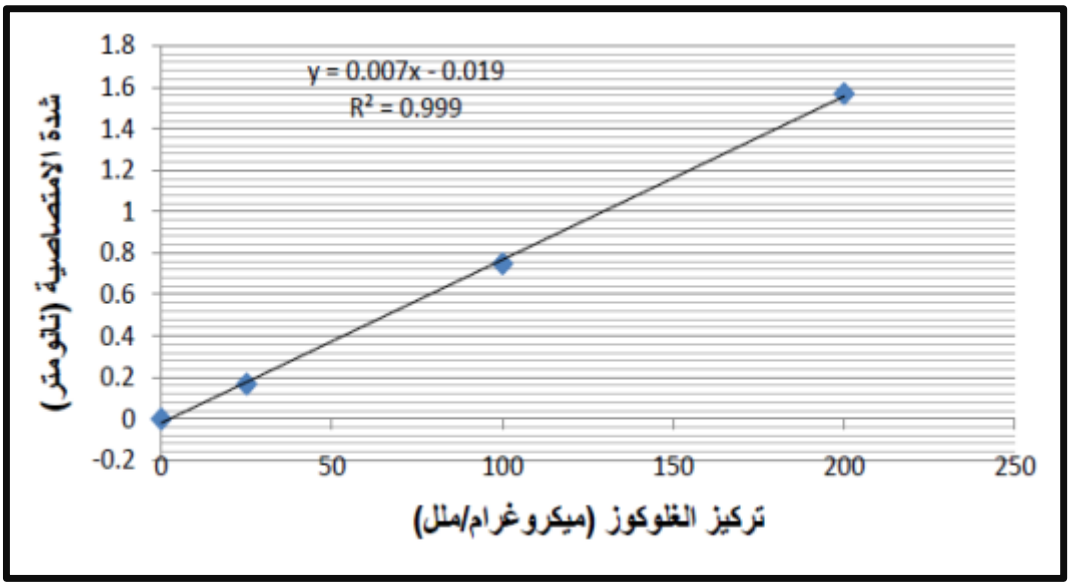
الوثيقة (15): مردود المستخلصات الميثانولية لعينتي عنابة والبليدة.

CSB : عينة البليدة **CSA:** عينة عنابة

من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة (15) نلاحظ أن المستخلص الميثانولي لعينة عنابة سجل به أعلى مردود حيث قدر ب22.8%، في حين سجلت نسبة أقل عند عينة البليدة وقدرت ب 18.8%.

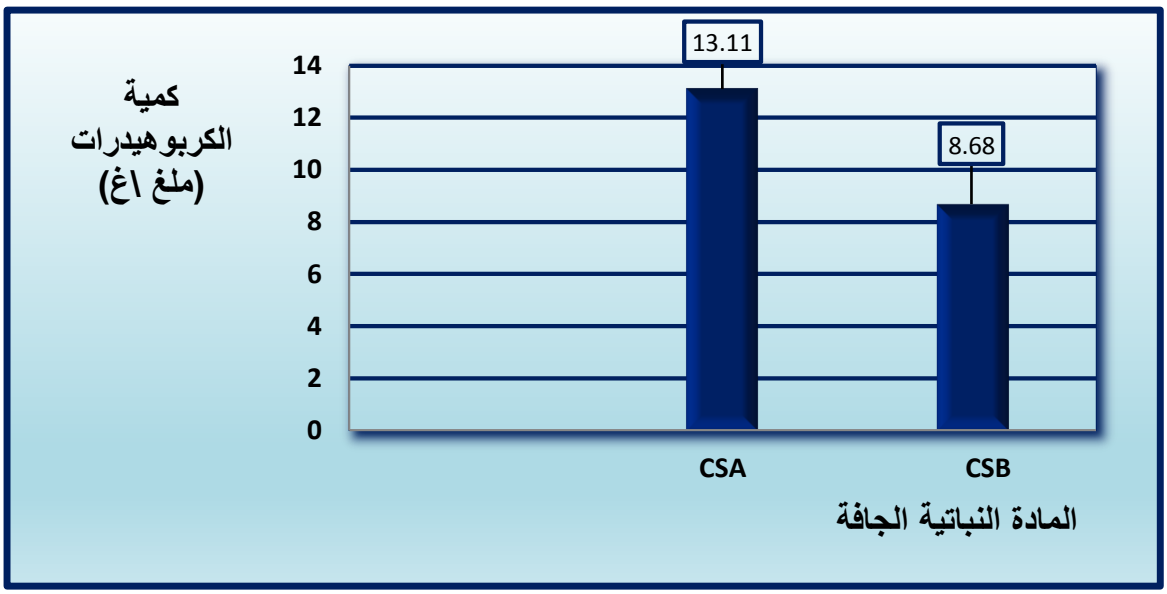
1-3 المحتوى الكمي للكربوهيدرات

تم تقدير الكربوهيدرات وفق طريقة (DUBOIS *et al.*, 1956) الموصوفة من طرف (بن جامع.، 2008)، و التي تعتبر من أكثر الطرق نجاعة، حيث يعبر عن المحتوى الكمي للكربوهيدرات باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للغلوكوز الوثيقة (16).



الوثيقة (16): المنحنى القياسي للغلوكوز.

تقدر قيم المحتوي الكمي للكربوهيدرات بالملغ على الغرام من المادة النباتية الجافة كما هو مدرج في الوثيقة (17).



الوثيقة (17): المحتوى الكمي للكربوهيدرات في المادة الجافة للعينات النباتية المدروسة

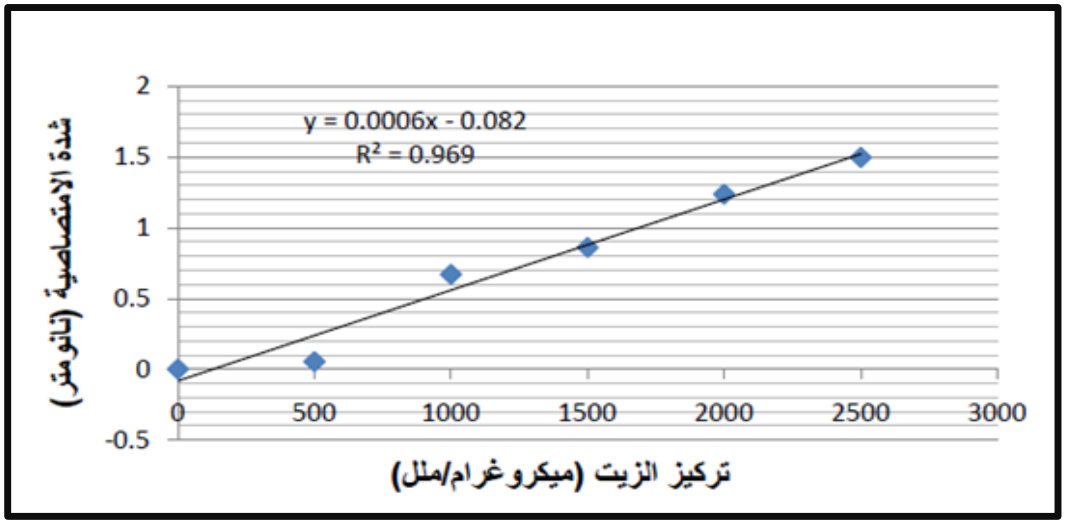
CSB : عينة البليدة **CSA :** عينة عنابة

من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة أعلاه نلاحظ أن أعلى قيمة لكمية الكربوهيدرات سجلت عند عينة عنابة حيث قدرت ب 13.11 ملغ/ غ، في حين سجلت أدنى قيمة عند عينة البليدة بفارق معتبر بينهما والتي قدرت ب 8.68 ملغ/ غ.

4-1 المحتوى الكمي للدهون

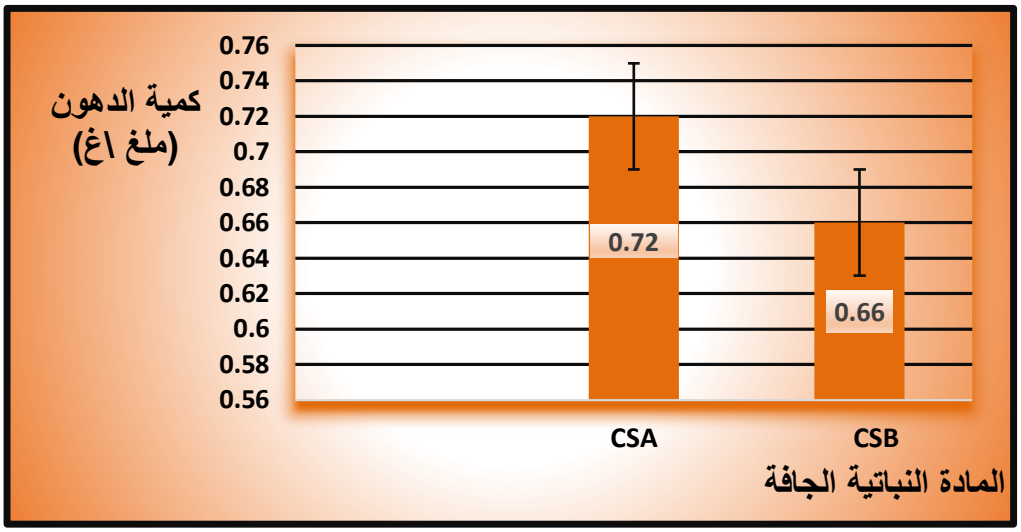
تم تقدير الدهون وفق (GOLDSWORTHY et al., 1972) الموصوفة من طرف (BELDI.,2007).

حيث يعبر عن المحتوى الكمي للدهون باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لزيت الصوجا كما هو مدرج في الوثيقة (18).



الوثيقة (18): المنحنى القياسي لزيت الصوجا.

تقدر قيم المحتوى الكمي للدهون بالملغ على الغرام من المادة النباتية الجافة كما هو مدرج في الوثيقة (19).



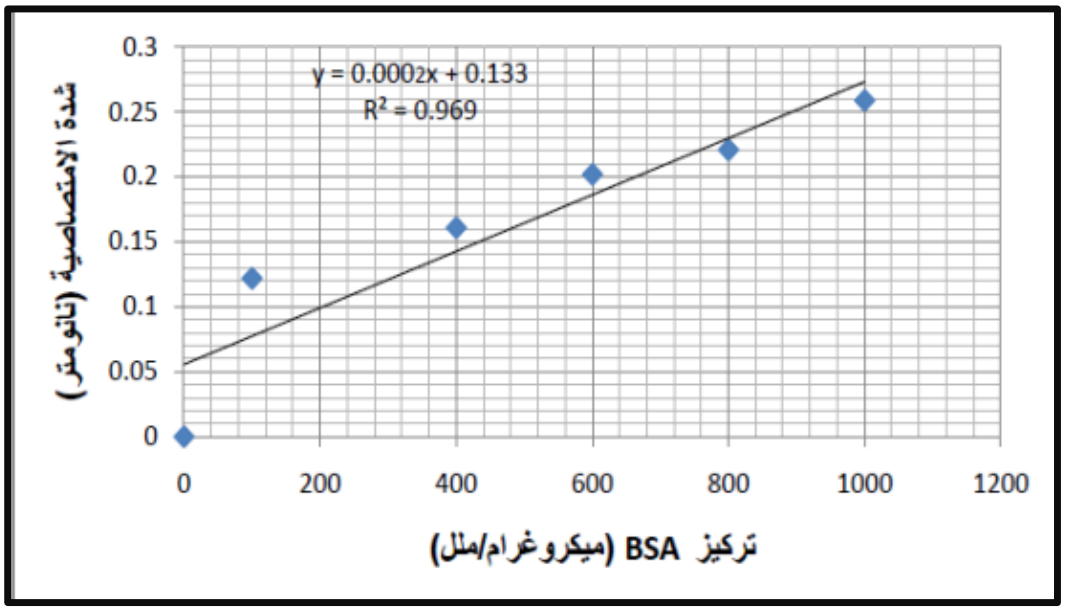
الوثيقة (19): المحتوى الكمي للدهون في المادة النباتية الجافة للعينات النباتية المدروسة

CSB : عينة البليدة **CSA:** عينة عنابة

من خلال النتائج الموضحة في مخطط الوثيقة أعلاه نلاحظ أن أعلى قيمة لكمية الدهون سجلت عند عينة عنابة حيث قدرت ب 0.72 ملغ /غ، تليها عينة البليدة بفارق طفيف حيث سجلت قيمة 0.66 ملغ /غ.

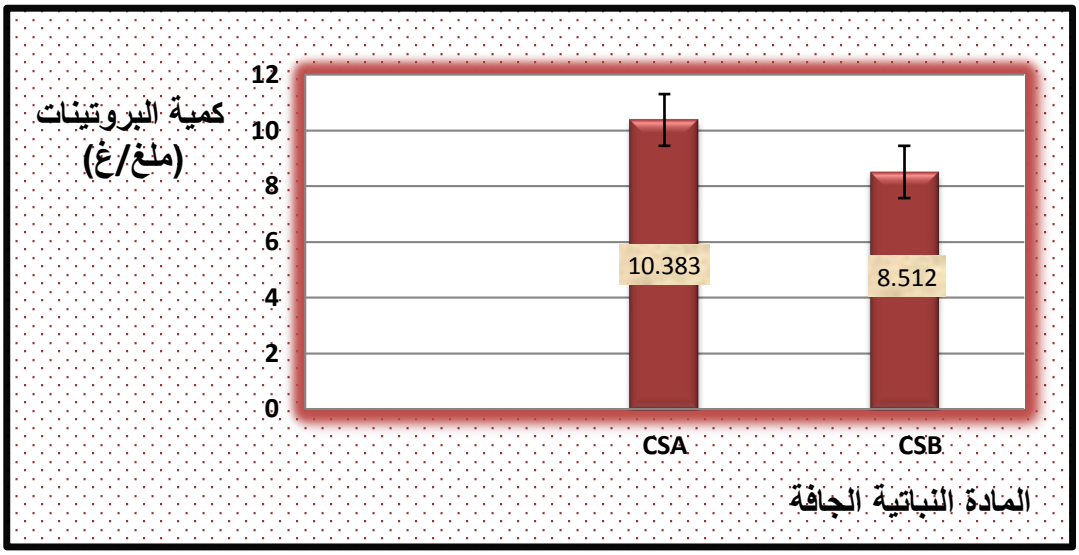
5-1 المحتوى الكمي للبروتين

تم تقدير البروتين وفق طريقة (LOWRY *et al.*,1951). الموصوفة من طرف (PRABHU et KRISHMASZAMY.,2012)، حيث يعبر عن المحتوى الكمي للبروتينات باستعمال المعادلة الخطية للمخطط المعياري لامتصاصية بروتين ألبومين مصل البقر (BSA) بدلالة التركيز الواردة في الوثيقة (20).



الوثيقة (20): المنحنى القياسي لألبومين مصل البقر (BSA).

تحدد قيم المحتوى الكمي للبروتين بالملغ على الغرام من المادة النباتية الجافة كما هو مدرج في الوثيقة(21).



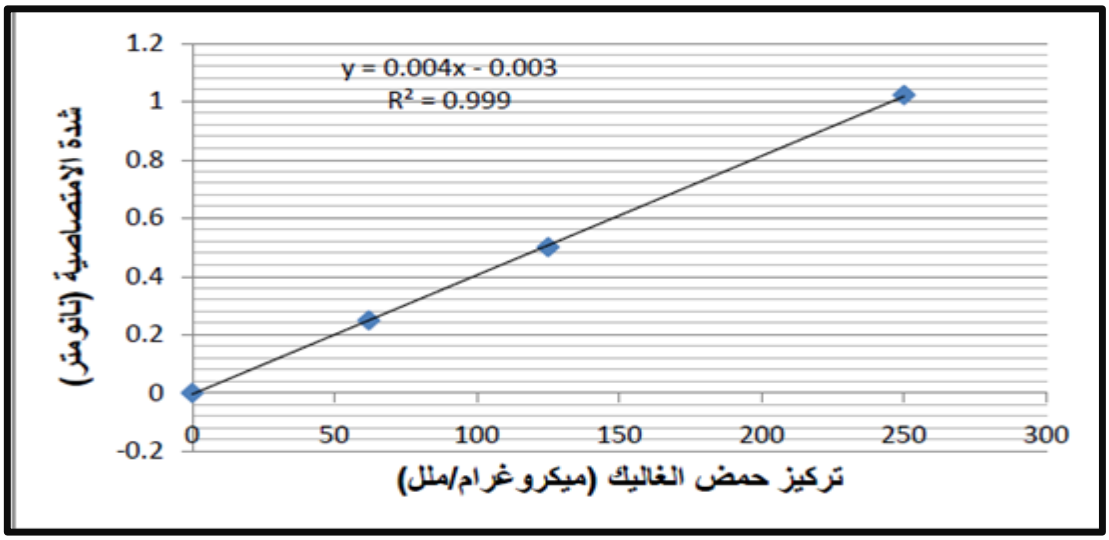
الوثيقة (21): المحتوى الكمي للبروتينات في المادة الجافة للعينات النباتية المدروسة

CSB : عينة البليدة **CSA:** عينة عنابة

من خلال النتائج الموضحة في مخطط الوثيقة (21) نلاحظ أن أعلى قيمة لكمية البروتينات سجلت عند عينة عنابة بقيمة 10.383 ملغ/غ، تأتي بعدها عينة البليدة بفارق طفيف حيث قدرت كمية البروتينات عندها بـ 8.512 ملغ /غ.

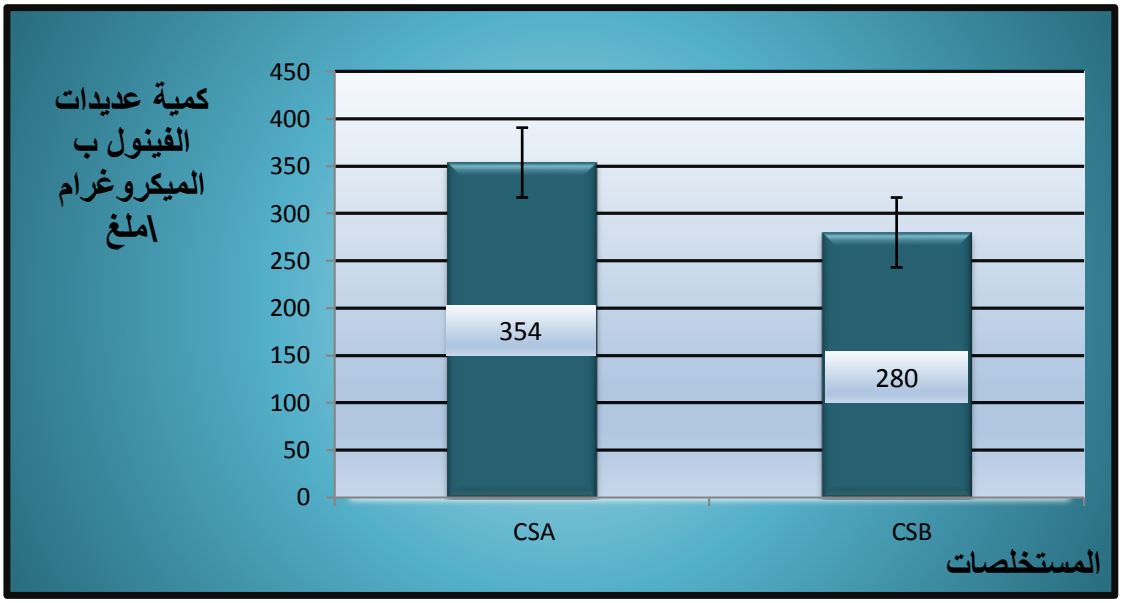
6-1 المحتوى الكمي لعديدات الفينول PPT

تم التقدير الكمي لعديدات الفينول بالاعتماد على طريقة (SINGLETON and ROSSI.,1996) وذلك باستخدام Folin-Ciocalteau ككاشف، حيث يعبر كميا عن محتوى عديدات الفينول باستعمال المعادلة الخطية للمخطط المعياري لامتصاصية حمض الغاليك بدلالة التراكيز الواردة في الوثيقة(22).



الوثيقة (22): المنحنى القياسي ل Acide Gallique.

تقدر قيم عديدات الفينول للمستخلصات بالميكرو غرام المكافئ لحمض الغاليك على الملغ (mg/µg) من كتلة المستخلص كما هو مدرج في الوثيقة (23).



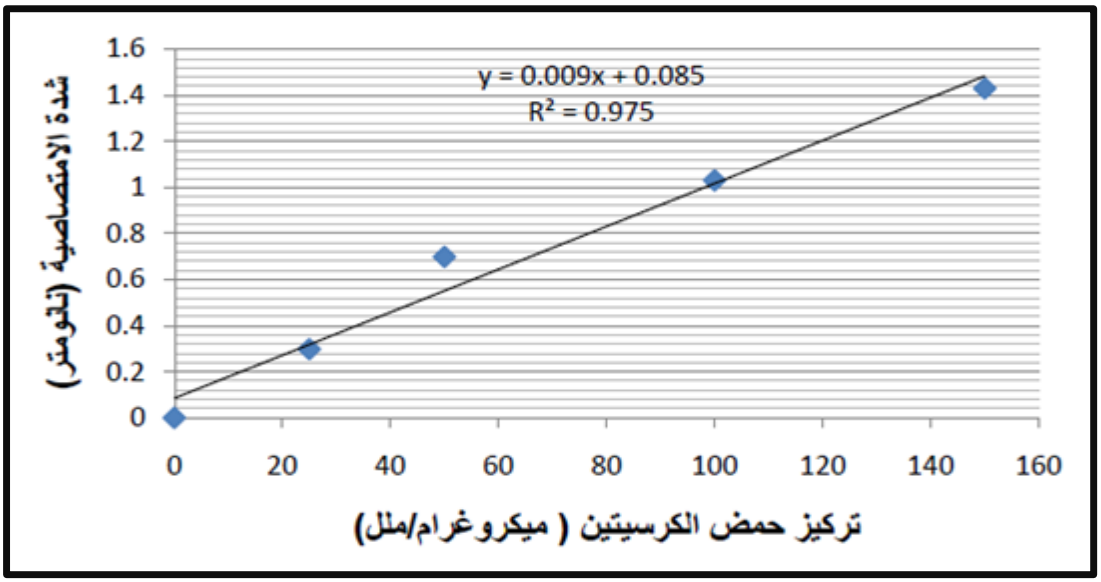
الوثيقة(23): المحتوى الكمي لعديدات الفينول ب (الميكروغرام /ملغ) للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات الخروب عنابة و البليدة (µg AGE/mg Extrait).

CSB : عينة البليدة **CSA:** عينة عنابة

من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة (23)، نلاحظ أن أعلى قيمة سجلت عند عينة عنابة بقيمة 354 µg AGE/mg EX، حين سجلت قيمة أقل عند عينة البليدة قدرت ب 280µg AGE/mg EX.

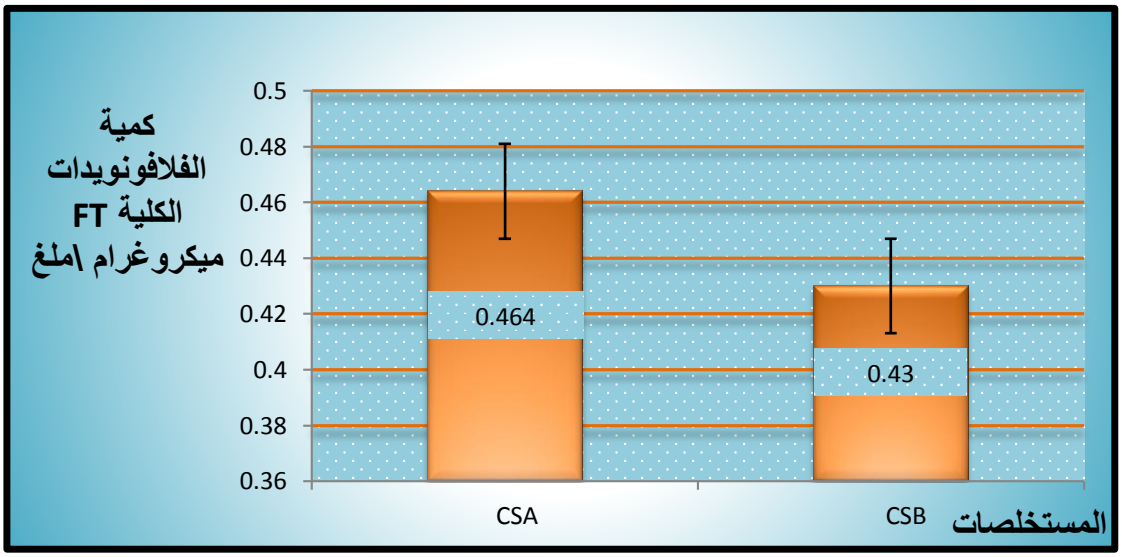
7-1 المحتوى الكمي للفلافونويدات الكلية

تم تقدير كمية الفلافونويدات الكلية باستخدام كاشف $AlCl_3$ وباستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكرسيتين المدرج في الوثيقة (24).



الوثيقة (24): المنحنى القياسي لمحلول الكرسيتين.

ويعبر عن النتائج المسجلة بالميكروغرام المكافئ للكرسيتين على الملغ µg/mg من كتلة المستخلص كما هو مبين في الوثيقة (25).



الوثيقة (25): المحتوى الكمي للفلافونويدات الكلية للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات الخروب عنابة والبليدة µg (QUE/mg Extrait).

CSB : عينة البليدة **CSA:** عينة عنابة

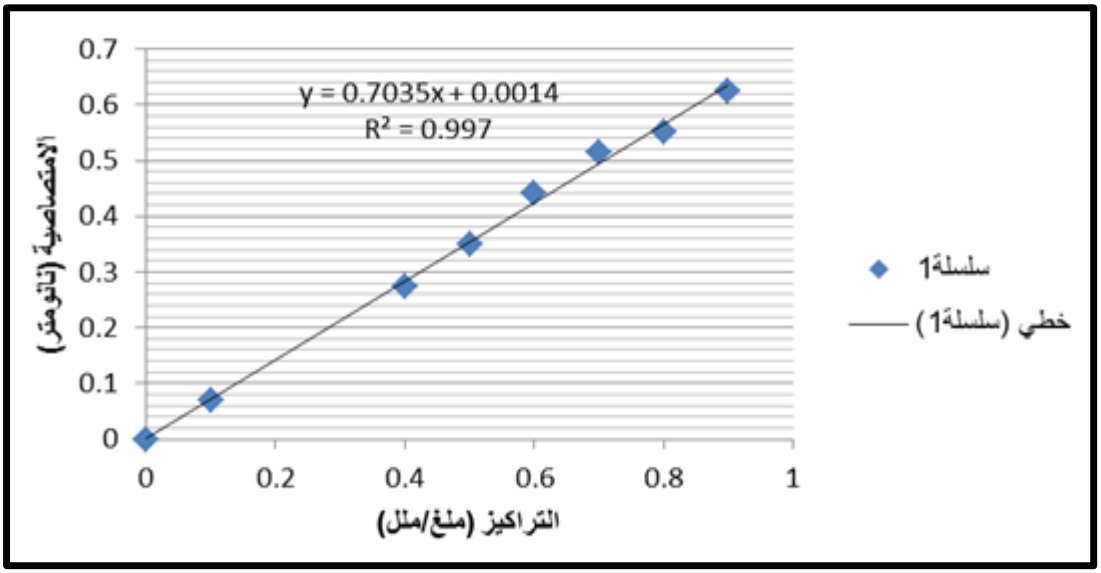
من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة (25)، نلاحظ عدم وجود فارق معنوي في كمية عديدات الفينول بين المستخلصات، حيث سجلت أعلى قيمة لها عند عينة عنابة بقيمة 0.464 µg QUE/mg EX،

تليها عينة البليدة بقيمة قدرت بـ0.43 µg QUE/mg EX، حيث أن هذه النتائج تتوافق مع ما تحصلنا عليه سابقا في المحتوى الكمي لعديدات الفينول.

8-1 المحتوى الكمي للتانينات

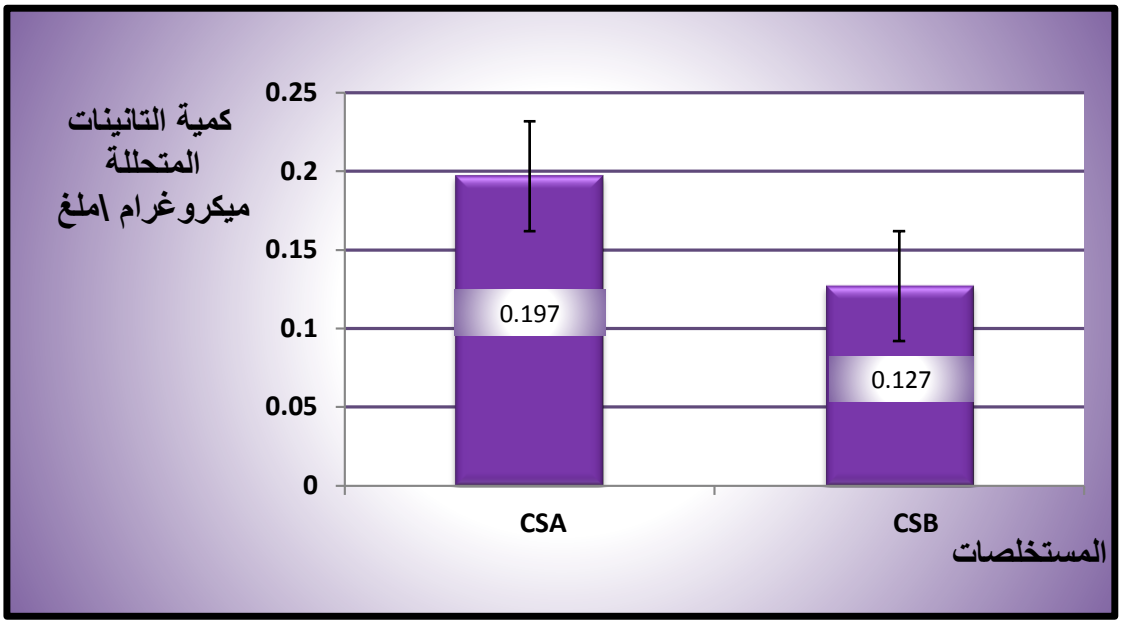
8-1-1 المحتوى الكمي للتانينات القابلة للتحلل

تم تقدير المحتوى الكمي للتانينات القابلة للتحلل اعتمادا على طريقة (MOLE et WATERMAN.,1987) باستخدام كلوريد الحديد ككاشف. وباستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لـ Acide tannique كما هو موضح في الوثيقة 26.



الوثيقة (26): المنحنى القياسي لـ Acide tannique.

ويعبر عن النتائج المسجلة بالميكروغرام المكافئ لـ Acide tannique على الملغ µg/ mg من كتلة المستخلص كما هو مبين في الوثيقة (27).



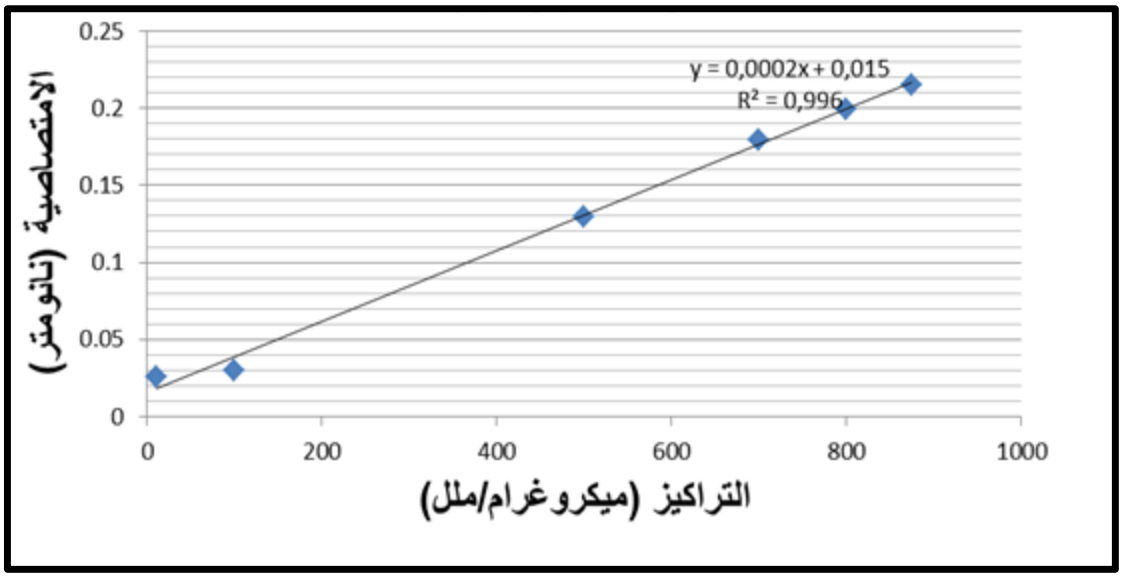
الوثيقة (27): المحتوى الكمي للتانينات المتحللة للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات الخروب عنابة والبليدة (µg AHE/mg Extrait).

CSB : عينة البليدة **CSA:** عينة عنابة

من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة أعلاه، نلاحظ أن أعلى قيمة سجلت عند عينة خروب عنابة بقيمة قدرت بـ(µg EAT/mg Extrait) 0.197 بينما سجلت قيمة أقل عند عينة خروب البليدة بقيمة قدرت بـ (µg EAT/mg Extrait) 0.127.

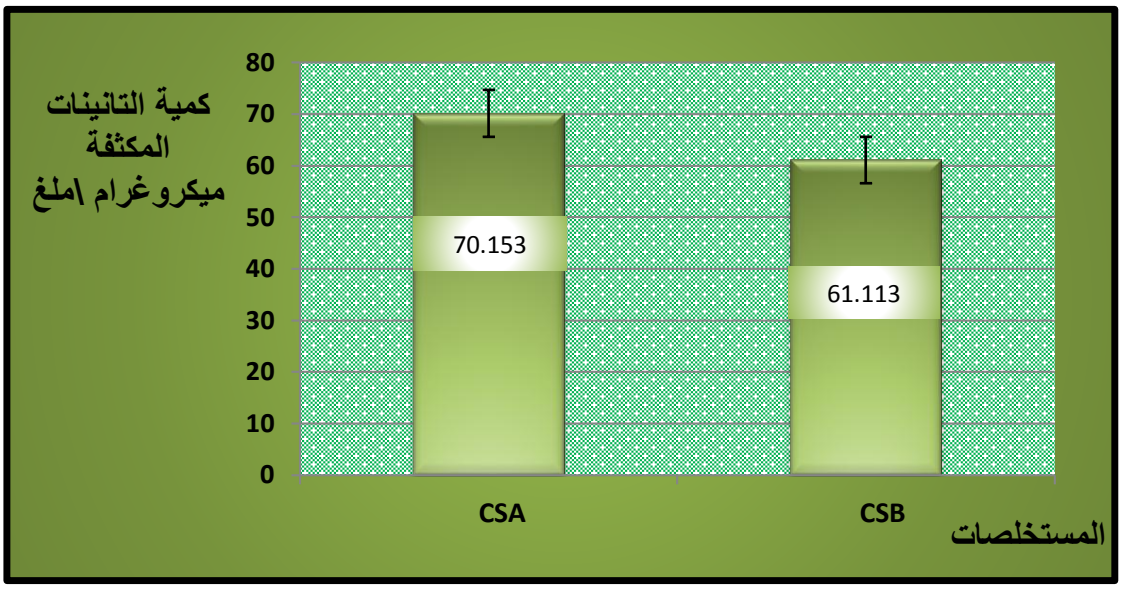
8-1-2 المحتوى الكمي للتانينات المكثفة

تم تقدير التانينات المكثفة اعتمادا على طريقة الفانيلين ككاشف، حيث يعبر كميا عن المحتوى الكمي للتانينات المكثفة باستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الكاتشين المكافئ µg / mg كما هو موضح في الوثيقة (28).



الوثيقة (28): المنحنى القياسي لحمض الكاتشين Acide catechine.

ويعبر عن النتائج المسجلة بالميكروغرام المكافئ للـ Acide catechine على الملغµg /mg من كتلة المستخلص كما هو مبين في الوثيقة (28).



الوثيقة (29): المحتوى الكمي للتانينات المكثفة للمستخلصات الميثانولية لعينتي نبات الخروب عنابة والبليدة (EC/mg µg Extrait).

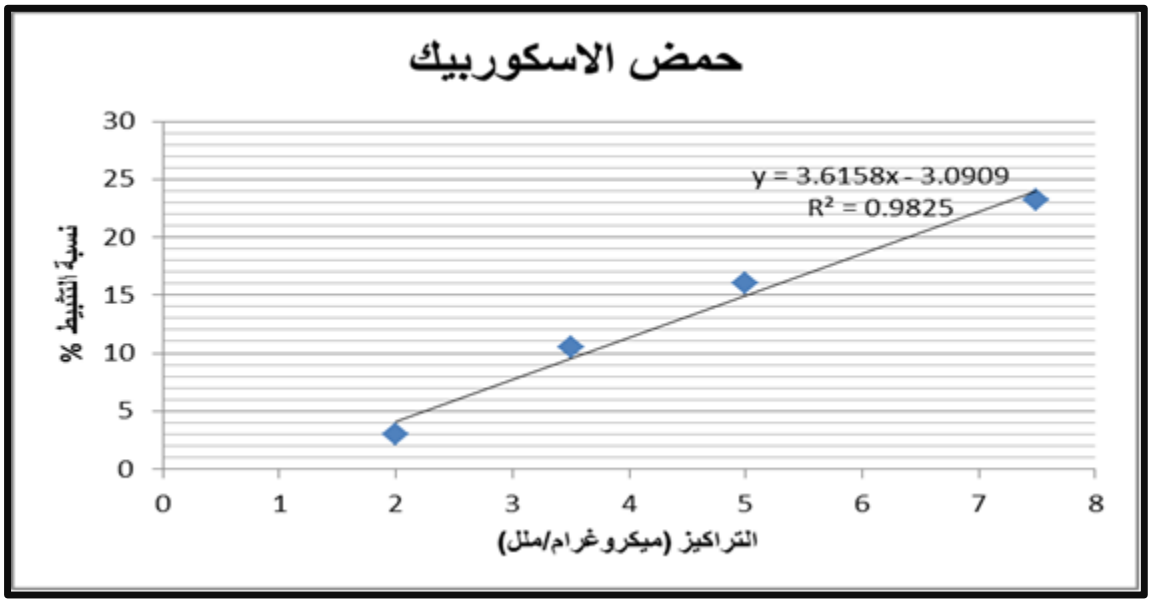
CSB : عينة البليدة **CSA :**عينة عنابة

من خلال النتائج الموضحة في الوثيقة 28 نلاحظ وجود فارق حيث كانت النسبة الأعلى لخروب عنابة بقيمة قدرت بـ (70.153 (µg EC/mg Extrait، تليها نسبة خروب البليدة بقيمة قدرت ب(µg) 61.113EC/mg Extrait .

9-1 محتوى الفعالية المضادة للأكسدة (AAO)

9-1-1 نتائج الجذر الحر• DDPH

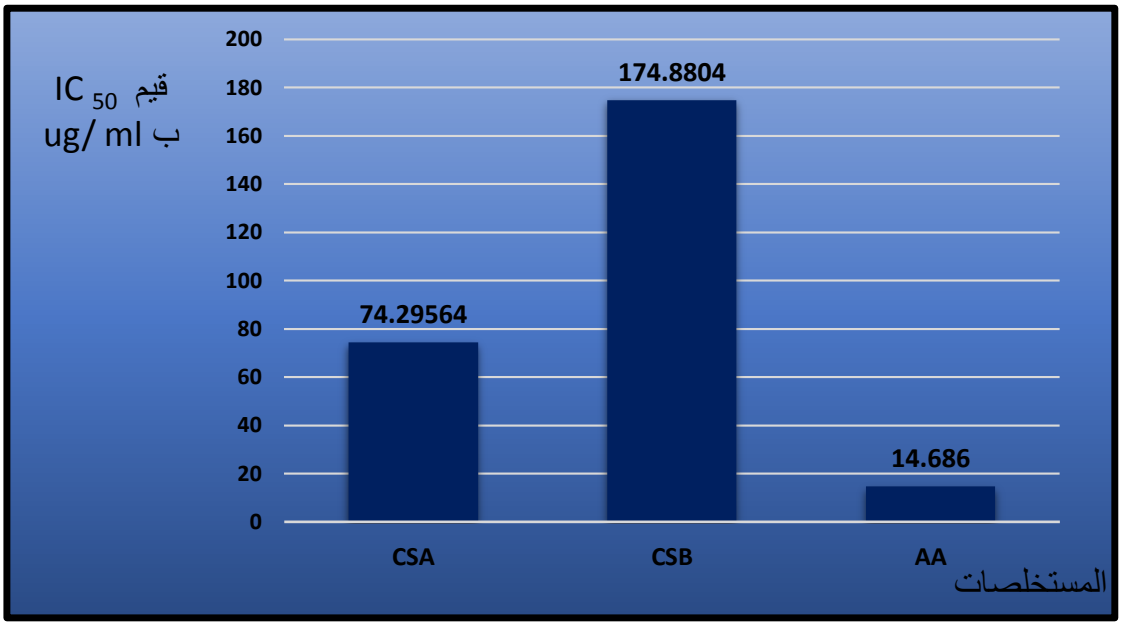
تم الاعتماد على اختبار الجذر الحر • **DDPH** بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات النباتية المدروسة باعتباره الاختبار الأكثر استخداما وسهولة وكفاءة، حيث يتم تقدير النشاطية استنادا لنشاطية حمض الاسكوربيك الوثيقة (30).



الوثيقة (30): المنحنى القياسي لمحلول حمض الأسكوربيك المعتمد في اختبار الجذر الحر • DDPH.

تم تحديد قيم مقدار ال IC_{50} المعبر عن التركيز المثبط ل 50% من الجذر الحر • **DDPH** من خلال المعادلات الخطية لمنحنيات التثبيط (%) للمستخلصات النباتية أنظر للملحق رقم(02) ولحمض الأسكوربيك الموضح في الوثيقة (30).

وبما أن الفاعلية المضادة للأكسدة تتناسب عكسا مع قيم IC_{50}، فإنه كلما كانت قيم IC_{50} ضعيفة تكون النشاطية الكابحة للجذور أفضل.



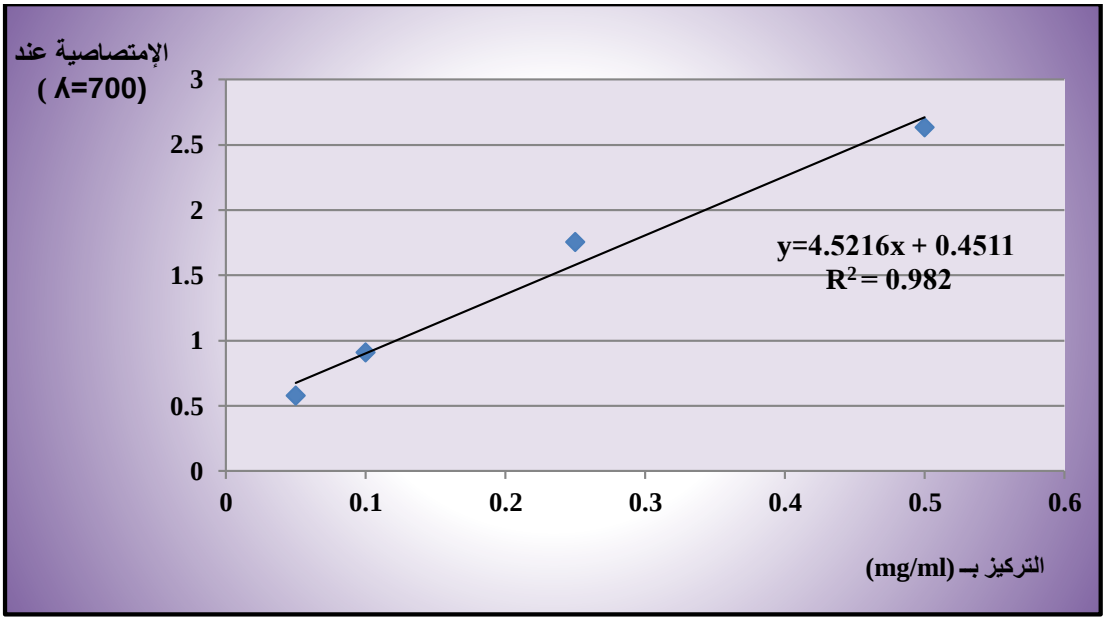
الوثيقة (31): قيم IC_{50} المثبطة ل50% من جذر • DDPH لمستخلصي نبات الخروب وحمض الأسكوربيك.

من خلال الوثيقة (31) الموضح لقيم IC_{50} نلاحظ تفوق حمض الأسكوربيك (AA) عن باقي المستخلصات في قدرة كسح الجذر الحر• **DDPH** حيث سجلت عنده أعلى قيمة بلغت 14.686 µg /ml يليه مستخلص عينة عنابة (CSA) بقيمة مقدرة بـ74.29564 µg /ml، في حين قدرت أقل قدرة لكسح الجذر الحر• **DDPH** عند مستخلص عينة البليدة بقيمة 174.8804 µg /ml.

9-1-2 نتائج القدرة الإرجاعية للحديد FRAP

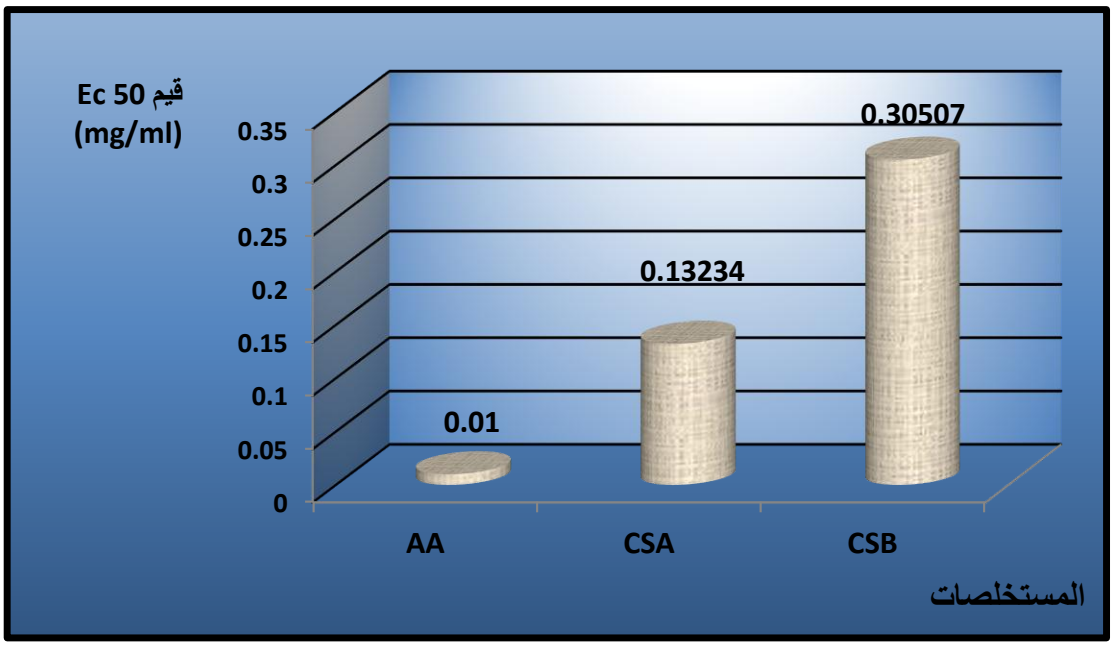
تم تقدير القدرة المضادة للأكسدة (القدرة الإرجاعية) لمستخلصات العينات النباتية المدروسة بالاعتماد على اختبار FRAP وذلك وفق الطريقة الوارد ذكرها عند JAYANTHI و LALITHA (2011) حيث يرتكز مبدأ هذا الإختبار على قياس التغيرات التي تحدث في الإمتصاصية الضوئية لمزيج التفاعل والتي تمتلك علاقة طردية مع القدرة الإرجاعية للحديد.

وحددت الفاعلية الإرجاعية لمستخلصات العينات النباتية استنادا لنشاطية حمض الأسكوربيك Acide Ascorbique الوثيقة (32) باعتباره مرجعا قياسيا.



الوثيقة(32): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك AA المعتمد في اختبار القدرة الارجاعية للحديد FRAP.

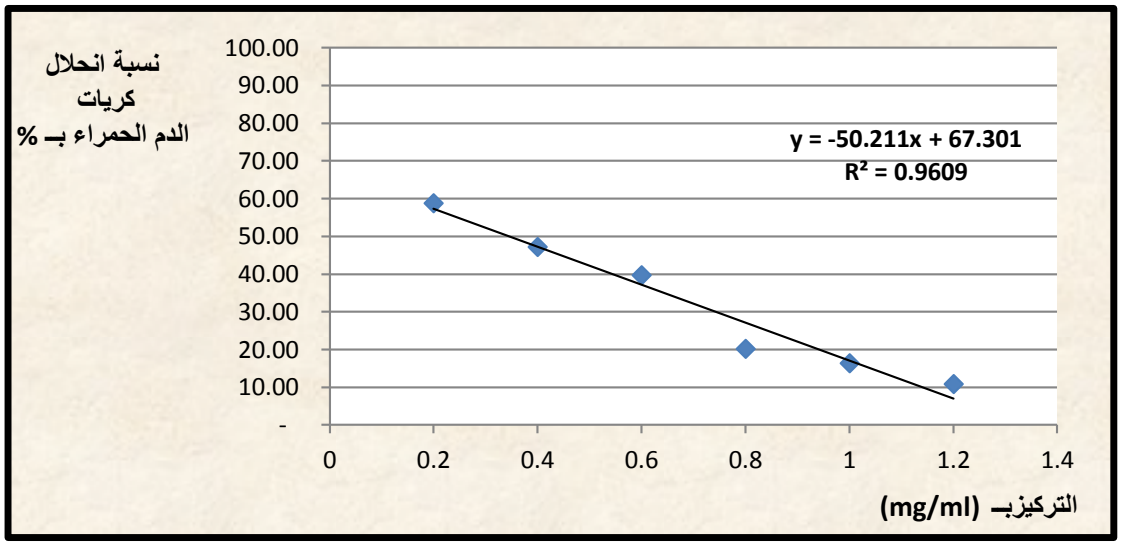
ومن خلال الوثيقة (33) أدناه الموضحة لقيم الامتصاصية الضوئية لمزيج تفاعل المستخلصات الميثانولية نلاحظ تفوق مستخلص عينة البليدة على باقي المستخلصات الأخرى في قيمة الامتصاصية الضوئية حيث دونت عنده قيمة بلغت (mg/ml) 0.30507، يليها مستخلص عينة عنابة سجلت عندها قيمة بلغت(mg/ml) 0.13234، بينما نلاحظ أدنى قيمة عند مزيج حمض الأسكوربيك بقيمة (mg/ml) 0.01.



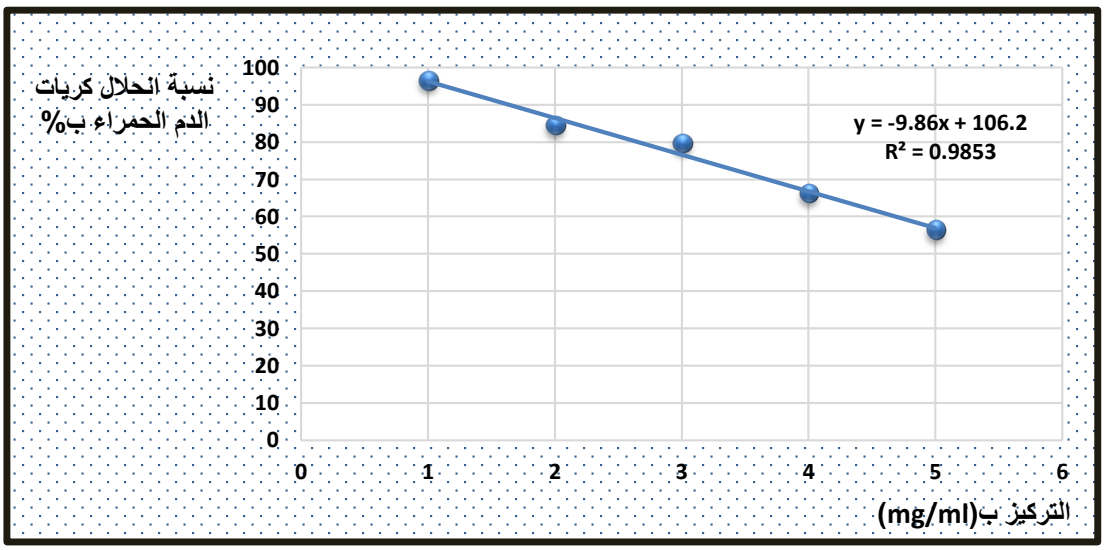
الوثيقة (33): قيم الامتصاصية الضوئية لمزيج تفاعل المستخلصات الميثانولية ولحمض الأسكوربيك لاختبار FRAP.

3-1-9 نتائج انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse

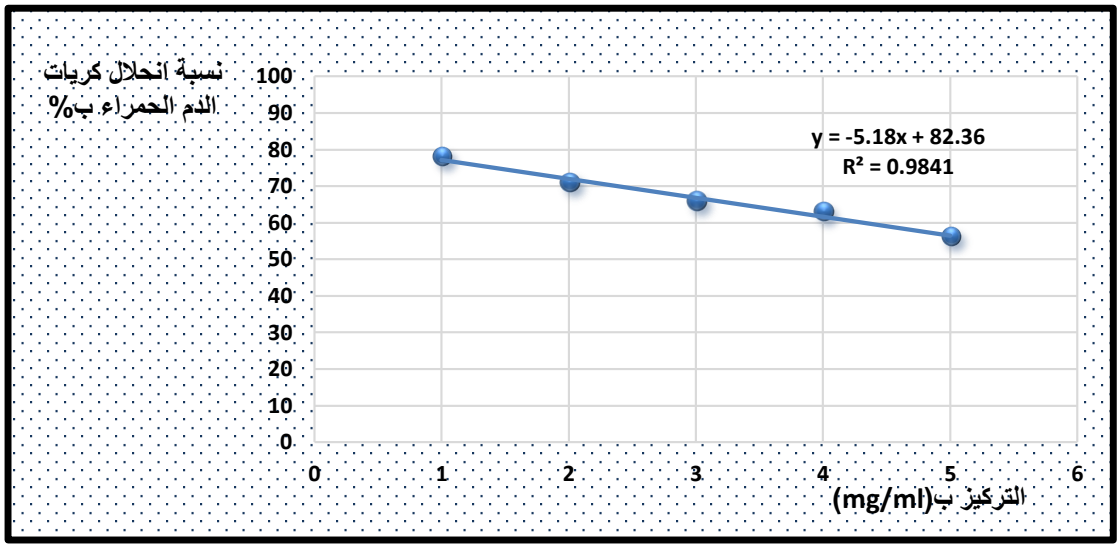
تم تقدير النشاطية المضادة لانحلال كريات الدم الحمراء لمستخلصي نبات الخروب استنادا لنشاطية حمض الأسكوربيك Acide Ascorbique باعتباره مرجع قياسي الوثيقة 34.



الوثيقة (34): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse.



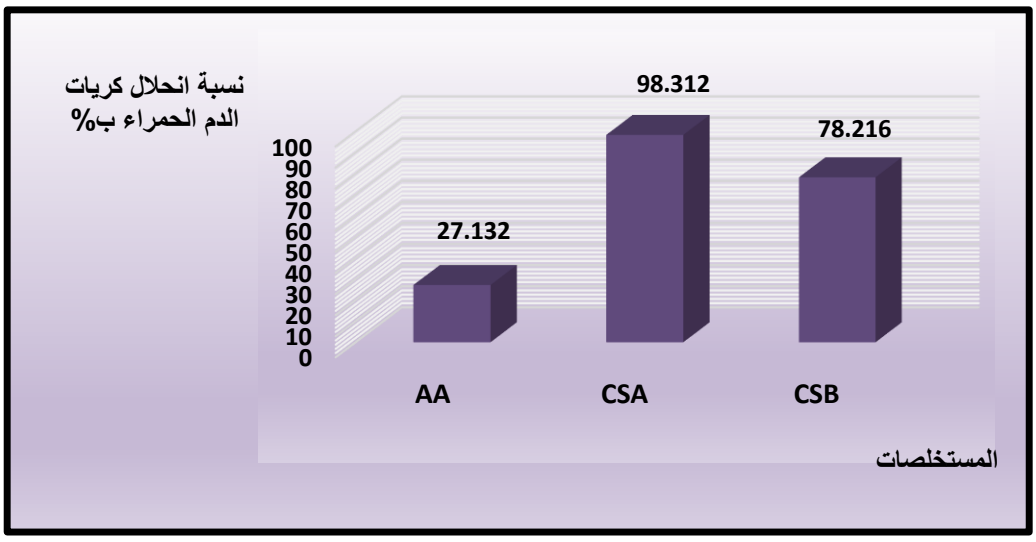
الوثيقة(35): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص خروب عنابة.



الوثيقة (36): منحنى نسبة انحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز مستخلص خروب البليدة.

من خلال الوثائق (35، 36) الموضحة لنسب انحلال كريات الدم الحمراء نلاحظ تناسب عكسي بين نسب الانحلال وتراكيز المستخلصات، حيث كلما زاد تركيز المستخلصات قلت نسبة انحلال كريات الدم الحمراء.

ومن خلال نتائج الوثيقة (37) الموضحة أدناه يظهر لنا أن الأثر الوقائي لانحلال كريات الدم الحمراء عند التركيز 0.8 mg/ml متقارب عند مستخلصات عينتي عنابة و البليدة حيث كانت لعينة عنابة نسبة انحلال أقل قدرت ب 78.216 % تليها عينة البليدة ب 98.312%، ليتصدرهما حمض الأسكوربيك بـ 27.132%.



الوثيقة (37): نسبة انحلال كريات الدم الحمراء للمستخلصات ولحمض الأسكوربيك عند تركيز 0.8 mg/ml.

2- المناقشة

✓ **المردود**

من خلال تحليل نتائج الاستخلاص يتضح لنا وجود اختلافات ملحوظة في نسب عينات نفس النوع النباتي على الرغم من تماثل شروط التجربة، حيث يمكن أن نرجح سبب التذبذب في نسب المردود إلى:

طبيعة المركبات الكيميائية المكونة للعينات النباتية (SIDENEY et al.,2016) والتي تتعلق بقطبية الجزيئات ودرجة ذوبانيتها في المذيب المستعمل (MeOH) (HARRAR., 2012)،إذ أن اختلاف الوزن الجزيئي والبنية الكيمائية للمركبات إضافة لدرجة تعقيدها وطول السلاسل الكربونية يؤدي إلى تحديد مدى انحلالها واستقطابها من طرف المذيب (الحلو وآخرون،.2013؛ MAHMOUDI et al.,2013) ، كما يحتمل أن يعود ذلك إلى النشاط والحالة الفسيولوجية المتعلقة بالمرحلة العمرية للنبات (DIRK and RICHARD.,2000)، وقد يعود السبب إلى مدى تعرض النبات للإجهادات المختلفة والتي تلعب دورا في التغيير من فسيولوجيته مؤدية بذلك إلى التغيير في طبيعة ونوعية المركبات التي ينتجها كمّا ونوعا (IBRAHIMI *et a*l.,2008).

وبشكل عام تعتبر نسب المردود المتحصل عليها للمستخلصات الميثانولية لنبات الخروب في كلتا العينتين ورغم الفارق الملحوظ بينهما قوية مقارنة مع نتائج الدراسة التي قام بها (OUIS et HARIRI.,2017) على عينة من ولاية معسكر والتي تحصل فيها على نسبة مردود مقدرة ب 4.32% وعلى الرغم من استخدام نفس المذيب ومن هذا المنطلق يمكننا إرجاع اختلاف نسب المردود إلى :

- ❖ الطرق المتبعة في جمع وتجفيف العينات وكذلك مدة حفظها التي يمكن أن يكون لها دور في الإختلاف، إذ أن المركبات النباتية تتأثر بالعوامل الخارجية المحيطة بها كالإضاءة والحرارة والرطوبة التي تؤدي إلى تفكيك الجزيئات الكيميائية وذلك بفعل الإنزيمات وبالتالي إحداث الفروق في نسب المردود (YEO SOUNTA *et al*.,2014).
- ❖ المرحلة العمرية للنبات في وقت الدراسة، حيث أن النباتات المعمرة يتراجع مردود مركباتها الكيميائية وموادها الفعالة مع تقدم النبات في العمر (بوخبتي.،2010) .
- ❖ موقع المنشأ الجغرافي وطبيعة المناخ السائدة في بيئة نمو وتواجد النبات اللذان يمكنهما تحديد نوعية وكمية مركباته (SIDENEY *et al.*, 2016)، وكذلك درجة النضج ووقت الحصاد، وطرق التخزين (KHLIFA *et al.*, 2013).

❖ الطريقة التي تم بها الإستخلاص وظروفها (YEO SOUNTA *et al*,2014) حيث أن تكرار عملية الإستخلاص وكمية المذيب بالنسبة للمادة النباتية إضافة إلى مدة عملية الإستخلاص التي من شأنها تحديد قيمة المردود (جيدل،2015)، ويفسر ذلك بدرجة تشبع المذيب أي عدم كفاءة حجمه المستعمل لاستخراج جل جزيئات العينة، أو عدم استغراقه الوقت الكافي للقيام بذلك (RAJAEI *et al.*,2010). كما أفادت عديد الدراسات إلى أن إضافة نسبة من الماء للمذيبات العضوية خاصة الـ MeOH والـ EoH يمكنهما زيادة المردود، حيث أن هذه الطريقة تمثل أفضل وأكثر الأنظمة استعمالا لاستخلاص مركبات الأيض الثانوي في النبات وذلك لأن المزج يعمل على زيادة قطبية المحلول وشراهة المركبات المستقطبة (جيدل.،2015)،كما أن التركيب الكيميائي للنبات له دور مهم في عملية الاستخلاص (ROBARDS.,2003).

✓ **المحتوى الكمي للكربوهيدرات والدهون والبروتين**

أكدت نتائج دراسة (BASTON.,2016) أن الخروب فاكهة غنية جدا بالكربوهيدرات التي تمنحه النكهة الحلوة حيث كان مستواها بنسبة 58%، بينما وجد (AYAZ *et al*, 2007) أن نسبة الكربوهيدرات في قرون الخروب قد تصل إلى 88%، ووجد (YOUSSEF *et al.*, 2013) كمية بلغت نسبتها 76%، و (KHLIFA *et al.*, 2013) قيمة أقل قدرت ب 45% فقط .

وفي دراسة سابقة أجريت من طرف (الفيحان ومصري.، 2016) على ثلاث عينات من ثمار الخروب السوري في ثلاثة مناطق مختلفة، تحصلوا على النتائج كالتالي : أعلى قيمة في عينة الساحل بنسبة 72.38%، تليها عينات منطقة حمص بنسبة 66.98% ثم في عينات حماة بنسبة 63.77 %.

بينما في دراسة أخرى أجرتها (GAOUAR.,2011) على المستخلص الميثانولي للخروب الجزائري من ثلاث مناطق مختلفة جيجل، تلمسان والبليدة كانت النتائج على التوالي: 36.3 %، 14.4%، 16.1% .

أما بالنسبة لكمية الدهون في مسحوق الخروب فكانت منخفضة، كونها تشكل أقل من 1 % من تركيبته. حيث أن نتائجنا تتوافق مع هذه الدراسة، وقد تم العثور على قيم مماثلة من قبل SIGGE *et al.*,2011) ؛ KHLIFA *et al.*,2013) كذلك النتائج المتحصل عليها (يوسف والغزاوي) في عام 2000، والتي بلغت (0.74٪) بالنسبة لعينة الأردن، ونتائج (AVALLONE *et a*l.,1997) كانت (0.6٪) لإيطاليا. لكن (YOUSSEF *et al*,2013) وجد قيمة أعلى من الدهون حيث اقتربت من 2%.

وفي دراسة أخرى سابقة أجراها (SIGGE *et al.*, 2011) على أربعة أصناف مختلفة من الخروب المتواجد في البرتغال: Tylliria، Sfax، Casuda، Santa Fe، تحصل على النتائج التالية: 0.71 %، 0.45 %، 0.74 %، 0.86 % على التوالي.

بينما أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في بذور الخروب احتوائها على كمية أكبر من الدهون مقارنة باللب ذلك لأن البذور عضو يستخدمه النبات للتخزين مما يفسر نقص محتواه في اللب. (BASTON.,2016) .

ويمكن اعتبار أن المحتوى المنخفض من الدهون له تأثير إيجابي على العمر الافتراضي للقرون، حيث يرتبط استهلاك الأطعمة التي تحتوي على نسبة عالية من الدهون أيضا بزيادة خطر الإصابة بأمراض الدورة الدموية التاجية، السمنة وبعض أنواع السرطانات. وبسبب الدهون المنخفضة يمكن اعتبار الخروب مصدرا غذائيا صحيا (SIGGE *et al*, 2011).

بالنسبة للمحتوى الكمي للبروتين فإن نتائجنا كانت بعيدة من نسب التي تم الحصول عليها من (AYAZ *et al.*, 2007) عند تحليله للب خروب تركيا التي بلغت 4.45، وما وجده (IiPUMBO, 2008)، حيث تراوحت بين 3,07 و 4.42 %، وما تحصل عليها كل من (الفيحان ومصري .،2016) في عينات حمص وحماة إذ تراوحت القيم بين 3.79 و 4.61 %. أما ما وجدوه (PAPAEFSTATHIOU *et al*.,2018) في دراستهم حيث تراوحت النسبة بين 0.43 و 5.12 %.

إن الفارق الملاحظ بين المحتوى الكمي للكربوهيدرات والدهون والبروتين الذي يظهر عند المقارنة بين عينتي عنابة والبليدة يعود إلى الظروف البيئية والترابية و وقت الجني (El Bouzdoudi *et al*., 2016)، كذلك فإن التركيب الكيميائي لقرون الخروب يعتمد على الصنف والمنطقة ووقت الحصاد (الفيحان ومصري.،2016).

- ✓ **المحتوى الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات**

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ وجود اختلاف مع تناسب طردي في المحتوى لكل من عديدات الفينول والفلافونويدات لنبات الخروب. في الواقع، أشار (YDJEDD *et al* .,2017) من خلال تجاربه على عينات الخروب الجزائري إلى أن نسبة المركبات الفينولية كانت أعلى في الثمار الغير طازجة مقارنة بالثمار الطازجة وفسر ذلك بأن الفاكهة لا تزال في مرحلة النمو وهي تحتاج للمركبات الفينولية لحمايتها ضد العواشب، مسببات الأمراض، الحرارة والأشعة فوق البنفسجية. وكون الخروب غنيًا بالبوليفينول، فقد أثار اهتمام العديد من الباحثين الذين وجدوا أن البوليفينول الموجود في الخروب يقلل من

مستوى الجلوكوز في الدم، ووفقا لعمل بن حسونة وآخرون (1986) يحتوي بوليفينول الخروب على مضادات الأكسدة بالإضافة إلى النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات، بالإضافة إلى أنها تعمل ضد الإجهاد التأكسدي في خلايا القولون ، الذي يمنح خصائصه المضادة للسرطان، وقد تم إثبات ذلك في عمل (KLENOW *et al*,.2009)، بينما وجد (SIGGE *et al.*, 2011) أن الخروب يحتوي على مادة البوليفينول ذات الخصائص المضادة للإشعاع. وقد ذكر (YOUSSEF *et al*.,2013) أن الخروب يعتبر من الأغذية ذات القيمة الغذائية العالية وذلك نظرا لارتفاع محتواه من الألياف الغذائية والمركبات الفينولية، والألياف الذائبة الموجودة فيه لها دور وقائي ضد أمراض القلب وتخفض مستوى الكوليستيرول في الدم، إذ وجد أن مسحوق الخروب يحتوي على 11 مركب فينولي حيث سجلت Protocatechuic , Chlorogenic, Catechol, Pyrogallol أعلى القيم في حين سجلت Ferulic, Coumarin, Cinnamic,Vanillic, Gallic acid أقل قيم للمركبات الفينولية.

وبالعودة إلى قيمة المحتوى الكمي لعديدات الفينول والفلافونويدات الكلية فإن نتائجنا النتائج المحصل عليها ضعيفة مقارنة مع ما وجد (AYAZ *et al*.,2007) حيث أن ثمار الخروب المجموعة من منطقة أنطاليا في تركيا احتوت على 13.51 ملغ/غ، وما وجدوه (الفيحان و مصري ،.2016) حيث احتوت قرون الخروب السوري على فينولات كلية بقيمة تراوحت بين 43.17 و 85.24 ملغ مكافئ حمض الغاليك /100 غ مادة جافة) في العينات التي جمعها من حماة والساحل على التوالي. بينما كانت قريبة من نتائج (BENGOECHEA.,2008) حيث تحصل على قيم 0.45 ملغ/غ و 0.56 ملغ/غ على التوالي.

كما تبين أن كمية الفينولات والفلافونويدات المتحصل عليها في المستخلص الميثانولي من خلال دراسة (SEBAI *et al*.,2013) التي طبقها على الخروب التونسي احتوائه على نسب قدرت بـ 8.36 ملغ/غ و 2.49 ملغ/غ على التوالي. بينما وضحت دراسة (EL BOUZDOUDI *et al* .,2016) على الخروب المغربي احتوائه على الكثير من الفينولات المتعددة تختلف نسبتها باختلاف الظروف البيئية والجغرافية المختلفة، وكذلك الجينات الحامل لها حيث بدت أصناف أشجار الخروب الخنثى أكثر ثراء من ناحية الفينولات الكلية مقارنة مع الإناث.

ويمكن أيضا تفسير هذا الاختلاف الذي لوحظ في دراستنا وباقي الدراسات المختلفة من خلال موضعه الجغرافي، الصنف، والتنوع، وخاصة درجة النضج (ABI AZAR., 2007).

✓ **المحتوى الكمي للتانينات القابلة للتحلل والتانينات المكثفة**

ربطت العديد من الدراسات الوبائية العلمية بين استهلاك الفاكهة والخضروات مع انخفاض خطر الإصابة بالسرطان والأمراض التنكسية وأمراض القلب والأوعية الدموية، حيث أظهرت نشاط بيولوجي قوي في شكل مضاد للورم. مضاد للطفرات، مضاد للسكري، مضاد للتكاثر، مضاد للجراثيم، وبذلك تحظى التانينات باهتمام متزايد في مختلف المجالات العلمية والتجارية، وخاصة في قطاع الغذاء بسبب قابضيتها المعروفة التي تؤثر على جودة الغذاء. وقد تزيد أيضًا من مدة صلاحية الأطعمة نظرًا لخصائصها المضادة للأكسدة ونشاطها المضاد للميكروبات (SIGGE et *al*.,2011).

وعند النظر لنتائج محتوى التانينات المكثفة نجد أن قرون الخروب غنية جدا، وقد أثبت ذلك في دراسة سابقة (GAOUAR.,2011) لكل من منطقة تلمسان، البليدة وجيجل بقيم قدّرت بـ 0.21 mg/g و 0.13 mg/g و 0.09 mg/g على التوالي، ومحتوى أقل من التانينات المتحللة قدّر عند منطقة جيجل بـ 0.05 mg/g، وعند منطقتي البليدة وتلمسان بقيمة متساوية قدرت ب 0.03 mg/g. ومقارنة هذه النتائج مع ما تحصلنا عليه فإن نتائجنا كانت ضعيفة نوعا ما.

كما لاحظ AVALLONE وزملاؤه (1997) أيضا محتوى أعلى من التانينات المكثفة mg/g 2.75 مقارنة بالتانينات المتحللة وذلك لإن مادة البوليفينول الرئيسية الموصوفة في قرون الخروب غير قابلة للذوبان، ومبلمرة للغاية، وتنتمي إلى التانينات المكثفة التي تحتوي على نواة فلافان.

كما أن النتائج المتحصل عليها في المستخلص الإيثانولي في دراسة (بن علي ومفتاح .،2019) لثمار الخروب الغير الناضجة كانت أعلى مقارنة بما تحصلنا عليه حيث كانت قيم التانينات المكثفة والمتحللة ug/mg 205.5 و ug/mg 78.800 على التوالي ويعزى ذلك إلى أن النبات يحتاج هذه المركبات خلال مراحله نضوجه لحمايته من الطفيليات والكائنات الدقيقة الضارة .

✓ **محتوى الفعالية المضادة للأكسدة AAO**

❖ **نتائج الجذر الحر DPPH**

تم الاعتماد على الجذر الحر باعتباره الاختبار الأفضل والأسهل، ومن بين الاختبارات الأكثر استعمالا في الكشف عن قدرة المستخلصات النباتية على كبح واقتناص الجذور الحرة، نظرا لاستقرار هذا الجذر وثباته (MOSQUERA *et al*.,2007) وإمكانية تتبع عملية إرجاعه لونيا، وذلك يتجلى مرئيا من خلال تغير لونه من البنفسجي إلى الأصفر عند تفاعله مع العامل المضاد للأكسدة (جيدل.،2009).

ومن خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ وجود فارق كبير بين نسب التأثير الإزاحي للمستخلصين، حيث أبدى مستخلص حمض الأسكوربيك أفضل فعل كابح للجذر الحر مقارنة مع باقي المستخلصات، واعتمادا على القاعدة التي تقول أنه كلما انخفضت قيمة IC_{50} زادت النشاطية المضادة للأكسدة (NETO *et al.*,2016) فإنه يمكن القول بأن القدرة الكابحة للجذور الحرة في مستخلص خروب عنابة أقوى من مستخلص خروب البليدة مقارنة بقدرة المرجع القياسي (حمض الأسكوربيك). وفي دراسة أخرى قامت بها (OUIS et HARIRI.,2017) حول الفعالية البيولوجية لثمار نبات الخروب باستعمالها لأربعة مذيبات أسيتات الإيثيل، بيتانول، ميثانول إضافة للمستخلص المائي حيث سجلت أكبر فعالية لمستخلص أسيتات إيثيل ب 62.5 ug/ml يليه المستخلص الميثانولي ب 125 ug/ml ثم المستخلص البيتانولي ب ml 250 ug/ وأخيرا المستخلص المائي ب 450 ug/ ml حيث تنحصر هذه القيم بين التي تحصلنا عليها.

وفي بحث آخر بين (BENCHIKH *et al.*, 2014) أن ثمار نبات الخروب الغير ناضجة لديها فعالية تثبيط أكبر للجذور الحرة مقارنة بالثمار الناضجة، مؤكدا بذلك أن القدرة المضادة للأكسدة تختلف مع اختلاف طبيعة المستخلصات ومرحلة النضج.

وفي دراسة أخرى لـ (CUSTODIO.,2011) التي أجرتها على خمس أصناف مختلفة من الخروب البرتغالي تباين في النتائج إذ أن هذه الاختلافات ترجع إلى التنوع الجيني العالي واختلاف المعلومات الوراثية يؤدي إلى تباين النشاطية المضادة للأكسدة الذي يحدث بين أصناف هذا النوع، وكذلك حسب الملف الكيميائي النباتي لكل صنف.

في حين بين العديد من الباحثين أن القدرة التثبيطية للمركبات النباتية على الجذر لها علاقة كبيرة بالبنية الكيميائية، ويمكن ربط الفعالية المضادة للأكسدة لهذه المستخلصات بمحتواها من المركبات الفينولية، وتعتمد كفاءة هذه المركبات الفينولية كمضادات أكسدة على عدد مجموعات الهيدروكسيل المرتبطة في الحلقة العطرية (DEBOUBA *et al.*, 2012).

من خلال النتائج المتحصل عليها يتضح أن هناك علاقة طردية بين محتوى عديدات الفينول والفلافونويدات في المستخلصات النباتية والنشاطية المزيحة للجذور الحرة لهذه المستخلصات وهو ما أكده (LOCATELLI *et al.*, 2010).

❖ **نتائج القدرة الإرجاعية FRAP**

يعتبر اختبار الـ Ferric Reducing Antioxydant power أو الـ FRAP من أفضل وأسهل وأقدم الاختبارات المعتمدة وأكثرها موثوقية (KATALINIC *et al.*, 2005) يختص بدراسة فاعلية مضادات الأكسدة من حيث قدرتها الإرجاعية لمختلف الجذور الحرة، ويستخدم عادة لدراسة مدى قدرة المستخلصات النباتية على تثبيط عملية الأكسدة، حيث ترتكز تقنية هذا الاختبار على قياس التغيرات التي تحدث في الامتصاصية الضوئية بسبب ظهور اللون الأزرق الناتج عن إرجاع مضادات الأكسدة لمركب الحديد الثلاثي Fe^{3+} إلى الحديد الثنائي Fe^{2+} في وسط تفاعل حمضي (BENZIE *et al.*,1996).

ومن خلال النتائج المتحصل عليها وبالاعتماد على القاعدة التي تقول أنه كلما زادت الامتصاصية الضوئية لمزيج التفاعل تزيد القدرة الإرجاعية للمستخلص المدروس (HUBERT.,2006) فإنه يمكن القول أن القوة الإرجاعية للمستخلصات النباتية ضعيفة نوعا ما مقارنة مع المرجع القياسي حمض الأسكوربيك .

❖ **نتائج إنحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse**

يعتبر إختبار الـ Hémolyse من أسهل وأسرع التجارب IN VIVO المعتمدة لتحديد قدرة المستخلصات النباتية المضادة للأكسدة (BANERJEE *et al.*, 2008)، حيث استعملنا في دراستنا هذه كل من البيروكسيد H_2O_2 و ثلاثي كلور الحديد $FeCl_3$ كعوامل محرضة للإجهاد التأكسدي ضد كريات الدم الحمراء، حيث تم تحفيز نشاطها في درجة حرارة الإنسان الفسيولوجية، ليتم تتبع قدرتها على مقاومة الجذور الحرة ROS في وجود المستخلصات المدروسة لونيا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية، حيث أظهرت نتائجنا فعالية ضد انحلال كريات الدم الحمراء، في حين ظهر لنا فارق ملحوظ مقارنة بحمض الأسكوربيك المعتمد كمرجع قياسي والذي تفوق بدوره على مستخلصي خروب عنابة والبليدة.

وهذه النتائج تتوافق مع تلك التي تحصلنا عليها في اختبار الجذر الحر • **DDPH**، حيث كانت النشاطية المضادة للأكسدة جيدة نوعا ما.

الخاتمة

الحمد لله الذي تتنزل به البركات والرحمات وتتم بنعمته الصالحات والصلاة والسلام على خير الخلق محمد ﷺ .

تحتل النباتات الطبية في الوقت الحاضر مكانة عظيمة في الإنتاج الزراعي والصناعي للكثير من دول العالم، خاصة وأنها تعد المصدر الأساسي للخلاصات والمواد الفعالة التي تستعمل في صناعة الدواء، كما تعد أحد المصادر الهامة بل والرئيسية للعقاقير الطبية ذات الأصل النباتي.

تكمن أهمية بحثنا الذي يتضمن دراسة نبات مهم من العائلة البقولية وهو *Ceratonia* النامي في كل من منطقة البليدة وعنابة وذلك بهدف مقارنة المحتوى الكمي لهذه النبتة في المنطقتين وللتعرف على محتوى المواد الفعالة في النبتة قمنا بدراسة فيتوكيميائية لنواتج الأيض الثانوي وذلك بتحضير المستخلص الميثانولي واستخدامه في دراستنا بداية بالكشف الكيميائي عن بعض المركبات والمتمثلة في التانينات، القلويدات، الفلافونويدات، الصابونوزيدات، الكومارينات، الراتنجات، المركبات المرجعة، الزيوت الطيارة، التربينات والستيرولات، ثم قمنا بدراسة محتوى القيمة الغذائية للكربوهيدرات والبروتينات والدهون، وكذلك التقدير الكمي للفينولات والفلافونويدات والتانينات المتحللة والمكثفة.

للوقوف كذلك على الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الميثانولي والتي قمنا بتقديرها بثلاثة إختبارات مختلفة، أولا النشاطية المثبطة للجذور الحرة باستعمال اختبار الجذر الحر•DPPH، التي بينت نتائجها تفوق حمض الأسكوربيك بأعلى نسبة تثبيط (IC_{50}=14.68µg/ml)، تليه عينة عنابة بـ (IC_{50}=74.29µg/ml)، ثم عينة البليدة ب(IC_{50}=174.88µg/ml)، وفي اختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP، سجلنا اعلى نسبة تثبيط في عينة عنابة والمقدرة ب(IC_{50}=0.13234mg/ml) بعد حمض الأسكوربيك، بينما في اختبار انحلال كريات الدم الحمراء تميزت عينة البليدة بأقل نسبة انحلال قدرت بـ 78.21%.

ومما سبق ، نستخلص أن تغير الظروف البيئية المحيطة بالنبات من تربة ومناخ يمكنها أن تؤثر على الخصائص الكيميائية للنبات وبالتالي على فعاليته البيولوجية والطبية، وبالتالي النشاطية المضادة للأكسدة ، وقد ظهر ذلك من تباين محتوى عينات النبات المأخوذة من مواقع جغرافية مختلفة.

وأخيرا ، نأمل أن تكون هذه الدراسة بداية لتثمين نبات الخروب كونه مصدر طبيعي غني بالمواد الفعالة جدير بالاهتمام مما يفسر شيوعه في الطب التقليدي، كما نأمل إجراء دراسات إضافية أخرى أكثر تعمقا لمعرفة هذه المركبات بالتحديد وذلك عن طريق فصلها بطرق مختلفة وحساسة واختبار فعاليتها المضادة للأكسدة مع تحديد قيمة IC_{50} لكل مركب على حدا بالإضافة إلى ذلك يتطلب دراسة تأثير

المستخلص على نماذج حيوانية (in vivo) للتأكد من التأثير العلاجي الفعال لمستخلص ثمار النبتة، كما لا ننسى دراسة الأعراض الجانبية الناتجة عن استخدام هذا الجزء النباتي حتى نحتاط من كيفية استعماله قبل النصح باستعماله للعلاج من طرف الإنسان لأمراض مختلفة.

قائمة المصادر والمراجع

باللغة العربية :

- **أبو القاسم إ، البلبالي ز، عثمان ز، أبو خريص ع م، هواد ع ف، والسنوسي المختار إ.،2016-** دراسة التأثير الحيوي للمستخلص المائي والعضوي لنبات حبة البركة ونبات حب الرشاد على بعض أنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام، مجلة جامعة سبها "العلوم البحثة والتطبيقية" المجلد الخامس عشر العدد الأول.
- **إراتني ن.،2008-** دراسة التأثير المضاد للبكتيريا والمضاد للأكسدة لمستخلصات *Artemisia herba alba* و *Punica garanatum* وأنواع *Quercus* وبعض المركبات الفينولية، مذكرة ماجستير، جامعة فرحات عباس.
- **أمقران م، مباركي س.،2018-** السياحة البيئية في الجزائر، الواقع والإمكانيات، دراسة حالة ولاية البليدة، مجلة الباحث في العلوم الإنسانية والاجتماعية، جامعة البليدة 2 (الجزائر).
- **بن جامع ع.،2008-** المحتوى الكيميائي لبذور وأوراق أصناف من القمح الصلب *Triticum durum Desf* النامية تحت ظروف الإجهاد ونقعا ورشا(AIA) المعاملة بالأوكسجين. جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر، ص105.
- **بن سلامة ع.ا.، 2011** -النشاطات المضادة للأكسدة والمثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *Hertia cheirifolia L.* مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء. جامعة فرحات عباس. سطيف. الجزائر. 90 ص.
- **بن عربية ع.، 2013** -دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia Inermis* لولاية أدرار، مذكرة ماستر، قاصدي مرباح، ورقلة ص 54.
- **بن مرعاش ع.، 2012** – دراسة نواتج الأيض الفلافونويدي والفعالية المضادة للأكسدة لنبتة *Convolvulus supinus*. مذكرة ماجستير، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر ص 91-102.
- **بوخبتي ح.،2010** – النباتات الطبية المتداولة في المنطقة الشمالية لولاية سطيف دراسة تشريحية لنوعين من من جنس *Mentha* والنشاطية ضد البكتيرية لزيوتها الأساسية. مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير. جامعة فرحات عباس، سطيف ص 116.
- **تومیات ك، مسلم ز.، 2018**-المساهمة في الكشف عن المنتجات الفعالة لثمار نبات مع، *Ceratonia Siliqua* مع، دراسة النشاط البيولوجي للمركبات الفينولية. مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماستر، جامعة العربي بن مهيدي أم البواقي ص13.

- **جرموني م.، 2009**- النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium*. مذكرة الماجستير، جامعة فرحات عباس سطيف ص 95.
- **جندل ج م.،2011**- الطب الشعبي دليل موسع لعلاج الأمراض بالأدوية الطبيعية الخالية من الإضافات الكيميائية الضارة – الفصل الأول(الدواء)، دار الكتب العلمية، ص33.
- **جيدل ص.،2009**- تقدير المحتوى الفينولي والتاثير المضاد للأكسدة لمستخلصات بعض النباتات الطبية المستعملة تقليديا في علاج اضطرابات الجهاز الهضمي وارتفاع ضغط الدم، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير، جامعة فرحات عباس، ص21.
- **جيدل ص.،2015**- تقدير المحتوى الفينولي والتأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نبات *Artemisia campestris l* و *Pistacia lentiscus l* و *Argania spinosa l*. أطروحة مقدمة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة فرحات عباس، سطيف، ص76-85.
- **الحسنين ي.،2009**-النبات الاقتصادي، المكتبة الأكاديمية ص154.
- **الحسيني م والمهدي ت، 1990**- النباتات الطبية زراعتها _مكوناتها_ استخداماتها العلاجية، مكتبة ابن سينا للنشر والتوزيع القاهرة، مصر، ص13-93-389.
- **الحلو ر م، البكري إ م، الصباغ م م.،2013-استخلاص** الفينولات من مياه عصير الزيتون بمحلات مختلفة ودراسة فعالية المستخلصات كمضادات أكسدة، مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، 29(2):310-309.
- **حمداش ع.، 2001**- زراعة محصول الحمص بالمناطق الساحلية والشبه الساحلية معهد التقني للمحاصيل الحقلية، ص- 21.
- **حمزة ع م.،2006**-النباتات الطبية العالمية-وصفها-مكوناتها طرق استعمالها وزراعتها، منشأة المعارف بالإسكندرية مص، ص355.
- **حميدي ن د.،2015** – الدراسة الفيتو كميائية والتقييم البيولوجي للفاقونيا لونجيسينا *FagoniaLongispina) (Zygophyllaceae)* نبات من الجنوب الغربي للجزائر، مذكرة دكتورا، جامعة أبي بكر بلقايد، تلمسان، ص 49-54.
- **الخطيب أ.،1979**- الفصائل النباتية، ديوان المطبوعات الجامعية بن عكنون، الجزائر، ص57-62.
- **زردومي س.،2015**- دراسة تشريحية ودراسة النشاطية الضد بكتيرية والضد تأكسدية للزيت الأساسي ل *Artemisa campestris L* في منطقة آريس، مذكرة ماجستير، جامعة فرحات عباس ص 17.

- **زمالي ج.،2007**- دراسة فيتوكيميائية وبيولوجية لنبتة . *Salanum nigrum* مذكرة ماجستير في الكيمياء. جامعة قاصدي مرباح ورقلة. ص 39، 104.
- **سامي م ص، احمد مراجع ع ر.، 2018- تحسين استنبات بذور أشجار الخروب** (*Ceratonia siliqua L*) باستخدام طرق معالجة مختلفة، مجلة المختار للعلوم33(3)240-249.
- **سعد ش إ.،1994**- النباتات الزهرية: نشأتها، تطورها، تصنيفها. دار الفكر العربي، القاهرة، مصر، ص:312-592.
- **سعدان ر.،2005**- الحياة الاجتماعية في الفضاءات العمرانية الجديدة المنطقة الحضرية للبوني- عنابة- نموذجا، مذكرة تخرج مقدمة لنيل شهادة الماجستير، جامعة باجي مختار، عنابة.
- **الشافعي د م.،2012**- مضادات الأكسدة_ بدونها أنت مريض، دار الخطيب للنشر والتوزيع، عمان، الأردن.
- **الشافعي د م.،2014**- النباتات الطبية والغذاء الصحي، دار الخطيب للنشر والتوزيع، عمان، الأردن.
- **شباح ك.، 2008**- فصل و تحديد منتجات الأيض الثانوي الفلافونيدي Phoenix dactylifera (Degla beida) مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص 98.
- **الشمري خ إ والجبوري خ ر.،2016**- دراسة مورفولوجية تشريحية لأنواع من جنسAstragalus العائلة البقولية Fabaceae family في العراق، مجلة العلوم الحديثة والتراثية،4(2):202-192.
- **العابد ا.، 2009**- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة للمستخلص القلويدي الخام لنبات الضمران *Traganum nudatum*، مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة ص38-39-106.
- **عبده ع م إ، فكري ك ك.، 2019**- دليل إنتاج محصول الخروب، المركز القومي للبحوث، 26ص.
- **عزري خ.،2013** - دراسة الليبيدات والفينولات في بعض أنواع التمر المحلي، مذكرة ماجستير، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، ص 53-55.
- **العطيات أ ف.،1995**- النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي _زراعتها _معالجتها _تصنيعها _الباب الأول _الفصل الأول (القيمة الاقتصادية للنباتات الطبية والعطرية)، ص21-22-23-181.
- **علامة م ح ورزق هـ م.،2016**- أسرار الشفاء بالطبيعة، دار القلم للطباعة والنشر والتوزيع، ص5-11-24.

- **عمر ل.، 2010**–دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح *Artemisia herba alba Asso.* مذكرة لنيل شهادة الماجستير في بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات. جامعة فرحات عباس. ص 90.
- **عودة س.م.،2014**– محاضرات في النباتات الطبية والعطرية، قسم البستنة وهندسة الحدائق، كلية الزراعة، المحاضرة الثالثة، ص 11.
- **العيد ص.،2010**– صيدلية النباتات والأعشاب الشافية، دار عالم الثقافة للنشر، ص11.
- **الفيحان إ، مصري م.، 2016**– الخصائص الفيزيائية والتركيب الكيميائي لثمار الخرنوب المنتشرة في المنطقة الوسطى والساحلية، مجلة جامعة البحث، المجلد 38، العدد 39، 43–44.
- **القحطاني ج س م.،2008**–موسوعة جابر لطب الأعشاب _الجزء الأول _الطبعة الثانية، مكتبة العبيكان، ص45–48.
- **القحطاني ج س م.،2011**– الطب البديل مكمل للطب الحديث _الطبعة الأولى، مكتبة العبيكان للنشر، ص467.
- **قمولي أ.، 2011**– دراسة الكتروكيميائية لفينولات بعض نوى التمر المحلي. شهادة ماستر. جامعة قاصدي مرباح. ورقلة. ص 22– 39 –69.
- **محمد أ ج.،2012**– دراسة القيمة الغذائية لمسحوق قرون الخروب وتأثيره في تركيز الغلوكوز والدهون في دم الأرانب، مركز بحوث الموارد الطبيعية، قسم البحوث الزراعية.
- **محمد بو عبد الله س.، 2011** –دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia sinensis* على النشاطية المضادة للأكسدة والنشاطية المضادة للبكتيريا. مذكرة ماجستير، جامعة منتوري، قسنطينة، ص. 12–11
- **مخدمي ن.،2014** –مذكرة ماجستير: استعمال المستخلصات المائية لنبتتي *Matricaria pubsccns* و*Pituranthos choranthos* كمعطرات طبيعية لجبن أمير، ودراسة النشاطية ضد البكتيريا لزيتها العطرية، مذكرة ماجستير، جامعة فرحات عباس، سطيف، ص 8–9.
- **مريخي ي.،2010**– التوازن البيئي والتنمية السياحية المستدامة لولاية عنابة، مذكرة مقدمة لنيل شهادة الماجستير، جامعة منتوري قسنطينة.
- **ميثاق ج.،2010 –** بحث وتحديد نواتج الايض الثانوي لنبات القات *Catha edulis* من *العائلة* (Celastraceae) ونبات البوليكاريا *Pulicaria jauberti* من العائلة (Asteraceae) وتقييم الفعالية البيولوجية، رسالة دكتوراه، جامعة منتوري، قسنطينة، ص 39

- **النسر ن ع، الشريف و م، وهبة ن م.،2013**- دور مضادات الأكسدة وعلاقتها بالصحة العامة، مجلة أسيوط للدراسات، العدد الثامن والثلاثون.
- **نعمه ج، أبو مجداد، جبر م.، 2007-** تقييم الفعالية الضد المايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدر *Ziziphus spina- christi* (L) Desf ، مجلة البصرة للعلوم(ب)، مجلد (25)، العدد (1)،1- 16.
- **هيكل م وعمر ع.، 1988**- النباتات الطبية والعطرية كيمياؤها_ إنتاجها _ فوائدها، الطبعة الثانية، دار منشأة المعارف، الإسكندرية، مصر، ص 13.
- **وائل غالب م.،2008**- أسس الكيمياء العضوية، دار الكتب الوطنية، بنغازي، ليبيا، طبعة1.
- **يحي ت الحاج.،2003**- النبات والطب البديل، الدار العربية للعلوم، ص101-229-230.

باللغة الأجنبية:

- **AIT CHITT M, BELMIR M, ET LAZRAK A., 2007-** production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier, transfert de technologie en agriculture, $N^0$153.IAV Rabat, pp :1-4.
- **ABI AZAR R., 2007-** complexassion de proteins laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus, agrouparistech Ecole doctora le abies, thèse doctorat.
- **AMIRA K., 2013-** Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires et l'effet d'un régulateur de croissance, RH-0345 sur le développement et la reproduction de Culex pipiens. Thèse de Doctorat, Université Annaba, Algérie, p75.
- **AVALLONE R, PLESSI M, BARALDI M, Et MONZANI A, 1997-** determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. journal of food composition and analysis p: vol. 10, p:166–172
- **AYAZ F A, HULYA T R, GLEW H, BACK Z D, CHUANG L T, PRESELEY M J, ANDREWS R., 2009-** nutrient content of carob pods (*Ceratonia siliqua L.*) flour prepared commercially and domestically, plant foods hum nutr 64:286-292.
- **AZZI R ,2013** - Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le -traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Quest algérien :enquéte ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de figuire *Ficus carica* et de coloquinte(*Citrullus colocynthis*) chez le rat wister.these doctrorat en biologie , Universite Abou Bekr Belkaid Tlemcen ,169p.
- **BASTON D.,** 2016- production and analysis of *ceratonia siliqua L*. article, jos university of galati, romania, p 50
- **BATTLE I, TOUS J., 1997-**Carob tree (*Ceratonia siliqua L.*) Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops, vol. 17, Institute

of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetics Resources Institute, Rome, p. 20- 92

- **BELDI H**., **2007**- Etude de gambusia affinis (poisson, téléostéen) et donax trunculus (mollusque, pélécypode) : écologie, physiologie et impacts de quelques. thèse de doctorat, université annaba, algérie, p86.
- **BENCHICK Y, LOUAILECHE H, GEORGEB B And MERLINB A., 2014**- changes in bioactive phytochemical content and in vitro antioxidantactivity of carob (*Ceratonia siliqua L*.) as influenced by fruit ripening. Industrial crops and products. 60. p: 298–303.
- **BENGEOCHEA C, ROMERO A, VILLANUERA A, MORENO G, ALAIZ M, MILLAN F, GUERRERO A, PUPPO M C.,** 2008- composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua L*.) germ proteins, food chemistry, 107: 675-683.
- **BENZIE, I.F., STRAIN, J.J., (1996)**: The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Anal Biochem, 239: 70-76**
- **BERROUGUI H. ,2007**- le caroubier (*Ceratonia siliqua L*.) une richesse nationale au vertus médicinales, maghreb canada express Vol 5. N^0 9.
- **BINER B., GUBBK H., KURHAN M., AKSU M. ET PEKMESCI M., 2007**- sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua L*.) in Turkey, food chemistry, 100. 1453-1455.
- **BRUNETON J., 2009-**Pharmacognosie, Phytochimie. Plantes médicinales. $^{é}3^{me}$édition revue et augmentée,p:04.
- **CIULEL I., 1983-** methdology for analysis of vegetable drug. romania. 1 tinal ltd, london. 13 th edition. 62p.
- **CROTEAU R., KUTCHAN TM & LEWIS NG., 2000**- Natural products (secondary metabolites.) Biochemistry and Molecular Biology of Plants, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, eds. American Society of Plant Physiologists, Rockville.

- **CUSTODIO L, ESCAPA A L, FERNANDES E, FAJARDO A, ALIGUE R, ALBERICIO F, NENG N, NOGUEIRA J M F, ROMANO A.,2011**- phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic activities of the carob tree (*Ceratonia siliqua l*) germ flour extracts, Plant foods hum nutr 66:78-84.
- **DAHOU N, YAMKI K, TAHROUCH S, IDRISSI- HASSINI L M, GMIRA N., 2003**- screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymelaea lythroides*. ed., bull. soc. pharm., bordeaux.67p.
- **DAKIA P., WATHELET B. et PAQUOT M., 2007**. Isolation and chemical evaluation of carob *(Ceratonia siliqua L.)* seed germ. Food Chem., 102, 1368-1374.
- **DEBOUBA M, BALTI R, HWIWI S, ZOUARI S, 2012-**Antioxidant capacity and total phenols richness of *Cistanche violacea* hosting *Zygophyllum album.* International Journal of Phytomedicine. 4(3): 399-402.
- **DIGHE, N. S., PATTON, S. R., DENGALE, S. S., MUSMADE, D. S., SHELAR, M., TAMBE, V & HOLE, M. B., 2010**- Synthetic and pharmacological profiles of coumarins. Archives of Applied Science Research. 2(2), p: 65-71.
- **DUMITRU1 G., ABIDAR S., NHIRI M., HRITCU1 L., BOIANGIU1 R S., SANDU I., TODIRASCU-CIORNEA1 E.,2018-** Effect of *Ceratonia siliqua* Methanolic Extract and 6-hydroxydopamine on Memory Impairment and Oxidative Stress in Zebrafish (Danio rerio) Model, REV. CHIM.(Bucharest) 69.N°.121.
- **DIRK, H.R., RICHARD, A., (2000)**: The avian dispersal of olives *Olea europeae* implications for Australia. Journal of Bird Life Australia, 100(4): 265.
- **DRICI F., BENSOUNA M., 2017**- Caractérisation et mesures morpho-métriques des ressources du caroubier (*Ceratonia siliqua L.)* au niveau de la Wilaya de Tlemcen, diplôme de master, abou bakar belkaid, tlemcen p09

- **DROG, W., (2002).** Free radicals in the physiological control of cell function. Cell Physiol. 82, 42.
- **DUBOIS, M.K., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P. A., SMITH, F., (1956)**: Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal Chem, 28:350-356.
- **ELBOUZDOUDI, B., NEJJAR E ELANSARI, Z., MANGALAGIU I., MANTU D., BADOC, A Et LAMARTI, A., (2016).** determination of polyphenols content in carob pulp from wild and domesticated moroccan trees. *american journal of plant sciences***.** vol.7 no.14.
- **ELBOUZDOUDI, B., NAJLAE, A., NICOLAS, J., PATRICK, M., RABAH, S., NEJJAR E ELANSARI, Z. BOURAS, M., BADOC, A & LAMARTI, A., (2017)**. Total Polyphenols and Gallic Acid Contents in Domesticated Carob (*Ceratonia siliqua L*.) Pods and Leaves. Int. J. Pure App. Biosci. 5 (4): 22-30.
- **ELKAHKAHI R, MOUSTAINE M, MOUHAJIR A, BACHIR S, LEMRHARI A, ZOUHAIR R, AIT CHITT M, ERRAKHI M R., 2016-** technical sheet on culture carob tree (*Ceratonia siliqua L*) in morocco, hal archives ouvertes.
- **FADEL F., CHEBLI B., TAHROUCH S., BENDDOU A Et HATIMI A., 2011-** activité antifongique d'extraits de *Ceratonia siliqua* sur la croissance in vitro de *Penicillium digitatum*. bull. soc. pharm. bordeau150 (1-4), p : 19-30.
- **FAVIER A., 2003-**Le stress oxydant, intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique, p108 -115.
- **GAOUAR N., 2011-** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés algériennes, thèse en vue de l'obtention du diplôme de magister en agronomie, université abou bakr belkaid, tlemcen.
- **GHEDIRA K, GOETS P.,2019-** caroubier: *Ceratonia siliqua L* (Fabaceae)**,** phytothérapie 17:286-290.

- **GOLDSWORTHY, A.C., MORDUE, W., GUTHKELCH, J., (1972):** Studies on insect adipokinetic hormone. Gen Comp Endocrinal, 18: 306-314.
- **GUETTAF, S., ABIDLI, N., KARICHE, S., BELLABCIR, L., BOURICHE, H., (2016):** Phytochemical screening and antioxidant activity of aqueous extract of *Genista saharae* (Coss. & Dur.). Scholar Research Library,
- **HARIRI A., OUIS N., SAHNOUNI F ET BOUHADI D., 2009**-mise en oeuvre le fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, rev, microbiol, ind . san et environn, pp, 37-55.
- **HARRAR A., 2012-** activités anti oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire magister, Université Farhat Abbas Sétif, p 95.
- **HUBERT, A.J., (2006) :** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine. Thèse de doctorat, L'institut national polytechnique de Toulouse, France, p : 174.
- **IRAHIMI, N.S., HADIAN J., MIRJALILI, M.H., SONBOLI, A., YOUSEFZADI, M., (2008):** Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages. Journal of Food Elsevier Chemistry, 110: 929.
- **JAYANTHI, P., LALITHA, P., (2011):** Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (mart.) Solms. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3: 126-128.
- **KATALINIC, V., MODUN, D., MUSIC, T.I., BOBAN, M., (2005)**: Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2Vazinobis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. Comp Biochem Physiol, 140: 47-52.
- **KHLIFA M., BAHLOUL A et KITIANE S., 2013-** determination of chemical composition of carob pod (*Ceratonia siliqua L*) and its morphological study. j. mater. 4 (3), pp: 348-353.

- **KLENOW S., JAHNS F., POOL-ZOBEL B.T., GLEI M., 2009-** Does an extract of carob (*Ceratonia siliqua L*) have compreventive potential related to oxydative stress and drug metabolism in human colon cells, J. Agric Food Chem, Vol.57. N°7. pp: 2999-3004.
- **LACHKAR N., Al-SOBARRY M., El HAJAJI H., LAMKINSI T., LACHKAR M., CHERRAH Y & ALAOUI K., (2016).** Anti-inflammatory and antioxidant effect of *Ceratonia siliqua L*. methanol barks extract. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 8(3), P: 202-210.
- **LEYBROS J, FREMEAUX P., 1990-** Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur. Génie des procédes. Vol. (2J2780) : J2780 .1-J2780.22.
- **LIPUMBO L., SIGGE G O., ET BRITZ T J., 2008**-compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua L*) cultivars and development of nutritional food products for a range of market sectors, south Africa faculty of agrisciences department of food sciences, stellen bosh university
- **LOCATELLI M., TRAVGALI F., COISSON J.D., MARTELLI A., STEVIGNY C & ARLORIOM., (2010).** Total antioxidant activity of hazelnut skin (*Nocciola piemonte* PGI): Impact of different roasting conditions. Food Chemistry. 119. P: 1647 – 1655.
- **LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., (1951):** Protein measurments with the folin phenol reagent. J Biol Chem, 193: 265-275.
- **MAHDAD M. ,2013 –** Situation et perspectives d'amélioration du caroubier (*Ceratonia siliqua L.)* dans le Nord-ouest de l'Algérie, diplôme de magister, abou bakar belkaid, tlemcen P5-17.
- **MAHMOUDI, S., KHALI, M., MAHMOUDI, N., (2013)**: Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L*.). Revue « Nature & Technologie » Science Agronomique et Biologique, (9): 35.

- **MAKRIS D P., KEFALAS., 2004**- carob pod as a source of polyphenolic Antioxidants, food technol, biotechno, Vol. 42, N°2,105-108.
- **MEDINI F ., CHEDLY A ., 2014-** total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant *(Limonium delicatulum)* , Journal of Taibah University for Science vol 8, p216-224.
- **MICHAEL. (2010).** Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. 2nd ed. p. –(Annual plant reviews ; v.40), A John Wiley & Sons, Ltd., Publication.
- **MOHAMMDI Z., 2011**- Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavanoides de quelque plantes de la région de Tlemcen Mémoire de Magister, Université de Tlemcen, Algérie, p:18-50
- **MOLE S And WATERMAN P., 1987**-"a critical analysis of techniques for measuring tannins in ecological studies." oecologia, 72(1), 137-147
- **MOSQUERA, O.M., CORREA, Y.M., BUITRAGO, D.C., NIÖ, J., (2007):** Antioxidant activity of twenty five plants from Colombian biodiversity. Mem Inst Oswaldo Cruz, 102: 631-634.
- **NETO, J.R.L., UCHÔA, A.D.A., MOURA, P.A., FILHO, C.M.B., TENÓRIO, J.C.G., SILVA, A.G., XIMENES, R.M., SILVA, M.V., CORREIA, M.T., (2016):** Phytochemical screening, Total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian flora. Journal of Medicinal Plants Research, 10(27): 409-416.
- **ORDONES A., GOMES J., VATTUONE M., LSALA M. I., 2006-** Antioxidant activities of Sechium edule (Jacq.) Swartz extracts. Food Chemistry, vol.99. 452–458p.
- **OUIS, N AND HARIRI, A., (2017)**. Phytochemical analysis and antioxidant activity of the flavonoids extracts from pods of *Ceratonia siliqua L*. Banat's Journal of Biotechnology. VIII (16).

- **OYAIZU M., 1986**- studies on products of browing reactions; antioxidative activities of browing reaction prepared from glucosamine, japenese journal of nutrition 44:307-315.
- **PANDEY, K. B AND RIZVI, S. I. (2009)**. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid Med Cell Longev. Nov-Dec; 2(5): 270–278.
- **PAPAEFSTATHIOU E., AGAPIOU A., GIANNOPOULOS S., KOKKINOTTA R., 2018-** Nutritional characterization of carobs and traditional carob products, Food sci nutr. 6:2151-2161.
- **PRABHU I, KRISHNASWAMY J., 2012** - Combined effects of zinc and high irradiance stresses on photo inhibition of photosynthesis. Bean Journal of Stress Physiology and Biochemistry, p14.
- **RAJEB MN., LAFFRAY D et LOUGUET P., 1991-** physiologie de caroubier (*Ceratonia siliqua L.)* en tunisie, dans physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides, group d'étude de l'arbre, Paris, France, pp :417-426.
- **REBAYAL A, IGUELDBELGHITH S, BAGHDIKIAN B, MAHIOULEDDET V, MABROUKI F, OLIVIER E, KALTHOUM CHERIFI J, TRABELSIAYADI M.,2014-** total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidantcapacity of *Halimium halimifolium* (cistaceae). journal of applied pharmaceutical science vol. 5 (01), pp. 052-057.
- **ROBARDS K., 2003**-strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. j chromatogr a, 1000: 657-691 international food research journal 24(5): 2041-2049 .
- **SAHLE M., COLEON J. ET HANS C., 1992**- carob pod (*Ceratonia siliqua L.)* meal in geese diets Brit, boultry sci, 33: pp531-541.
- **SAHOO, S. S., SHUKLA, S., NANDY, S & SAHOO, H. B. (2012).** Synthesis of novel coumarin derivatives and its biological evaluations. European Journal of Experimental Biology.2 (4), PP: 899-908.

- **SATO E, MOKUDAI T, NIWANO Y And KOHNO M., 2011-** Kinetic analysis of reactive oxygen species generated by the in vitro reconstituted NADPH oxidase and xanthine oxidase systems. J Biochem. 150:173-81
- **SBAY, H., (2008)**. Le caroubier au Maroc un arbre d'avenir, Charia Omar Ibn khattab, B.P.763 Agdal. Rabat . Maroc, p: 07- 09.
- **SEBAI, H., SOULI, A., CHEHIMI, L., RTIBI, K., AMRI, M., El-BENNA, J & SAKLY, M., (2013).** In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua L.*). Journal of Medicinal Plants Research. 7(2), PP. 85-90
- **SHIBKO, S., KOIVISTOINEN, P., TRATYNECK, C., HALL, N., FEIDMAN, L., (1966)**: A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. Analyt Biochem. 19: 415-528.
- **SIDENEY, B.O., DIRCEU, A., AMARILDO, A.T., ALESSANDRA, B.T., (2016)**: Total phenolic, flavonoid content and antioxidant activity of Vitex megapotamic (Spreg.) Moldenke. *Ciencia natura*, 38 (3): 1199 –1200.
- **SIGGE G O, LIPUMBU F T, BRILZ J.,2011-** proximate composition of carob cultivars growing in south africa, south african journal of plant and soil, 28:17-22.
- **SINGLENTON V.L., ORTHOFER R., LAMUELA-RAVENTOS R.M., 1999 -** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In: Packer L, editor. Methods in enzymol: oxidant and antioxidants (part A), 299. San Diego, CA: Academic Pres.152–78p.
- **SYED M, NASAR A, ZILLE H, THIHUONG V, KAMRAN KHAN M, ESBENSHADE H, JAYASENA V.,2015-** carob kibble: abioactive rich-food ingredient, institute of food technologists, vol 15.
- **TREASE E., EVANS W., 1987-** A textbook of Pharmacognosy Bacilluere

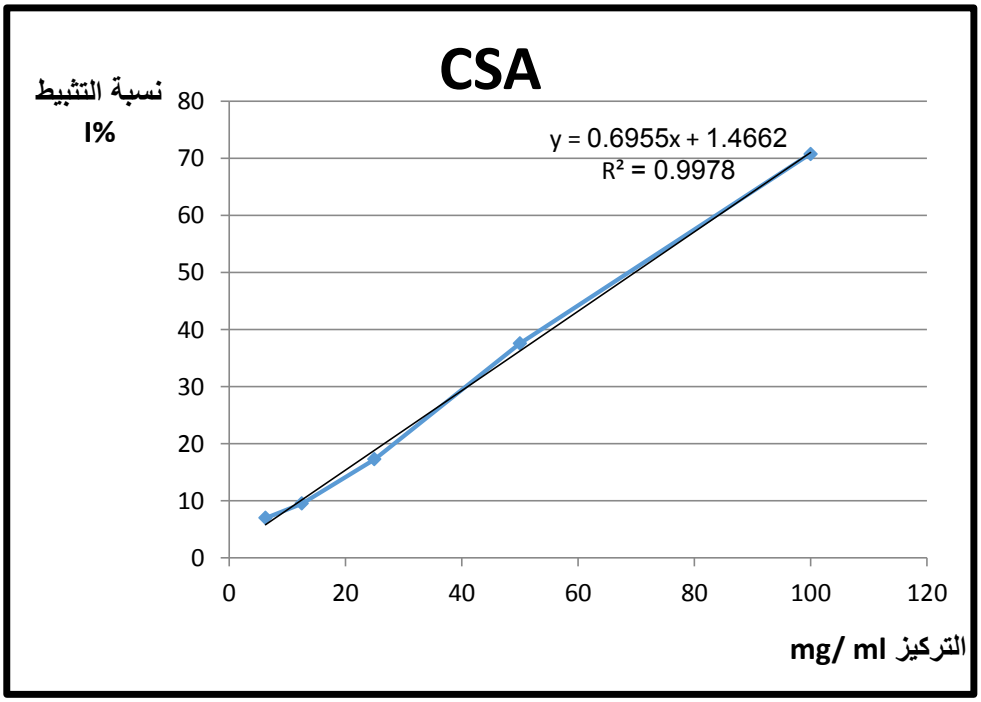
- **TURHAN I., BIALKA K L., DEMIRICI A., KARHAN M., 2010-** Ethanol production from carob extract by using saccharomyces cerevisiae bioresource technologie, 101, pp 5290-5296.
- **VOURDOUBAS J., MAKRIS P., KEFALAS J., KALIAKATSOS G., 2002-**In: proceedings of the 12th national conference and technology exhibition on biomass for energy. Industry and climate protection, Amestrdam, pp 489-493.
- **YDJEDD, S., CHAALAL, M., RICHARD, G., KATI, D.E., LOPEZ-NICOLAS, R., FAUCONNIER, M. L & LOUAILECHE, H., (2017).** Assessment of antioxidant potential of phenolic compounds fractions of Algerian *Ceratonia siliqua L*. pods during ripening stages. International Food Research Journal. 24 (5): 2041-2049.
- **YEO, S.O., GUESSENND, K.N., MEITE, S., OUETTARA, K., BAHI GNOGBO, A., N'GUESSAN, J.D., COULBALY, A.,** (2014): In vitro antioxidant activity of extracts of the root *Cochlospermum planchonii* Hook. Fex Planch (Cochlospermaceae). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 3(4): 167.
- **YOUSSEF, M. K. E., EL-MANFALOTY, M. M & ALI, H. M., (2013).** Assessment of Proximate Chemical Composition, Nutritional Status, Fatty Acid Composition and Phenolic Compounds of Carob (*Ceratonia Siliqua L.)*. Food and Public Health. 3 (6), P: 304 – 308.
- **YOUSSIF A. K., ET ELGHZAWI H M., 2000**- processing and characterization of carob powder, food chemistry, Vol 69 $N^0$3. 283-287.
- **ZEGHEB N., 2013** - L'effet antibactérien de l'extrait flavonoïdique de la plante (*Zygophyllum album L*). Mémoire de magister. Université Mohamed Khider Biskra.73p.

الملاحق

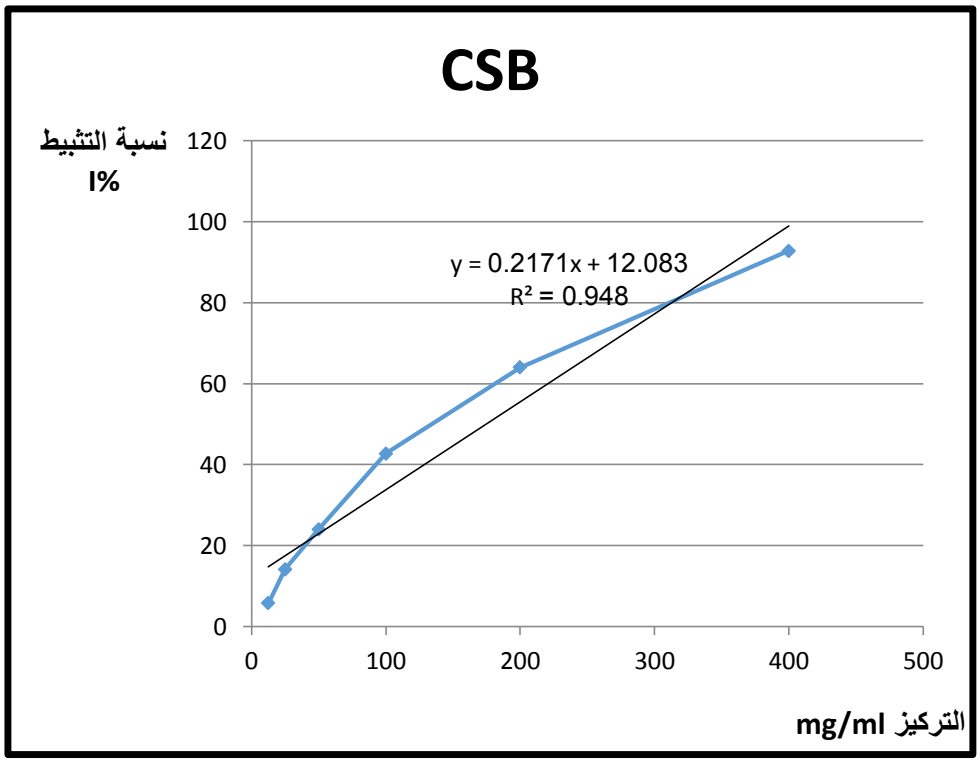
الملحق رقم 01 : بعض الأجهزة المستعملة في المخبر

جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur	جهاز الطرد المركزي Centrifugeuse
Spectrophotometre visible	الحاضنة Etuve
Vortex	ميزان حساس Balance analogique

الملحق رقم 02 : منحنيات نسبة التثبيط لمستخلصي الخروب عند نتائج • **DDPH**

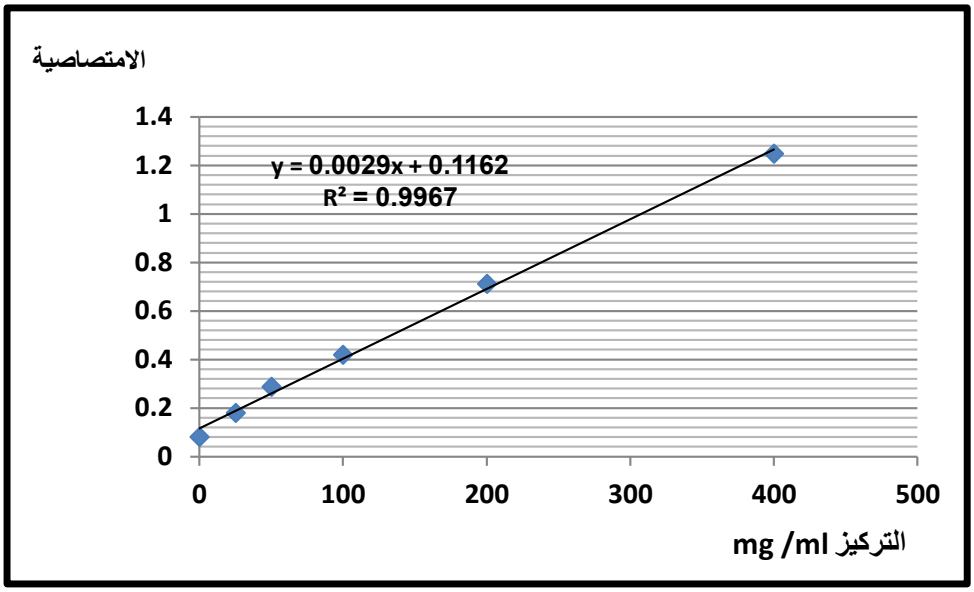


الوثيقة (01): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تركيز مستخلص خروب عنابة

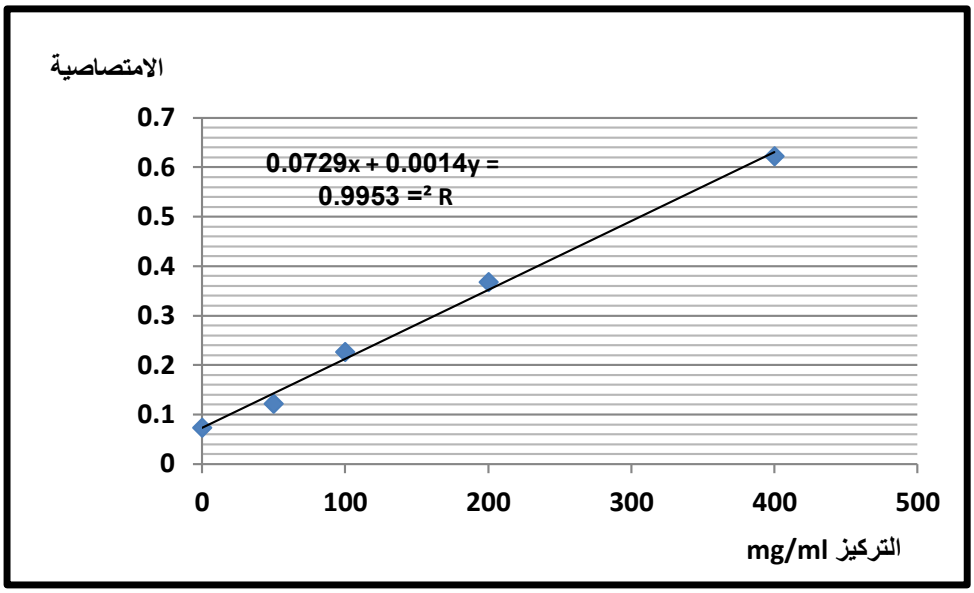


الوثيقة (02): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تركيز مستخلص خروب البليدة

الملحق رقم 03: منحنيات الامتصاصية لمستخلصي نبات الخروب عن اختبار FRAP

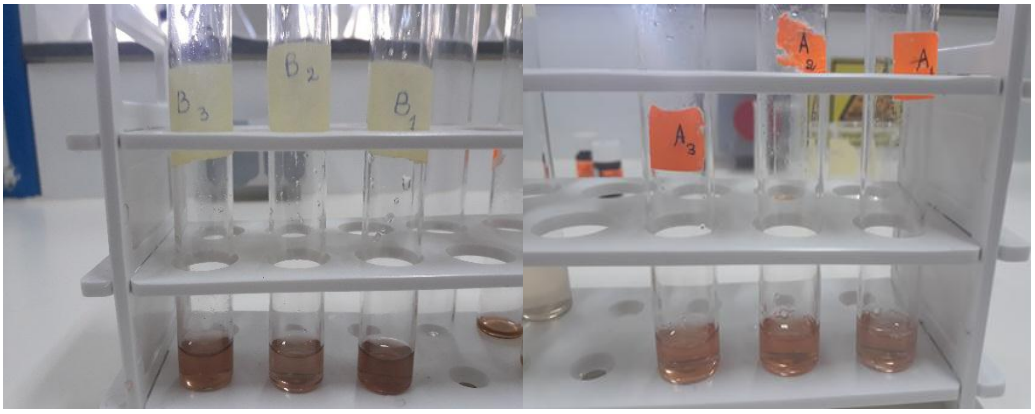


الوثيقة (01): منحنى الامتصاصية بدلالة تركيز مستخلص خروب عنابة

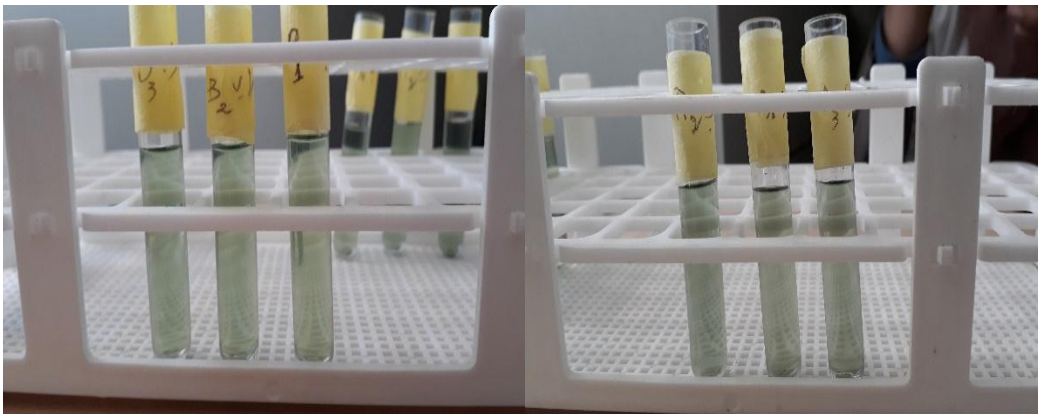


الوثيقة (02): منحنى الامتصاصية بدلالة تركيز مستخلص خروب البليدة

الملحق رقم 03 : صور لنتائج التقديرات والنشاطية المضادة للأكسدة .

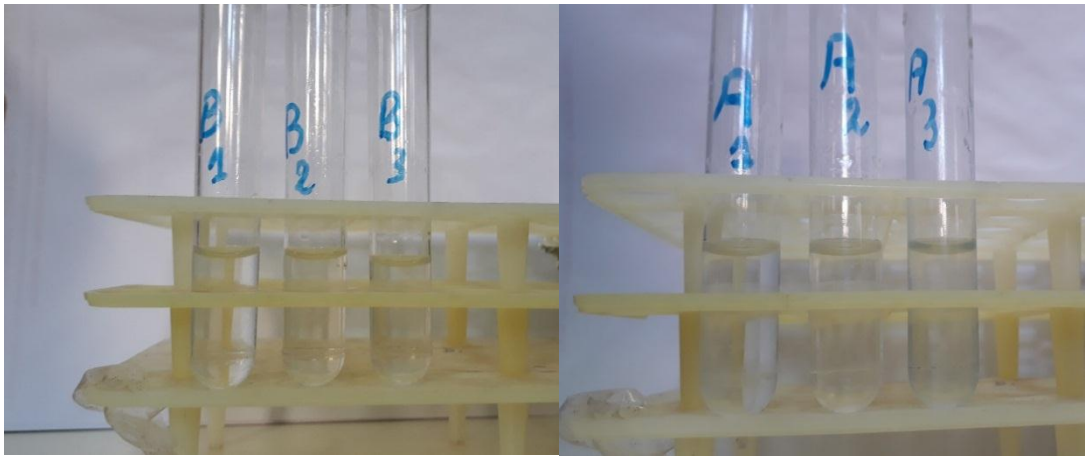


الوثيقة (01): صورة لنتائج تقدير الكربوهيدرات عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة



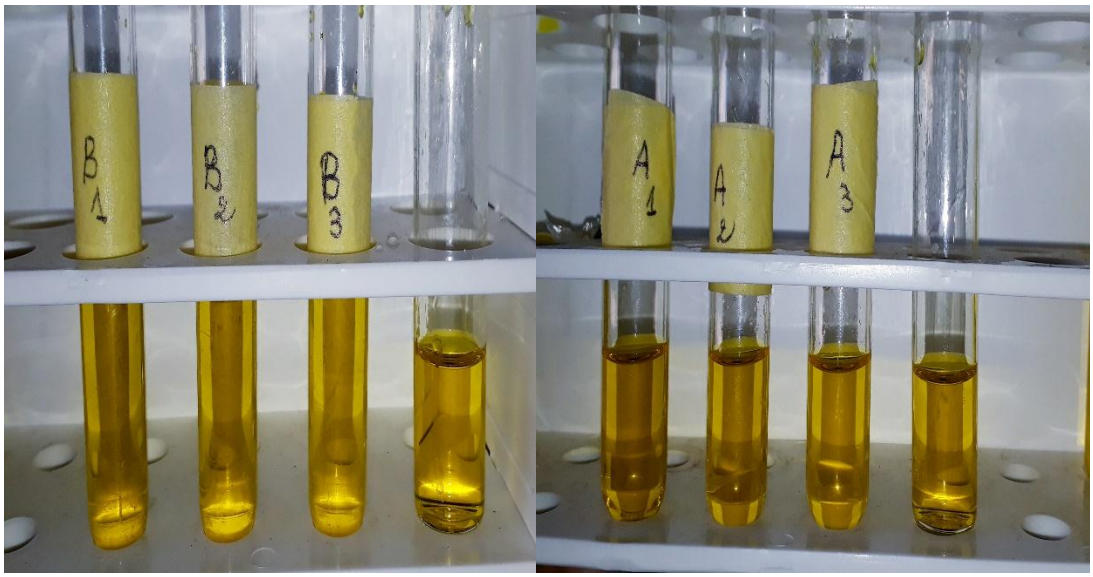
الوثيقة (02): صورة لنتائج تقدير البروتين عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة

الوثيقة (03) :صورة لنتائج تقدير الدهون عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة.

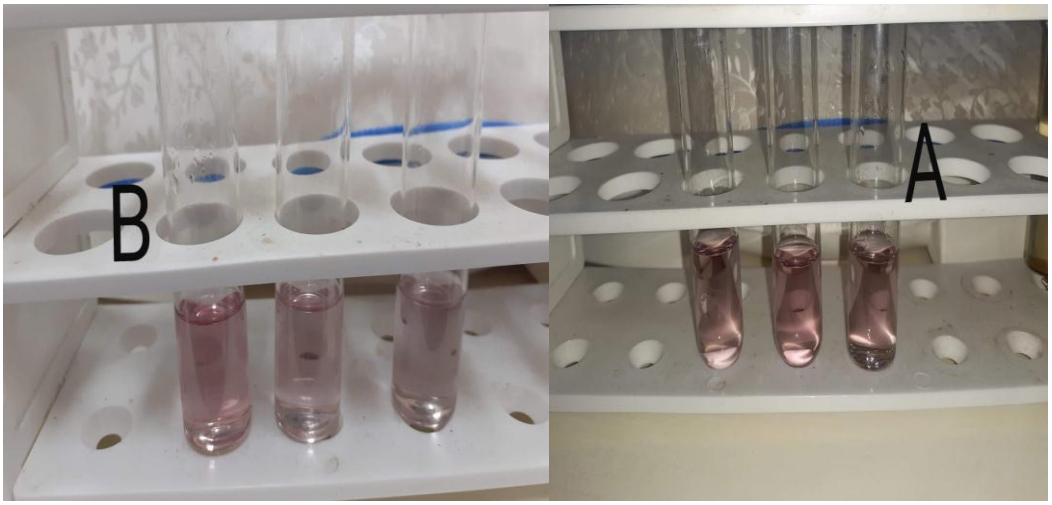


الوثيقة (04): صورة لنتائج تقدير الفلافونويدات عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة

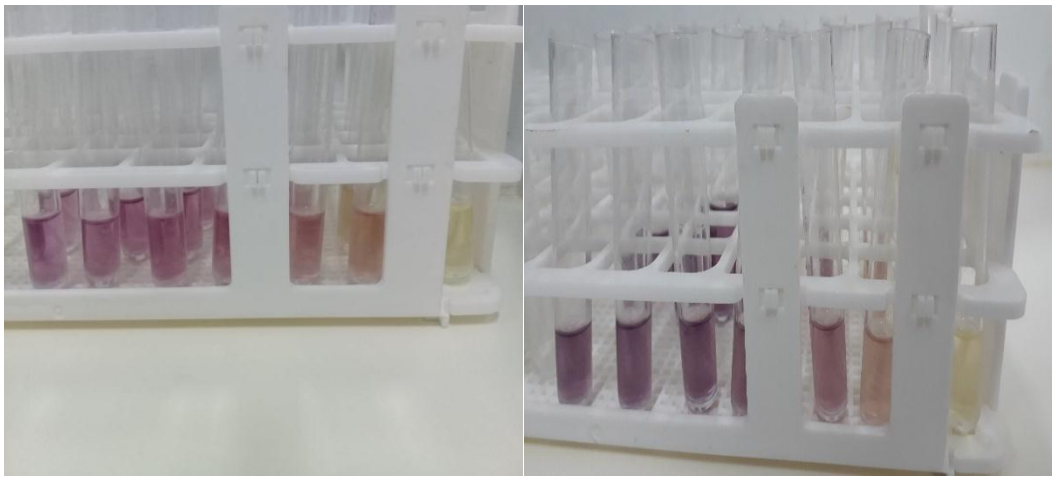
الوثيقة (05) : صورة لنتائج تقدير الفينولات الكلية عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة



الوثيقة (06) : صورة لنتائج تقدير التانينات المتحللة عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة



الوثيقة (07): صورة لنتائج تقدير التانينات المكثفة عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة



الوثيقة (08): صورة توضح نتائج اختبار الجذر الحر عند مستخلصي خروب عنابة والبليدة

الوثيقة (09): صورة توضح نتائج اختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP