استخلاص المركبات الفينولية من نخالة الحنطة و تقييم فعاليتها كمضادات للأكسدة

علي خضير جابر الركابي

قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية / كلية الزراعة / جامعة البصرة

ISSN –1817 –2695

(الاستلام 2006/12/12، القبول 2007/3/14)

الخلاصة

تم استخلاص المركبات الفينولية من نخالة الحنطة باستعمال الماء المقطر ، الكلوروفورم ، الايثانول ،ا لميثانول ، بروبانول و خلات الأثيل وقدرت كميتها في المستخلصات بطريقة Folin-Ciocateau . حيث تفوق مستخلصي الماء المقطر و الكلوروفورم في محتواهما من المركبات الفينولية و فعاليتهما المضادة للأكسدة على بقية المستخلصات . وقد قيست الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك للمستخلصات المحضرة ، و استخدمت تقنية النضح الغشائي لتجزئة مستخلصي الماء المقطر و الكلوروفورم وقيست فعاليتهما المضادة للأكسدة . وقد اوضحت التجزئة بالنضح الغشائي أن المركبات ذات الوزن الجزيئي العالي هي المسؤولة عن الفعالية المضادة للأكسدة بدرجة اكبر من المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض للمستخلصين. كما وأنه قد اتضح بان مستخلص الكلوروفورم أكثر ثباتية من مستخلص الماء المقطر تجاه المعاملات الحرارية والكيميائية . وثم قيست فعالية المستخلصين لاقتناص الجذر الحر الثابت (DPPH) -1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl، كما قدرت قابلية مستخلص الكلوروفورم لإعاقة الأكسدة الذاتية لزيت سمك الصبور.

و وجد ان أقصى فعالية لأقتناص الجذر الحر عند التركيز 100 ملغم/مل لكلا المستخلصين وقد تفوق مستخلص الكلوروفورم في قابلية الاقتناص على مستخلص الماء المقطروعند جميع التراكيز المستخدمة . وقد أثبت مستخلص الكلوروفورم قدرته لاعاقة الأكسدة الذاتية في زيت سمك الصبور عند التركيزين (8 و 10) ملغم/غم زيت لفترة 50 يوما" من الخزن .

Key words :phenolic compounds , wheat bran , antioxidants

المقـدمة

تعرف الأكسدة الذاتية للدهون بأنها الأكسدة التلقائية التي تحصل للمكونات الدهنية عند تماسها مع الأوكسجين الجزيئي، التي تنتهي بحصول نكهة غير مرغوبة يطلق عليها بالزناخة (rancidity) و تعد الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة والكحولات والالديهايدات والكيتونات النواتج النهائية للأكسدة الذاتية هي المسؤولة عن ظهور الرائحة والنكهة غير المرغوبة في الدهون المتأكسدة ومن ثم تقل ثباتية هذه الدهون أو المنتجات الحاوية عليها وبذلك يقصر العمر الخزني لها[1]، اضافة لذلك فان المركبات الناتجة عن الأكسدة تسبب الإصابة بالعديد من الأمراض قد يصل عددها إلى أكثر من 100 مرض أهمها السرطان ، تصلب الشرايين وأمراض القلب[2]. و تستخدم في الوقت الحاضر العديد من مضادات الأكسدة الصناعية على النطاق التجاري لمنع الأكسدة الذاتية للدهون مثل Butylated Hydroxy Toluene(BHT) و Butylated Hydroxy Anisole(BHA) ، في السنوات الأخيرة أثيرت العديد من الشكوك حول مدى سلامة هذه المضادات من الناحية الصحية، إذ أشارت أن استخدام هذه المضادات نتج عنه مواد مسرطنة أو سمية[3]، لذا اتجه الباحثون لإيجاد مضادات أكسدة من مصادر طبيعية ومنها النباتات.

تحتوي المحاصيل الحبوبية على العديد من المركبات الفينولية مثل الأحماض الفينولية والفلافونيدات والانثوسيانيدات التي تعتبر مضادات أكسدة طبيعية فعالة [4]، تساعد هذه المركبات على حماية جسم الإنسان من التأثير الفعال لاصناف الأوكسجين الفعالة (Reactive Oxygen Species) مثل الأوكسجين المفرد ($\dot{O}_2$) وجذر Superoxide ($O^{\cdot}_2$) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) وجذر الهيدروكسيل (OH) التي تتكون كنواتج ثانوية أثناء الايض الهوائي للخلايا، إذ تعمل هذه الأنواع على تكوين بيروكسيدات الدهن وتسبب أضرارا للحامض النووي منقوص الأوكسجين Deoxyribonucleic acid وانقسام البروتين خلال الخلايا للجزيئات البيولوجية الكبيرة[5] . اجريت العديد من الدراسات المتعلقة باستخلاص المركبات المضادة للأكسدة(مثل الأحماض الفينولية والفلافونيدات والانثوسيانيدات) من المحاصيل الحبوبية ،إذ تمكن [6]من استخلاص هذه المركبات من جنين وبذور الشيلم باستعمال الايثانول (80%) كمستخلص كحولي بدرجة حرارة 50°م لمدة 15 دقيقة ، اتضح أن جميع المستخلصات امتلكت فعالية مضادة للأكسدة ، وفي درلسة اخرى قيم [4] الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات المستخلصة من نخالة الرز الياباني المستخلصة بالماء الحار ، الأسيتون و والميثانول ، وقد بينت النتائج تفوق مستخلص الماء الحار معنويا"على المستخلصين الآخرين ، ونظرا" لتواجد هذه المركبات في نخالة الحنطة التي تستعمل كعلف للحيوان .

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

هدفت هذه الدراسة لاستخلاص هذه المركبات وتقديرها وتقييم فعاليتها كمضادات للأكسدة وتجزئتها بتقنية النضح الغشائي وتقدير مدى ثباتيتها للمعاملات الحرارية والكيميائية واستعمالها لاعاقة الأكسدة الذاتية في زيت سمك الصبور .

المواد وطرائق العمل

نموذج الدراسة :

تم الحصول على نموذج نخالة الحنطة من الشركة العامة لتصنيع الحبوب/ مطحنة البصرة ولمرة واحدة ولنفس النوعية وحفظت بدرجة حرارة −18 م° ، وتمثل هذه النخالة 30% من كمية الحنطة المستعملة للحصول على الطحين المتكون من خليط من 70 % حنطة محلية و 30 % حنطة كندية .

استخلاص المركبات الفينولية :اتبعت طريقة Folin-Ciocateau التي ذكرها [4] لاستخلاص المركبات الفينولية من نخالة الحنطة باستعمال مذيبات مختلفة وكما يأتي : خلط 10 غم من نموذج النخالة مع 100 مل من الماء المقطر وكررت التجربة باستخدام المذيبات التالية : الكلوروفورم ، الايثانول ،ا لميثانول ، بروبانول و خلات الأثيل وحفظت للفترات 12 ، 24 ، 36 ، 48 ، و 60 ساعة بدرجة حرارة 20°م . ثم اجري النبذ المركزي للنماذج بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق ، اخذ الراشح وجفد بجهاز التجفيد (نوعEdwords طراز Pirani 501.

تقدير المركبات الفينولية : اتبعت الطريقة التي ذكرها [7] لتقدير المركبات الفينولية المستخلصة بالمذيبات ، اذ خلط 200 ملغم من كل نموذج مع 1.5 مل من كاشف فولن. ترك الخليط لمدة 5 دقائق للاتزان ثم خلط مع 1.5 مل من محلول كاربونات الصوديوم (تركيزه 6%) وحضن الخليط لمدة 90 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة ثم قرأت امتصاصية الخليط في جهاز الامتصاص الضوئي عند طول موجي مقداره 725 نانوميتر والذي عنده تظهر أقصى امتصاصية للمركبات الفينولية، كما حضر المنحنى القياسي باستعمال حامض الكاليك بمدى من التراكيز (500−5000)ملغم/كغم.

قياس الفعالية المضادة للأكسدة : اتبعت طريقة ثايوسيانات الحديديك التي ذكرها [8] لقياس الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك للمستخلصات المحضرة وكما يأتي : خلط 1مل من النماذج مع 4 مل ايثانول (تركيزه 95%) و 4.1 مل حامض اللينوليك(تركيزه 2.5% في الايثانول) و 8 مل محلول دارئ(منضم) الفوسفات (تركيزه 50ملي مولاري، 7.0 pH)، حضن الخليط بدرجة حرارة 45°م لمدة 24 ساعة، ثم أضيف 0.1 مل من هذا الخليط إلى 9.7 مل ايثانول (تركيزه 75%) و 0.1 مل ثايوسيانات الامونيوم (تركيزه 30%) ، ثم أضيف 0.1 مل من كلوريد الحديدوز (تركيزه 20ملي مولاري محضر في 3.5% حامض الهيدروكلوريك) إلى خليط التفاعل لتكوين معقد أحمر اللون مع البيروكسيدات الناتجة من الأكسدة . حضر نموذج العينة الضابطة بنفس الطريقة أعلاه باستثناء خلط 1 مل من الماء المقطر بدلا" من العينة ، وقيست الامتصاصية للنماذج ونموذج المعاملة الضابطة عند طول موجي مقداره 500 نانوميتر والذي عنده تتضح أقصى امتصاصية لمعقدات المركبات المضادة للأكسدة مع ايون الحديدوز و تحسب الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك وفقاً للمعادلة التالية:

$$\text{الفعالية المضادة للأكسدة (\%)} = 100 - \left[\frac{\text{(قراءة الامتصاصية للنموذج)}}{\text{(قراءة الامتصاصية للعينة الضابطة)}} \times 100 \right]$$

التجزئة بتقنية النضح الغشائي :استخدمت الطريقة التي وصفها [4] بتجزئة مستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم بتقنية النضح الغشائي وكما يأتي : استخدمت أكياس النضح الغشائي بالمواصفات الآتية:

dry cylinder diameter 25.5 mm , M.W 5000 Da. , dry thickness 40 mm

وملئت بمقدار 50مل من المستخلص (بتركيز 10 ملغم/مل) ، وضعت الأكياس في دوارق تحتوي 250مل من الماء المقطر . أجريت عملية النضح الغشائي بدرجة حرارة 4مْ في الثلاجة وللفترات الزمنية 12، 24، 36، 48 و 60 ساعة ، بعدها جفدت الأجزاء المديلزة وغير المديلزة في جهاز التجفيد ، و قدرت الفعالية المضادة للأكسدة .

تأثير المعاملات الحرارية والكيميائية: اتبعت الطريقة التي ذكرها [4] لدراسة تأثير درجات الحرارة على ثباتية المركبات المضادة الأكسدة وكما يأتي : حضنت النماذج بدرجات الحرارة 60 °م ، 80 °م ، 100 °م لمدة 10 دقائق ثم اجري تبريد سريع للنماذج في صندوق ماء ثلجي ، ثم قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للنماذج بطريقة ثايوسيانات الحديديك [8] ، كما اتبعت الطرق التي وصفها [9] لدراسة تأثير الأكسدة ببرمنكنات البوتاسيوم والاختزال ببوروهيدريد الصوديوم والتحطيم ببيروكسيد الهيدروجين على الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية في مستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم.

فعالية اقتناص الجذر الحر:قيست فعالية المركبات الفينولية في مستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم لاقتناص الجذر الحر (DPPH) حسب طريقة [8] وتضمنت ما يأتي: أذيبت المستخلصات بتراكيز 20 ,40, 60, 80 و 100 ملغم/مل في محلول دارئ الفوسفات (0.1 مولاري، 7.0 pH)، خلط 1 مل من المحاليل المحضرة مع 1مل من محلول DPPH. رج الخليط بشدة وترك لمدة 60 دقيقة بدرجة حرارة الغرفةو قيست الامتصاصية للمحلول الناتج عند الطول الموجي 517 نانوميتر، أما نموذج العينة الضابطة فقد حضر بخلط 1مل من محلول دارئ الفوسفات المحضر سابقاً مع 1مل من محلول DPPH وقيست الامتصاصية بعد الخلط مباشرة نسبة الى المركب DPPH .

استخلاص زيت السمك : استخلص الزيت الخام من الجزء اللحمي لسمك الصبور *Hilsa ilisha* وحسب الطريقة التي وصفها [10] باستعمال خليط من المذيبين الميثانول والكلوروفورم .

إعاقة أكسدة الزيوت: اتبعت الطريقة التي ذكرها [11] لتقدير قابلية مستخلص الكلوروفورم لإعاقة الأكسدة الذاتية لزيت سمك الصبور ، وتضمنت أذابة 1غم من الزيت في 24مل من خليط الكلوروفورم−الميثانول (1: 2)، أضيف للخليط المستخلص المجفد والمحضر بالتراكيز 2، 4، 6، 8 و 10ملغم/غم زيت، وحضن الخليط المتجانس بدرجة حرارة 45 مْ في

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

حمام مائي للفترات الزمنية 10، 20، 30، 40، 50 يوماً. وقد قدرت قيم البيروكسيد حسب الطريقة التي ذكرها[12] خلال هذه الفترات الزمنية.

النتائج والمناقشة

تقديرالمركبات الفينولية: يبين الجدول(1) تركيز المركبات الفينولية المستخلصة من نخالة الحنطة لفترات استخلاص متعددة ، فقد اتضح أن تركيز هذه المركبات قد ازداد بتقدم فترات الاستخلاص باستثناء الفترات الاخيرة التي شهدت انخفاضا" في تركيز المركبات الفينولية وعند جميع مذيبات الاستخلاص وذلك لتحلل جزء من هذه المركبات ، وبلغ اقصى تركيز للمركبات الفينولية (4350 و4260) ملغم /كغم بعد 48 ساعة لمستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم على التوالي ، كما يتضح من الجدول ان المستخلص الأول قد تفوق على المستخلص الثاني وهذا قد يرجع الى الطبيعة القطبية والذائبية للمركبات الفينولية المستخلصة بالماء المقطر [13]، وهذا يتفق مع [4] عند أستخلاصه للمركبات الفينولية بالماء الحار. ان أهم المركبات الفينولية المتواجدة في نخالة الحنطة التي تستخلص بالمذيبات القطبية هي الأحماض الفينولية (ويعتبر ferulic acid هو الحامض المتواجد بنسبة أكبر من بقية الأحماض) والفلافونيدات البسيطة و proanthocyanidins وتتواجد في المحاصيل الحبوبية بصورة استرات ذائبة [14].

الجدول (1) : تأثير استعمال المذيبات المختلفة ولفترات متعددة على استخلاص المركبات الفينولية من نخالة الحنطة .

مذيبات الاستخلاص	تركيز المركبات الفينولية (ملغم/كغم) فترات الاستخلاص(ساعة)				
	12	24	36	48	60
الماء المقطر	3700	3850	4048	4350	3750
الكلوروفورم	3110	3250	3650	4260	3540
الميثانول	2750	2960	3440	3450	3350
الايثانول	2860	2980	3050	3860	3780
بروبانول ١٠	2850	2960	2905	2890	2870
خلات الاثيل٩	1050	1100	1075	750	625

رقام في الجدول تمثل المعدل لثلاث مكررات

الفعالية المضادة للأكسدة : يوضح الجدول (2) تطور الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك بفعل المركبات الفينولية المستخلصة من نخالة الحنطة. فقد حصلت زيادة سريعة في الفعالية المضادة للأكسدة في فترات الاستخلاص الأولى ، بعدها حصل انخفاض في فترة الاستخلاص اللاحقة ، إلا أن مستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم اظهرا أعلى فعالية مقارنة ببقية المستخلصات. وبلغت أقصى فعالية بعد مرور 48 ساعة من الاستخلاص ، و تعزى الزيادة الحاصلة في الفعالية المضادة للأكسدة إلى تكون المركبات المضادة للأكسدة، أما الانخفاض الحاصل في الفعالية المضادة للأكسدة عند إطالة فترة الاستخلاص فتعزى لسببين هما تكسر المركبات ذات التأثير المضاد للأكسدة المتكونة في مدد الاستخلاص الأولى أو تكوين مواد مشجعة لحدوث الأكسدة بجانب المركبات المضادة للأكسدة المتكونة سابقاً مما يؤدي إلى انخفاض الفعالية المضادة للأكسدة [14] .وقد اتضح وجود علاقة ارتباط قوية بين تركيز المركبات الفينولية المستخلصة (الجدول 1) والفعالية المضادة للأكسدة (الجدول 2)، مما يدل على هذه المركبات والتي تتركز في النخالة هي المسؤولة بالدرجة الرئيسة عن الفعالية المضادة للأكسدة وبالتالي فهي تعمل كمضادات أكسدة وتكون ذات طبيعة قطبية أو غير قطبية اعتمادا" على ظروف استخلاص هذه المركبات[16].

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

الجدول (2) : تأثير استعمال المذيبات المختلفة ولفترات متعددة على الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية المستخلصة من نخالة الحنطة .

مذيبات الاستخلاص	الفعالية المضادة للأكسدة (%)				
	الفترات الخزنية(ساعة)				
	12	24	36	48	60
الماء المقطر	23	34	43	48	43
الكلوروفورم	22	34	37	45	40
الميثانول	16	29	33	35	32
الايثانول	22	31	36	28	26
بروبانول	21	29	28	27	26
خلات الاثيل	17	18	17	15	24

التجزئـة بتقنيـة النضـح الغشـائي: يبين الجدول (3) التغير في الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم(اللذين أظهرا أقصى فعالية مضادة للأكسدة) خلال مراحل تجزئتها بتقنية النضح الغشائي. يتضح من الجدول أن الفعالية المضادة للأكسدة في الجزء المتبقي داخل أغشية النضح الغشائي ازدادت بتقدم مراحل التجزئة لكلا المستخلصين ، إذ ازدادت الفعالية المضادة للأكسدة في الجزء المحتجز وانخفضت في الجزء المديلز ، مما يدل على أن المركبات الفينولية ذات الوزن الجزيئي العالي في المستخلصين هي المسؤولة عن الفعالية المضادة للأكسدة بدرجة اكبر من المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض . والنتائج أعلاه تتفق مع [4] عند تجزئته للمركبات الفينولية المستخلصة من نخالة الرز الياباني ، اذ وجدوا بان الأوزان الجزيئية للمركبات ذات الفعالية تتجاوز 30 كيلودالتن ، بينما وجد [17] بان المركبات ذات الأوزان الجزيئية المنخفضة والمعزولة من بذور العنب هي المسؤولة بالدرجة الرئيسة عن الفعالية المضادة لاكسدة حامض اللينوليك وعن قابلية هذه المركبات لاقتناص الجذر الحر (DPPH) وخصوصا" المركبات ذات الطبيعة الفينولية ومنها catechin , epicatechin , epigallocatechin , procyanidin , epigallocatechin gallat والمشخصة بتقنية High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

الجدول (3) : تأثير التجزئة بالنضح الغشائي على الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية لمستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم .

فترات التجزأة (ساعة)	الفعالية المضادة للأكسدة(%)			
	مستخلص الماء المقطر		مستخلص الكلوروفورم	
	الجزء المحتجز	الجزء المديلز	الجزء المحتجز	الجزء المديلز
12	54	32	60	31
24	60	24	63	25
36	62	21	67	20
48	66	18	72	15
60	68	15	77	12

ثباتية المركبات المضادة للأكسدة :يوضح الجدول (4) الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الماء المقطر والكلوروفورم بعد اتمام المعاملات الحرارية والكيميائية عليهما ، اذ يلاحظ أن مستخلص الكلوروفورم أكثر ثباتية عند جميع درجات الحرارة المستخدمة مقارنة بمستخلص الماء المقطر الذي شهد انخفاضا" واضحا" عند درجتي الحرارة 60°م و 80°م ، يرجع هذا الانخفاض الى تحطيم مجاميع الهيدروكسيل في الأحماض الفينولية والفلافونيدات [8 1]، وهذا يتفق مع [4]عند دراسته لتأثير المعاملات الحرارية على الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلصات الرز الياباني ، أو قد يعزى الى وجود نسبة من المركبات ذات استقرار حراري واطيء أو فعالية عالي نسبيا" تجاه الاوكسجين . ويمكن ان يلاحظ من الجدول أن الأكسدة بواسطة برمنكنات البوتاسيوم قد أفقدت (39.1 و34.6)% من الفعالية الأصلية للمستخلصين على التوالي, وتدل هذه النتيجة على إن الأكسدة قد أثرت في مستخلص الماء المقطر بشكل أكبر من مستخلص الكلوروفورم، و عند الاختزال بواسطة بوروهيدريد الصوديوم فقدت (60.6 و58.7)% من الفعالية الأصلية للمستخلصين على التوالي,أما عند المعاملة

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

بواسطة بيروكسيد الهيدروجين, فقد حصل فقدان (29.8 و23.7)% من الفعالية الأصلية للمستخلصين المذكورين على التوالي، و ترجع ميكانيكية بيروكسيد الهيدروجين لخفض الفعالية المضادة للأكسدة إلى تفاعله مع الهيدروكسيل السالب للمركبات الفينولية وتحويله إلى Perhydroxy anion (HOO^-) الذي يهاجم بدوره مجاميع الكاربونيل مما يؤدي إلى تحطمها ومن ثم خفض فعاليتها المضادة للأكسدة مع [11]. يظهر من الجدول (4) أن الاستقرار الحراري لمستخلص الكلوروفورم أعلى من مستخلص الماء في المدى الحراري 60−80°م ويمكن ان يعزى ذلك الى اختلاف نسب المكونات للمستخلص في الحالتين ، وأما تأثير الكيمياويات المضافة على الفعالية فهو كما متوقع .

الجدول (4) : تأثير درجة الحرارة وبعض العوامل الكيميائية على المستخلصات الجافة وقياس فعاليتها المضادة للأكسدة.

المعاملات الحرارية والكيميائية	الفعالية المضادة للأكسدة المتبقية(%)*	
	مستخلص الماء المقطر	مستخلص الكلوروفورم
60°م	98.6	98.8
80°م	82.3	98
100°م	68.0	95
الأكسدة	60.9	64.4
الاختزال	39.4	41.3
التحطيم	70.2	76.3

*** حسبت الفعالية المضادة للأكسدة على أنها في المستخلص قبل معاملته 100 %.**

قابليةاقتناص الجذر الحر: يبين الجدول (5) تأثير استخدام مستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم بتراكيز مختلفة لاقتناص الجذر الحر الثابت (DPPH) بالمقارنة مع مضاد الأكسدة BHT. فقد ازدادت قابلية المستخلصين لاقتناص الجذر الحر بزيادة التراكيز المستخدمة، وبلغت أقصى فعالية اقتناص عند التركيز 100ملغم/مل لكلا المستخلصين ، وقد تفوق مستخلص الكلوروفورم في قابلية الاقتناص على مستخلص الماء المقطروعند جميع التراكيز المستخدمة، في حين اظهر نموذج المقارنة BHT قابلية اقتناص أعلى من المستخلصين. تدل هذه النتيجة على أن المركبات الفينولية لكلا المستخلصين تحتوي على مركبات واهبة للهيدروجين قادرة على التفاعل مع الجذور الحرة لتحويلها إلى نواتج أكثر ثباتاً ومن ثم إنهاء تفاعل سلسلة الجذر الحر، إذ عزا [19] فعالية اقتناص الجذر للمركبات الفينولية المحتوية على مجاميع الهيدروكسيل التي لها القدرة على منح الإلكترون للجذر الحر ومن ثم فان هذه المركبات تخضع للنظرية القائلة بان وجود مجموعة معوضة مانحة للإلكترون تزيد فعالية هذه المركبات في اقتناص الجذور الحرة وان المجموعة المعوضة المستقبلة للإلكترون تخفض فعالية اقتناص هذه الجذور[8 1]. إن هذا الاختبار مبنياً على أساس اختزال الجذر الحر DPPH الذي يعطي أقصى امتصاصية عند الطول الموجي 517 نانوميتر بسبب احتوائه على إلكترون مفرد ، وبتفاعل المركبات المضادة للأكسدة مع الجذر يصبح الإلكترون مزدوجاً ويتحول الى 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine و تنخفض قوة الامتصاص [16]. ويمكن أن تعزى قابلية المستخلصين لقنص الجذر الحر لكونهما مختلفين بنسبة المكونات المضادة للأكسدة وأن المستخلص يحتوي على عدة مواد .

الجدول (5) : قابلية المركبات الفينولية لمستخلصي الماء المقطر والكلوروفورم لاقتناص الجذر الحر DPPH بالمقارنة مع BHT

التراكيز(ملغم/مل)	قابلية اقتناص الجذر الحر(%)	
	مستخلص الماء المقطر	مستخلص الكلوروفورم
20	12.5	16.3
40	25.0	32.5
60	27.3	37.6
80	28.6	39.0
100	28.9	43.7
BHT	85.8	

التـأ

ثير التثبيطي لإعاقة أكسدة زيت السمك : يوضح الجدول (6) التأثير التثبيطي للمركبات الفينولية في مستخلص الكلوروفورم لأعاقة الأكسدة الذاتية لزيت سمك الصبور بتراكيز 2 ، 4 ، 6 ، 8، 10 ملغم /غم زيت وللفترات الخزنية 10، 20، 30، 40، 50 يوماً وبالمقارنة مع مضاد الأكسدة BHT (بتركيز 0.5 ملغم/غم زيت) والعينة الضابطة(بتركيز 0

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

ملغم/غم زيت). يتضح أن التأثير التثبيطي لاعاقة الأكسدة كان الأعلى عند التركيزين 8 و 10 ملغم/غم زيت مقارنة ببقية التراكيز، أما بقية التراكيز فلم يظهر لها تأثير ملموس طيلة فترة الخزن، بمعنى عدم قدرة الخليط لخفض مستويات البيروكسيد المتكونة لعدم اعاقة الأكسدة الذاتية للزيت أثناء الخزن . أما مضاد الأكسدة BHT فقد حقق أعلى فعالية تثبيطية لخفض مستويات البيروكسيد المتكونة بتقدم فترات الخزن ألا أنها لم تكن معنوية باستثناء فترات الخزن النهائية ، تتفق النتائج أعلاه مع [14].فعالية مستخلصات ثلاثة أصناف من الحنطة الأمريكية لاعاقة الأكسدة الذاتية في زيت السمك ، اذ تفوق مستخلص الصنف Trego على مستخلص الصنفين Akron و Platte وقد ازدادت الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات بزيادة التراكيز المستخدمة . كما أتضح أن قيم البيروكسيد في زيت السمك قد ازدادت بشكل كبير لفترة خزن قصيرة لاحتواء هذا الزيت على نسبة كبيرة من الأحماض الدهنية متعددة الأواصر المزدوجة (Polyunsaturated Fatty acids) وذات 4-6 أواصر مزدوجة ومن هذه الأحماض Docosahexanoic acid و Eicosapentanoic acid والتي تكون أكثر عرضة للأكسدة من بقية الأحماض الدهنية [20]..

الجدول (6 : التأثير التثبيطي للمركبات الفينولية في مستخلص الكلوروفورم في اعاقة الأكسدة الذاتية لزيت سمك الصبور لفترات خزنية متعددة .

تراكيز المستخلص(ملغم/غم)	قيم البيروكسيد(مليمكافئ/كغم زيت)				
	الفترات الخزنية(يوم)				
	10	20	30	40	50
2	3.7	6.1	7.5	15	18.3
4	3.3	5.2	7.0	13.1	17.5
6	2.9	3.7	6.2	10.0	14.9
8	2.1	3.0	4.2	6.8	11.5
10	2.1	2.2	3.8	5.8	8.5
BHT(0.5)	2.0	2.2	2.5	2.7	3.4
العينة الضابطة	3.8	6.7	7.8	15.0	18.6

الاستنتاجات

1- امكانية الاستفادة من مخلفات الشركة العامة للمطاحن لانتاج مضادات الأكسدة الطبيعية بديلا" لمضادات الأكسدة الصناعية ذات التأثيرات الصحية وذات الكلفة العالية .
2- امكانية استعمال مضادات الأكسدة المستخلصة من نخالة الحنطة لاعاقة الأكسدة الذاتية في زيت سمك الصبور المحتوي على الأحماض الدهنية غير المشبعة بدرجة عالية .
3- تمتاز مضادات الأكسدة المستخلصة من نخالة الحنطة بدرجة عالية من الثباتية تجاه القيم المختلفة درجات الحرارة وتجاه المعاملات الكيميائية .
4- امكانية استعمال المذيبات القطبية لاستخلاص المركبات الفينولية التي تعمل كمضادات للأكسدة في الانظمة الغذائية .

المصادر

1- ساجدي ، عادل جورج و محمد ، علاء يحيى . كيمياء الأغذية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مطبعة جامعة البصرة. (1983).

2- E. N. , Frankel. Recent advances in lipid oxidation. J. Sci. Food Agric. 154: 495-551 (1991) .

3- P., Panichayupakaranant and S., Kaewsuwan. Bioassay-guided isolation of the antioxidant constituent from *Cassia alata* J. Sci. Technol., 26 (1): 103-107 (2004) .

4 - K. H. Okai , K. A. ; Kanbara,; K., Hagiwara; A., Sugita; C. Matsumoto; N. and Y., Okai. Potent Antioxidative and Antigenotoxic Activity in Aqueous Extract of Japanese Rice Bran – Association with Peroxidase Activity .*Phytother. Res.* 18, 628– 633. (2004)

5- S. E.,Lee; H. T. , Shin, H. J., Hwang; and J. H. Kim . Potent antioxidative of non- polyphenolic fraction of green tea association with pheophytins a and b. *Phytother. Res.* 17,1041– 1047. (2003).

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

6- M. , Karmac ; R. , Amarowicz ; S. , Weidner ; S. Abe ; and F. Shahidi . Antioxidant activity of rye caryopses and embryos extracts . Czech J. Food Sci. , 20 (6) : 209-214 . (2002)

7- E.A., Melo ; J.M. Filho and N. B. Guerra . Characterization of antioxidant compounds in aqueous coriander extract. Lebensm.-Wiss. u.-Technol. , 38 : 15-19. (2005) .

8- P.; Bersuder, M. , Hole, and G. J. Smith. Antioxidants from a heated histidine-glucose of the antioxidant role of histidine & isolation of antioxidants by High Performance Liquid Chromatography. Am. Oil.Chem.,75:181-187. (1998)

9- M.;Tanaka, C.; Wen-Kue, Y., Nagashima, and T. Taguchi. Influence of water activity on the development of antioxidative effect during the Maillard reaction between histidine and glucose.J. Tokyo Univ. Fish.,77(1):33-41.(1990)

10- E. G., Blight and W. J., Dyer. .A rapid method of total lipid extraction and purification .Can. J. Biochem. Physiol., 37:911-917. (1959) .

11- M.; Tanaka, W. K.; Chiu, Y. Nagashima, and T. J. Taguchi. Stability of the antioxidative Maillard reaction products Tokyo Univ. Fish., 79 (1): 1-8. (1992)

12- D. Pearson. The chemical analysis of food. 6th ed. J. and A. Churchill, London. (1970).

13- M. S. , Jimenez; R. Velarte; and; R. Castillo. Direct determination of phenolic compounds and phospholipids in virgin olive oil by micellar liquid chromatography. Food Chemistry , 100: 8–14. (2006)

14- L. , Yu; S. , Haleyb; J. Perreta, and M. Harrisa. Antioxidant properties of hard winter wheat extracts Food Chemistry. 78: 457–461. (2002) .

15- A.,Kumaran; and R . Karunakaran. Activity-guided isolation and identification of free radical-scavenging components from an aqueous extract of Coleus aromaticus Food Chemistry, 100: 356–361. (2006)

16- J. , Rivera; Navarro; A. and M.A. Valdivia;. Mexican lime peel: Comparative study on contents of dietary fibre and associated antioxidant activity . Food Chemistry, 89: 57–61. (2005).

17- R.; Guendez, S.; Kallithraka, P. Dimitris., and P. Kefalas. Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (Vitis vinifera sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity . (2005).

18- R. , Farhoosh; A, Gholam; G., Mohammad ; and H.Khodaparast. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes. Food Chemistry, 100:231-236. (2006).

19- A. M.; Romero, M. M.; Doval, M. A. Sturla, and M. A. Judis. Antioxidant properties of polyphenol-containing extract from soybean fermented . Eur. J. Lipid. Sci. Technol., 106: 424-431. (2004).

20- M., Bragadottir,. Endogenous antioxidants in fish. Ph. D. thesis. University of Iceland. (2001).

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

Extraction of phenolic compounds from wheat bran and its assessment as antioxidants

Ali Khudhair Jabir Al-Rikabi
Department of Food Science and Biotechnology
College of Agriculture –University of Basrah

Abstract

Phenolic compounds were extracted by distilled water , chloroform , ethanol , methanol ,propanol and ethyl acetate from wheat bran and determined by Folin-Ciocateau method.The antioxidative activity of the extracted compounds towards linoleic acid oxidation were determined. The extracts of distilled water and chloroform were fractionated by Dialysis and its antioxidative activity were determined. Influence of temperature and chemical treatments on stability of antioxidative phenolic compounds to both extracts were studied.The ability of both extracts to scavenging of free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) were studied. The ability of chloroform extract on oxidation retardation of fish (subor)oil was determined.The extracts of distilled water and chloroform showed maximum concentration of phenolic compounds and highest antioxidative activity . Fractionation by Dialysis showed that extracts of distilled water and chloroform compounds with high molecular weight were mainly accounted for antioxidative activity . Stability of chloroform extract was higher than distilled water extract toward temperature and chemical treatments . Maximum scavenging of free radical activity of both extracts were at 100 mg/ml, however activity was the highest for the chloroform extract. Scavenging activity was being increased with time and concentrations . Inhibitory effect of chloroform extract to retard fish oil oxidation was increased with concentrations. The concentrations of 8 and 10 mg/g oil showed the highest antioxidative activity at 50 days period from storage.

Key words :phenolic compounds , wheat bran , antioxidants

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com