استخلاص وتشخيص المركبات الفينولية من نبات الحناء (*Lawsoniainermis*) وتقدير فعاليتها كمضادات للأكسدة

ضياء فالح عبد الله الفكيكي علي خضير جابر الركابي

قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة – جامعة البصرة

alfecaiki@yahoo.com

الخلاصـــة

استخلصت المركبات الفينولية من نبات الحناء باستعمال الهكسان ، الكلورفورم ، خلات الأثيل ، الايثانول والميثانول ، قدرت كمية الفينولات والفلافونيدات في هذه المستخلصات وقيست فعاليتها المضادة للأكسدة ، كما قيمت فعاليتها لربط أيون الحديدوز وقيست قوتها الاختزالية ، درست الفعالية التثبيطية لمستخلص الميثانول لإعاقة اكسدةزيت الزيتون . تفوق مستخلص الميثانول في محتواه من المركبات الفينولية والفلافونيدية وفي فعاليته المضادة للأكسدة وفي قوه اختزاله وقابليته لربط الحديد على بقية المستخلصات . شخصت المركبات الفينولية بتقنية GC-MS واتضح أن المركب (lawsone) 1,4-Naphthoquinone الأعلى تركيزاً من بين 10 مركبات مشخصة .

الكلمات المفتاحية : الحناء ، المركبات الفينولية ، الفعالية المضادة للأكسدة ، GC-MS

المقـــدمة

تستخدم في الوقت الحاضر العديد من مضادات أكسدة الدهون الصناعية على النطاق التجاري مثل ButylatedHydroxy Toluene (BHT) و ButylatedHydroxy Anisole (BHA) و Propyl Gallate (PG). في السنوات الأخيرة أثيرت العديد من الشكوك حول مدى سلامة هذه المضادات من الناحيـــة الصحـــية، إذ قـــد ينتـــج عن استخـــدام هـــذه المضـــادات مـــواد مســـرطنة أو سمية

(Panichayupakaranant&Kaewsuwan,2004) . لذا اتجه العديد من الباحثين لإيجاد مضادات أكسدة أمينة من الناحية الصحية ، وقد أنصب الاهتمام على المصادر الطبيعية المتمثلة بالنباتات ولاسيما الصالح منها للأكل ، وتعد المركبات الفينولية من ابرز مضادات الأكسدة الطبيعية التي تشمل الفلافونيدات والتانينات والكاروتينات والحوامض الفينولية، وهي مركبات أروماتية تحمل مجموعة او اكثر من المجاميع الهيدروكسيلية المعوضة وتوجد تقريباً في جميع الاجزاء النباتية كالاوراق والأزهار والثمار والسيقان والجذور واللحاء والبذور وهي نواتج ايضية ثانوية، وبالإضافة الى فعلها كمضادات اكسدة فقد اثبتت العديد من الدراسات دور المركبات الفينولية كمضادات للبكتريا والفايروسات والفطريات ، اذ تمتاز المركبات الفينولية بشكل عام بقابليتها على اقتناص الجذور الحرة وربط الايونات المعدنية وتحفيز المواد المضادة للأكسدة وبالتالي كسر سلسلة تفاعلات الأكسدة وهي بذلك تشارك في خط الدفاع الأول ضد الجذور الحرة (Nickavar&Ablhsani, 2009). يعد الحناء من النباتات الطبية الزهرية التي تنمو بشكل واسع وتستعمل أوراقه بعد الطحن لصبغ الشعر والجلد والذي يحتوي على تراكيز عالية من المركبات الفينولية،الفلافونيدات ، الكاربوهيدرات ، البروتينات ، التانينات و القلويدات والأحماض الدهنية (Chaudhary *et al.* , 2010) ، تصنيفه عالمياً ينتمي الى الشعبة Magnoliopsida ، الرتبة Myrtales ، العائلة Lythraceae ، الجنس Lawsonia ، الاسم العلمي (*Lawsoniainermis* L.Ashnaga r& Shiri, 2011). فيما يتعلق بالدراسات السابقة المتعلقة باستخلاص المركبات الفينولية لنبات الحناء ، فقد وجد (2010)Uma *et al.*بأن مستخلص الأسيتون لأوراق الحناء المزروعة في مدينة كوالالامبور/ماليزيا قد تفوق في محتواه من المركبات الفينولية على مستخلصي الميثانول والايثانول ، وعند دراسة (2007)Hosein & Zinab لأوراق الحناء المزروعة في منطقة كرمان/ايران اتضح أن المستخلص المائي تفوق في محتواه من المركبات الفينولية على مستخلص الميثانول ، الا أن الفعالية المضادة للأكسدة للأخير تفوقت على الأول لاختلاف في طبيعة المركبات المستخلصة . لاحظ (2006)Aqil*et al.* تفوق الفعالية المضادة للأكسدة وفعالية اقتناص الجذر الحر لمستخلص نبات الحناء المزروع في مدينة نيودلهي/الهند على 12 نباتاً طبياً مزروعة في الهند ، كما قيم (2012)Arulpriya&Lalitha الفعالية المضادة للأكسدة وقابلية الاقتناص وقوة الاختزال للمستخلص المائي والأسيتون وخلات الأثيل لجذور نبات الحناء المزروعة في Coimbatore ، ووجد تفوق مستخلص الأسيتون في فعالية الاقتناص ، بينما تفوق المستخلص المائي في فعاليته المضادة للأكسدة وقوة اختزاله . تمكن (2004)Mikhaeil*et al.* من عزل سبعة مركبات فينولية(*p*-coumaric acid, lawsone, cosmosiin,2-methoxy-3-methyl-1,4-naphthoquinone,apiin, ,apigenin ,luteolin,)ذات

فعالية مضادة للأكسدة من مستخلص نبات الحناء المزروعة في مدينة المنصورة/مصر وتشخيصها بتقنيات , IR NMRTLC,. أما فيما يتعلق بالفعالية الميكروبية لنبات الحناء فقد أثبت مستخلص الميثانوللأوراق الحناء المزروعة في الهند فعالية تثبيطية جيدة تجاه بكتريا *Escherishia coli* و *Staphylococcus aureus*و *Klebsiella pneumonia* و *Pseudomonas aeruginosa* و*Proteus mirablis*(Arun *et al.*,2010)، نظراً لعدم وجود دراسات سابقة تتعلق بتقدير واستخلاص وتشخيص المركبات الفينولية لنبات الحناء المزروعة في العراق / محافظة البصرة / قضاء الفاو ، فقد هدفت الدراسة لاستخلاص المركبات الفينولية من نبات الحناء باستعمال مذيبات مختلفة والتعرف على قابليتها لإعاقة أكسدة حامض اللينوليك ومعرفة ميكانيكتها وقدرتها لإعاقة أكسدة زيت الزيتون وتشخيص المركباتالفينولية الفعالة لمستخلص هذا النبات بتقنية GC-MS.

المواد وطرائق العمل

نموذج الدراسة :تم الحصول على اوراق نبات الحناء *Lawsoniainermis* من مزارع قضاء الفاوفي محافظة البصرة. و تم تشخصيها من قبل الأستاذ المساعد الدكتور عصام الدوغجي في قسم البستنة / كلية الزراعة / جامعة البصرة . جففت الأوراق بالظل في جو مفتوح ثم طحنت الأوراق الجافة للحصول على مسحوق متجانس و حفظ لحين الاستعمال.

تقدير المركبات الفينولية :قدرت المركبات الفينولية في المستخلصات باستعمال طريقة Folin-Ciocalteu والموضحة من قبل Slinkard& Singleton (1997) وذلك بإذابة 1 غم من المستخلصات النباتية في 46 مل من الماء المقطر اضيف 1 مل من كاشف Folin-Ciocalteu، وقد خلط المزيج جيداً وبعد مرور 3 دقائق أضيف 3 مل من كاربونات الصوديوم Na_2Co_3 (2%) وترك الخليط لمدة ساعتين مع الرج المتقطع، بعدها قيس الامتصاص عند طول موجي 760 نانومتر.حسبت كمية الفينولات في المستخلصات بعمل منحنى قياسي اعتماداً على العلاقة البيانية بين تركيز الحامض والامتصاص عند طول موجي 760 نانومتر وباستعمال محلول قياسي من حامض الكاليكGallic acid وبتركيز تتراوح (0, 20, 40, 60, 80, 100) ملغم/مل.

تقدير كمية الفلافونيدات الكلية :اتبعت طريقة كلوريد الالمنيوم $AlCl_3$ التي ذكرها Huang *et al.* (2004) لتقدير المحتوى الكلي للفلافونيدات في المستخلصات النباتية، إذ أذيب 1 غم من المستخلصات النباتية في 1.5 مل إيثانول وأضيف إليه حجم مساوي من $AlCl_3.6H_2O$ تركيزه (2% المحضر في 100 مل ميثانول). رجّ المزيج ثم قيس الامتصاص عند طول موجي 367 نانومتر بعد مرور 10 دقائق. حسبت كمية الفلافونيدات في المستخلصات بتحضير محلول قياسي من المركب الفلافونيديRutin وبتراكيز من (0-100) ملغم/ مل وقيس الامتصاص على طول موجي 367 نانومتر وحسبت كمية الفلافونيدات بالاعتماد على العلاقة البيانية بين تركيز الحامض والامتصاص.

قياس الفعالية المضادة للأكسدة :اتبعت طريقة ثايوسياناتالحديديك التي ذكرها Bersuder*et al.*(1998) لقياس الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك للمستخلصات وكما يأتي : خلط 1 مل من كلنموذجمع 4 مل ايثانول (تركيزه 95%) و4.1 مل حامض اللينوليك (تركيزه 2.5% ايثانول) و 8 مل محلول دارىء الفوسفات (تركيزه 50 ملي مولاري ، pH 7.0) ، حضن الخليط بدرجة حرارة 45 م لمدة 24 ساعة ، ثم اضيف 0.1 مل من هذا الخليط الى 9.7 مل ايثانول (تركيزه 75%) و 0.1 مل ثايوسيانات الامونيوم (تركيزه 30%) ، ثم اضيف 0.1 مل من كلوريد الحديدوز (تركيزه 20 ملي مولاري محضر في 3.5% حامض الهيدروكلوريك) الى 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 ، قيست الامتصاصية عند الطول الموجي 500 نانوميتر وحسبت الفعالية المضادة للأكسدة تبعاً للمعادلة الآتية:

$$\% \text{ الفعالية المضادة للأكسدة} = 1- \left[\frac{\text{قراءة الامتصاص للنموذج}}{\text{قراءة الامتصاص للعينة الضابطة}} \right] \times 100$$

قياس قوة الاختزال : اتبعت طريقة Oyaizu (1986) والتي تضمنت خلط (2.5) مل من المستخلصات ، BHT والفا- توكوفيرول (0-100 ملغم/مل) المحضر بالايثانول تركيزه 98% مع 2.5 محلول دارىء الفوسفات 200 ملي مولا ري وبرقم هيدروجيني 6.6 و2.5 مل من محلول Potassium Ferricyanide (1%) حضن الخليط بدرجة حرارة 50°م لمدة 20 دقيقة أضيف 2.5 مل من ثلاثي كلورو حامض الخليك Tri chlora acetic acid (1%) أجريت عملية النبذ المركزي للخليط بسرعة 2000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق. فصلت الطبقة العلوية للمحلول وأضيف إليها 5 مل ماء مقطر و1 مل من كلوريد الحديديك (0.1%). قيس الامتصاص على طول موجي مقداره 700 نانومتر. حضرت العينة الضابطة بإضافة جميع المواد السابقة

باستثناء إضافة 2.5 مل إيثانول بدلاً من المستخلصات النباتية طبقت المعادلة الآتية لحساب مقدار قوة الاختزال:

$$\% \text{ قوة الاختزال} = 1 - \left[\frac{\text{قراءة الامتصاص للنموذج}}{\text{قراءة الامتصاص للعينة الضابطة}} \times 100 \right]$$

قابلية ربط أيون الحديدوز: قيست قابلية المستخلصات ا لربط أيون الحديدوز حسب الطريقة التي وجدها Decker & Welch (1990) المحورة والمتضمنة خلط 0.4 مل من المستخلصات النباتية وبتراكيز تراوحت بين 1-5 ملغم/مل مع (0.4) مل من كلوريد الحديدوز 2 ملي مولاري مع 0.4 مل 8-hydroxy quinoline بتركيز 5 ملي مولاري (المحضر بالايثانول 98%). حضن الخليط لمدة 10 دقائق على درجة حرارة الغرفة في مكان مظلم، قيس الامتصاص على طول موجي 562 نانوميتر. كذلك قدرت قابلية ربط أيون الحديدوز لمركب الأثلين ثنائي أمين رباعي حامض الخليك (EDTA) ثنائي الصوديوم وحامض الستريك بالطريقة نفسها لغرض المقارنة. حضرت العينة الضابطة بالطريقة نفسها في أعلاه باستثناء إضافة المستخلصات .

وحسبت قابلية المستخلصات على ربط أيون الحديدوز وفقاً للمعادلة الاتية:

$$\%\text{قابلية الربط} = 1 - \left[\frac{\text{قراءة الامتصاصية للنموذج}}{\text{قراءة الامتصاصية للعينة الضابطة}} \times 100 \right]$$

إعاقة أكسدة الزيوت : اتبعت الطريقة التي ذكرها Tanaka *et al.*(1990)لتقدير قابلية مستخلص الحناء بالميثانول لإعاقة الأكسدة الذاتية لزيت الزيتون ، وتضمنت ما يأتي : أذيب 1غم من الزيت في 24مل من خليط الكلورفورم-الميثانول (1: 2)، أضيف للخليط المستخلص بالتراكيز 2، 4، 6، 8 و 10ملغم/غم زيت، حضن الخليط المتجانس بدرجة حرارة 45مْ للمدد الزمنية 5، 10، 15، 20، 25، يوماً. قدرت قيم البيروكسيد حسب الطريقة التي ذكرها Pearson(1970) خلال هذه المدد الزمنية. عوملت العينة الضابطة بنفس الطريقة أعلاه باستثناء إضافة 1مل من الماء المقطر للخليط بدلاً من المستخلص. استخدم مضادة الأكسدة الصناعي (BHT) للمقارنة وبتركيز (2ملغم/غم زيت).

تشخيص المركبات الحلقية بواسطة GC- MS

شخصت المركبات الحلقية في مستخلص اوراق الحناء المحلي بواسطة تقنية كروموتوكرافيا الغاز المتصل بمطياف الكتلة نوع Shimadzu GC/MS –PQ2010Ultra في مختبر GC- MS /كلية الزراعة /جامعة البصرة وحسب ظروف الفصل التالية : نوع العمود (30 m × 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 µm)DP-5MS و استخدم غاز الهليوم كغاز حامل و بمعدل جريان 1 مل /ثانية و درجة حرارة الحاقن و الناقل البيني كانت 280م. تم ضبط برنامج فرن GC على درجة حرارة اولية مقدارها 100م لمدة 1دقيقة بعدها تم رفع حرارة الفران الى 280 م بوقع 6ةدرجات حرارية بالدقيقة وتم مطابقة اطياف المنحنيات بالمكتبة الطيفيةNIST 08.

النتائج والمناقشة

المحتوى الكلي للفينولات والفلافونيدات

يوضح الجدول (1) تركيز المركبات الفينولية والفلافونيدية المستخلصة من نبات الحناء بالمذيبات المختلفة ، وتبين أن مستخلصي الميثانول والايثانول أعطيا أعلى تركيز مع تفوق واضح للمذيب الأول على الثاني وهذا قد يرجع الى القطبية العالية التي يمتاز بها هذا المذيب مقارنة ببقية المذيبات (Cai*et al.*,2004) و اظهر مستخلص الهكسان اقل تركيز للمركبات الفينولية لكون اغلب المركبات الفينولية المستخلصة ذات قطبية عالية ،الا ان بعض هذه المركبات غير قطبية و بالتالي بالإمكان استخلاصها بالهكسان.وجد (Arun*et al.(*2010 أن مستخلص الميثانول لنبات الحناء احتوى مركبات فلافونيدية قدرها 25 ملغم/غم ، في حين وجد khodaparast(2007) بأن تركيز المركبات الفينولية بلغ 145 ملغم/غم وهذ التباين في التركيز قد يرجع الى اختلاف ظروف الاستخلاص ومصدر الحناء باختلاف بلد الزراعة .

الجدول (1) : تركيز المركبات الفينولية والفلافونيدية المستخلصة من نبات الحناء بالمذيبات المختلفة

المذيب	الفينولات(ملغم/غم)	الفلافونيدات(ملغم/غم)
الهكسان	36	26
الكلوروفورم	45	39
خلات الأثيل	62	37
الايثانول	65	44
الميثانول	79	57

الفعالية المضادة للأكسدة

يبين الجدول (2) الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك لمستخلص الحناء بالمذيبات المختلفة مقارنة بـ ButyatedHydroxy Tolueneو Tocopherol ، يتضح من الجدول تفوق مستخلص الميثانول وهذا قد يرجع لمحتواه العالي من المركبات الفينولية والفلافونيدية لوجود علاقة ارتباط قوية بين تركيز المركبات الفينولية المستخلصة والفعالية المضادة للأكسدة ، مما يدل على أن هذه المركبات هي المسؤولة بالدرجة الاولى عن الفعالية المضادة للأكسدة وبالتالي فهي تعمل كمضادات أكسدة وتكون ذات طبيعة قطبية (Rivera& Valdivia,2005) . هذه النتيجة تتفق مع khodaparast(2007) الذي وجد بأن مستخلص الحناء بالميثانول تفوق على مستخلصات الايثانول ، الأسيتون ، الكلوروفورم والهكسان، كما يلاحظ من الجدول تفوق مضاد الأكسدة الصناعي BHT على جميع المستخلصات وذلك لنقاوة هذا المضاد والذي يحتوي على مركب واحد فقط ، في حين تحتوي بقية المستخلصات على العديد من المركبات عديمة الفعالية وبالتالي فانها تحتاج الى اجراء عمليات تنقية اضافية للحصول على نقاوة عالية للمركبات الفعالة .

الجدول (2) الفعالية المضادة للأكسدة لمستخلص الحناء بالمذيبات المختلفة

المذيب	الفعالية المضادة للأكسدة (%)
الهكسان	37
الكلوروفورم	59
خلات الأثيل	63
الايثانول	68
الميثانول	76
BHT	95
Tocopherol	82

قوة الاختزال

يبين الجدول (3) قابلية مستخلصات نبات الحناء على اختزال أيون الحديديك بالمقارنة مع مضاد الأكسدة الصناعي BHT والطبيعي Tocopherol ويتضح تفوق مستخلص الميثانول على بقية مستخلصات الحناء ، كما يلاحظ تطور قوة الاختزال ترافق مع تطور الفعالية المضادة للأكسدة دلالة على أن تراكم مركبات الاختزال ضرورياً لتطور التأثير المضاد للأكسدة ومن ثم فان هذه المركبات هي المسؤولة عن تطور التأثير المضاد للأكسدة لنبات الحناء ، كما يدل على إمكانية تقييم التأثير المضاد للأكسدة بالاعتماد على قياس تطور قوة الاختزال.

تعتمد القوة الاختزالية للمركبات الفينولية على عدد مجاميع الهيدروكسيل فيها وقابليتها على اختزال ايون الحديديك من خلال منحها لذرة الهيدروجين (Huda-Faujan*et al.*, 2009) .تدل هذه النتيجة على أن المركبات الفينولية لهذه المستخلصات تحتوي على مركبات واهبة للهيدروجين قادرة على التفاعل مع الجذور الحرة لتحويلها لنواتج أكثر ثباتا" ومن ثم انهاء تفاعل سلسلة الجذر الحر ، اذ تعزىالقوة الاختزالية للمركبات الفينوليةالى وجود مركبات reductones التي تتفاعل مع البيروكسيدات ولها القدرة على اختزال أيون الحديديك من خلال منحها لذرة الهيدروجين التي تحول الحديدوز الى حديديك وظهور اللون الأزرق المقاس على طول موجي 700 نانومتر (Arulpriya& Lalitha,2012)

الجدول (3):فعالية قوة الاختزال لمستخلصات الحناء

المذيب	قوة الاختزال (%)
الهكسان	35
الكلوروفورم	33
خلات الأثيل	44
الايثانول	49
الميثانول	56
BHT	98
Tocopherol	92

ربط أيون الحديدوز :

يوضح الجدول (4) قابلية مستخلصات الحناء لربط ايون الحديدوز وبالمقارنة مع الاثيلين ثنائي أمين رباعي حامض الخليك ثنائي الصوديوم (Ethylene diamine tetra-acetic acid disodium)(EDTA-2Na) وسترات الصوديوم (Sodium citrate) . اظهرت المستخلصات قابلية ربط لايون الحديدوز ، إلا إن هذه القابلية لمستخلصالميثانول أعلى من بقية المستخلصات . إلا إن مادتي الربط EDTA-2Na وسترات الصوديوم أظهرت قابلية ربط أعلى ، تدل هذه النتيجة على مستخلصات الحناء تمتلك جزءً من فعالية ربط الايون المعدني ومن ثم فان هذه الفعالية أسهمت تعاونياً (Synergistic effect) في التأثير المضاد لأكسدة حامض اللينوليك .

الجدول (4) : قابلية مستخلصات الحناء لربط ايون الحديدوز

المذيب	قابلية ربط أيون الحديدوز (%)
الهكسان	61
الكلوروفورم	58
خلات الأثيل	38
الايثانول	54
الميثانول	66
حامض الستريك	73
EDTA	88

إعاقة أكسدة الزيوت

يوضح الجدول (5) التأثير التثبيطي لمستخلص الحناء الميثانولي لإعاقة أكسدة زيت الزيتون بتراكيز 2، 4، 6، 8 و 10ملغم /غم زيت وللمدد الخزنية 5، 10، 15، 20، 25 يوماً وبدرجة حرارة 45م وبالمقارنة مع مضاد الأكسدة BHT (بتركيز 2 ملغم/غم زيت) والعينة الضابطة. يتضح أن التأثير التثبيطي لاعاقة الأكسدة لخليط كان الأعلى عند التركيز 10 ملغم/غم زيت تعمل المركبات المضادة للأكسدة على التحطيم الجزيئي (bimolecular decomposition) للبيروكسيدات المتكونة في الزيت ومن ثم تمنع تكوين الهيدروبيروكسيدات لتعطي نواتج أكثر استقرارا"فضلا" عن أنها تعمل كموقفات للأكسدة الذاتية من خلال تداخلها مع تفاعل سلسلة الجذر الحر (Uma*et al.*,2010).أما التركيزين 2 و4ملغم/غم زيت فلم يظهرا تأثيرا" ملموسا" ، بمعنى عدم قدرتها على خفض مستويات البيروكسيد المتكونة وهذا قد يرجع انخفاض تركيز المركبات المضادة للأكسدة عند هذين التركيزين ،أما التركيزين 6 و 8ملغم/غم زيت فقد أظهرا تأثيرا" ملموسا" في مدد الخزن الاولى فقط ، بعدها حصلت زيادة سريعة في قيم البيروكسيد عند هذين

التركيزين وهذا قد يرجع الى تفكك المركبات المضادة للأكسدة بتأثير درجة الحرارة ،أما مضاد الأكسدة BHT فقد حقق أعلى فعالية تثبيطية لخفض مستويات البيروكسيد المتكونة بتقدم مدد الخزن . زيت الزيتون يحتوي على نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة الأحادية (Monounsaturated fatty acids)

والتي تقدر بحدود73% وكذلك تحتوي على أحماض دهنية مشبعة (Saturated fatty acids) والتي تقدر بحدود15% والتي تكون عرضة للأكسدة (El-Hadrami*et al.*,2004).

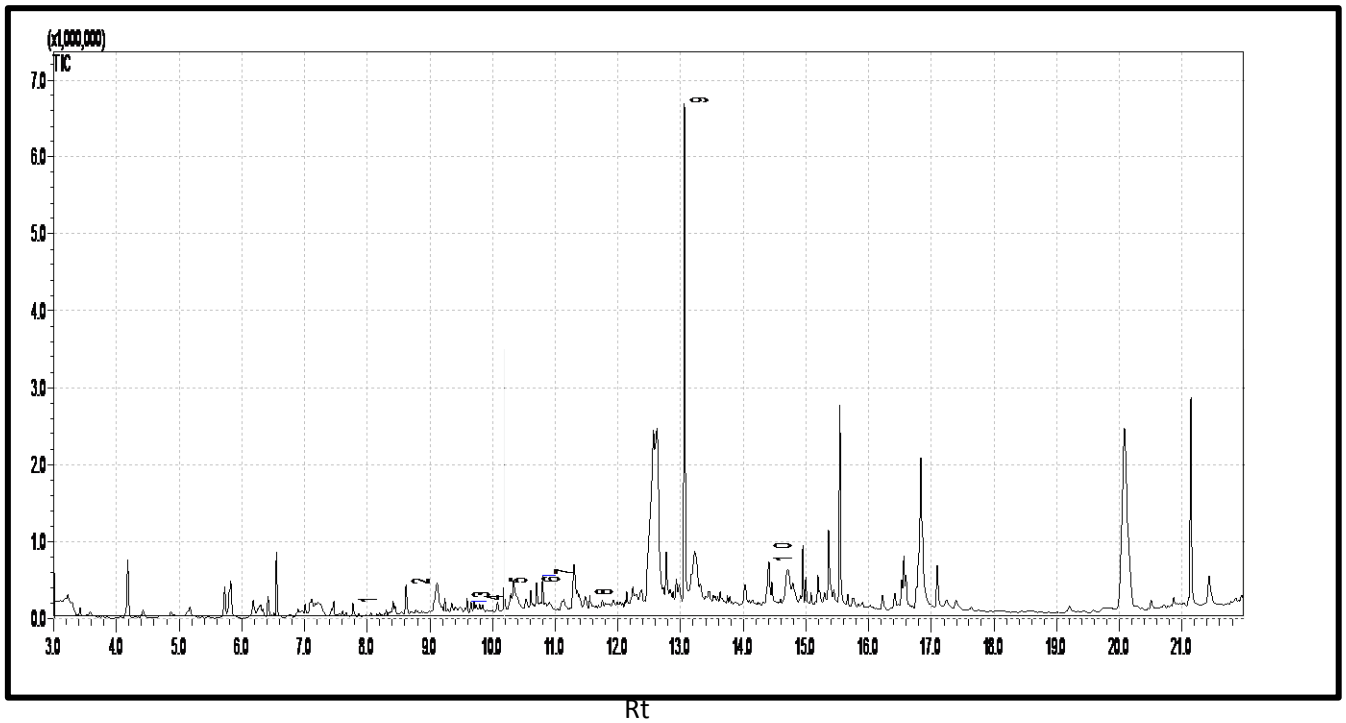
الجدول (5):التأثير التثبيطي لمستخلص الحناء الميثانولي لإعاقة أكسدة زيت الزيتون لمدد خزنية مختلفة

التراكيز(ملغم/غم زيت)	قيم البيروكسيد (مليمكافيء/كغم زيت) للمدد الخزنية				
	5 يوم	10 يوم	15 يوم	20 يوم	25 يوم
2	7.5	10.2	14.1	17.0	20.3
4	7.7	8.2	11.1	13.6	17.6
6	6.2	6.0	7.9	11.3	14.0
8	6.1	6.2	8.1	10.9	13.2
10	5.8	7.0	7.1	8.3	10.1
BHT(2 ملغم/غم زيت	5.0	5.0	5.2	5.7	6.8
العينة الضابطة	8.0	12.2	16.3	18.7	21.4

تشخيص المركبات بجهاز GC- MS

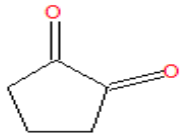
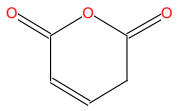
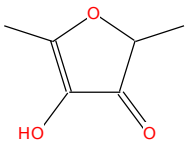
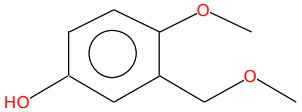
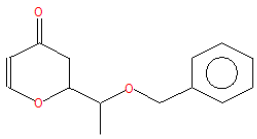
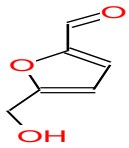
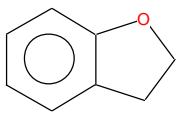
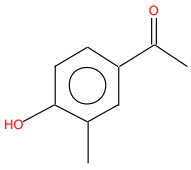
يبين الشكل (1) و الجدول (6) المركبات الفينولية المستخلصة بالميثانول بتقنية GC- MS، ويتضح بأن المركب 2-hydroxy-1,4-Naphthoquinone (lawsone)هو الأكثر تركيزا" من خلال قيمة مساحة القمة التي شغلها والتي بلغت68.57% من مجموع المركبات الفينولية المشخصة، يصنف هذا المركب ضمن مجموعة quinones ذات الفعالية المضادة للأكسدة (Chaudhary*et al.*,2010) . يعد هذا المركب المسؤول بالدرجة الرئيسة عن الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء (Pratibha&Korwar , 1999) ، كما يمتلك هذا المركب تأثيرات علاجية وتطبيقية ،اذ تعود اليه خواص الصبغة التي يمتلكها نبات الحناء لكونه ذات ألفة عالية للارتباط بالبروتين ، اذ يهاجر تدريجياً من عجينة الحناء المحضرة للصبغ الى الطبقة الخارجية من الجلد ليرتبط ببروتيناته (Ashnager&Shiri , 2011) . كما استغلت هذه الصفة باستعمال

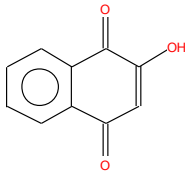
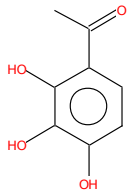
مستخلص الحناء الكحولي والمائي بوجود برمنكنات البوتاسيوم بديلاً للصبغات المستعملة في تصبيغ كرام (Gram staining) ومنها تصبيغ بكتريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* (Chukwu*et al.* ,2011) .



الشكل (1) تشخيصالمركبات الحلقية المتواجدةفيمستخلص الميثانول لاوراق الحناء المحليةباستخدام GC-MS

الجدول (6) تشخيص المركبات الحلقية المتواجدة في مستخلص اوراق الحناء المحلية باستخدامGC-MS

Compound no.	compound	Mol.weight	R.T	Area%	Similarity %	Structurs
1	1,2-Cyclopentanedione	98	7.77	1.97	80	
2	2H-Pyran-2,6(3H)-dione	112	8.61	4.64	86	
3	2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	128	9.59	1.15	83	
4	Phenol,4-methoxy-3-methyl	138	9.65	0.88	87	
5	H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-4-3,5-dihydroxy-6-methyl	232	10.18	3.07	80	
6	Furancarboxaldehyde, 5--22-(-((hydroxymethyl	126	1163	2.58	91	
7	Benzofuran, 2,3-dihydro-	120	10.79	2.77	91	
8	3-methylacetophenone4-Hydroxy-	150	11.55	1.25	84	

9	2-hydroxy-1,4-Naphthoquinone(Lawsone)	174	13.06	68.57	94	
10	2',3',4'-trihydroxy-Acetophenone	168	14.4	13.12	80	

المصـــادر

Arulpriya,P. &Lalitha,P.(2012).Assessment of the antioxidant activity of acetone, ethyl alcohol and aqueousextracts of the aerial roots of *Pothosaurea*(Linden ex Andre) climbed over*Lawsoniainermis*and *Areca catechu.* Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 4(2):1042-1047.

Arun,P.; Purushotham,K.G.;,Johnsy ,J. &Kumari ,V.(2010).In vitro antibacterial activity & flavonoid contents of *Lawsoniainermis* Henna).Int.Pharm Tech. Res.,Vol.2(2),pp 1178-1181

Ashnagar1, A. &Shiri, A.(2011).Isolation and characterization of 2-hydroxy-1,4 naphthoquinone (lawsone) from the powdered leaves of henna plant marketed in Ahwaz city of Iran. International Journal of ChemTech Research. Vol. 3, No.4, pp 1941-1944,

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

Cai, Y., Z.; Luo, Q.; Sun, M. and Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. Life Sci., 74: 2157-2184.

Chaudhary, G. Goyal, S. &Poonia, P.(2010).*Lawsoniainermis*Linnaeus: A Phytopharmacological Review.International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research ; 2(2): 91-98.

Dasgupta, T., Rao, A.R. &Yadava, P.K.(2003). Modulatory effect of Henna Leaf (Lawsoniainermis) on drug metabolizing phase I and phase II enzymes, antioxidant enzymes, lipid peroxidation and chemically induced skin and forestomachpapillomagenesis in mice. Molecular and Cellular Biochemistry 245: 11-22.

Decker, E. A. and Welch, B. (1990). Role of frritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. J. Agric. Food Chem.,

El-Hadrami, A.; Belaqziz, M.; El-Hassni, M.; Hanifi, S.; Abad, A.; Capasso, R.; Gianfreda, L. & El-Hadrami, I. (2004).Physico-chemical characterization & effects of olive oil mill wastewaters fertirrigation on the growth of some Mediterranean crops. J. of Agronomy, 3 (4): 247-254.

Hosein, M. &Zinab, D.*(2007).* Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Henna Leaves Extracts (*LawsoniaInermis*). World Journal of Dairy & Food Sciences 2 (1): 38-41

Huang, D.; Lin, C.; Chen, H. and Lin, Y.H. (2004). Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batata* L.) Lam (Tainong 57) constituents. Bot. Bull. Acad. Sin. 45: 179-186.

Huda- Faujan, N.; Noriham, A.; Norrakiah, A.S. and Babji, A.S. (2009). Antioxidant activity of plants methanolic extracts containing phenolic compounds: Afr. J.Biotechnol., 8: 484-489.

Khodaparast, H. ; Hosein, M.&Zinab,D.(2007).Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Henna Leaves Extracts (LawsoniaInermis) ,World Journal of Dairy & Food Sciences 2 (1): 38-41

Kumar, G. S.; Nayaka, H.; Dharmesh, S. M. and Salimath, D.V. (2006). Free and bound phenolic antioxidants in alma (*Emblicaofficinalis*) and turmeric (*Curcuma longa*). J. Food composition and Analysis., 19: 446-452.

Mikhaeil, B. R., Badria, F. A., Maatooq, G. T. &Amer M. A.(2004).Antioxidant and Immunomodulatory Constituents of Henna Leaves.ParasitenkdInfektionskrHyg. 128, 468-476

Oyaizu, M. (1986). Studies on Products of browning reaction: Antioxidative activities of Products of browning reaction prepared from glucosamine. Japans J. Nut., 44: 307-315.

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

Rice – Evans, C. A.; Miller, N. J.; Bolwell, P. G.; Bramley, P.M. and Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolicFlavonides. Free Radical Res., 22:375-385.

Rivera,J. Navarro; A. & Valdivia , M.A.(2005).Mexican lim peel : Comparative study on contents of dietry fiber & associated antioxidative activity . Food Cemistry , 89:57-61

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

Slinkard, K. and Singleton, V. L. (1997). Total phenol analyses: Automation and caparison with manual methods. American. J. Enology and viticulture, 28:49-55.

Surveswaran, S.; Cai, Y.; Corke, H. and Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. Food Chem., 102: 938- 953.

Tanaka, M.; Sugita, S.; Wen-Kue, C.; Nagashima, Y. & Taguchi, T. (1990). Influence of water activity on the development of antioxidative effect during the Maillard reaction between histidine& glucose. Nippon Suisan Gakkaishi, 56 (3): 525-530.

Uma D.B. , Ho C.W. & Aida W.M. (2010). Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolic Compounds from Henna (Lawsoniainermis) Leaves .SainsMalaysiana 39(1): 119–128

Extraction and Diagnosis of Compounds of Phenolic Compounds from thePlanthenna *(Lawsoniainermis)*and Assess Their Effectiveness as Antioxidants

Dhia . Falih .Al-Fekaiki **Ali Khudhair Al-Rikaby**

Food sciences Department / Agriculture college / Bashar university

Basrah– Iraq

alfecaiki@yahoo.com

SUMMARY

phenolic compoundswas extracted from the plant henna by using Differentsolvents including, chloroform, acetate Ethyl, ethanol and methanol, the phenols and flavonoids were determined in the extracts and measured Antioxidant Activity, also evaluated the Activity of link-ion ferrous and measured its reductionism, inhibitory extract of methanol was studied to block oxidation of olive oil. Methanol extract than in its content of phenolic compounds , Alflavonidah , Antioxidant Activity and reducing it in the power of its ability to bind iron on the rest of the extracts. Diagnosed phenolic compounds GC-MS technique and found that the compound 1,4-Naphthoquinone (lawsone) than the concentration of top 10 compounds diagnostic.

Key words: Henna, phenolic compounds, effective anti-oxidant, GC-MS