تقنيات فصل وتشخيص المركبات الفينولية

يمكن فصل مركبات الانثوسيانات ومنها Cyanidin و Delphinidin باستعمال كروموموتوغرافي العمود Column chromatography الحاوي على السيفادكس LH.20 كطور ثابت وخليط من الماء والايثانول كطور متحرك، وبالامكان تشخيص هذه المركبات بطرائق مختلفة منها كروموتوغرافيا السائل عالي الأداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) وكروماتوغرافي الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography (TLC) وتقنية الرنين المغناطيسي النووي Nuclear Magnetic Resonance (NMR) والطيف الكتلي Mass Spectrometer (MS).

كذلك بالامكان تحرير المركبات الفينولية بوساطة حامض HCl من المستخلص الميثانولي ، ثم الاستخلاص من المحلول الحامضي بوساطة خلات الأثيل وتم التخلص من المذيب للحصول على مستخلص مركز لفصل هذه المركبات الفينولية بوساطة عمود الفصل على السلكا جيل Silica gel وباستعمال هسكان وخلات الأثيل، بعدها تشخيص هذه المركبات بمطياف الأشعة تحت الحمراء Infra Red (IR) وجهاز الرنين المغناطيسي NMR .

كذلك بالامكان فصل مركب Dehydrotri ferulic acid و Dehydro tetra ferulic Bron acid بوساطة عمود من السيفادكس LH-20 وباستعمال نسب مختلفة من الكحول المثيلي و tri fluoro acetic acid وباعتماد مبدأ الفصل بالتجزئة. تستعمل مذيبات ميثانول وخلات الأثيل وثنائي كلوروايثان بنسبة (٥، ٢٥، ٥٠) للمستخلص الايثانولي للحصول على جزء ذي فعالية تثبيطية للفطريات ثم استدل على أن هذا الجزء يتكون من مركب Ajugol و P-hydroxy benzoic acid لدى الفصل على عمود السليكا جيل والتشخيص بجهاز الرنين المغناطيسي النووي NMR.

تعد تقنية كروماتوغرافي السائل عالي الأداء (HPLC) من الطرائق واسعة الاستعمال لفصل وتشخيص الحوامض الفينولية والتربينات الثنائية والثلاثية من المستخلصات النباتية وقلما يستعمل كروماتوغرافي الغاز (GC) لهذا الغرض لكون قسم من هذه المركبات لا تتطاير وتبقى ثابتة، في حين يمكن فصلها وتشخيصها بتقنية GC/MS.

استعملت تقنية كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC) لعزل مكونات المستخلص الانثوسيانيي بجمع العينات ذات المسارات المتشابهة Rf وباستعمال خليط بيوتانول وماء وحامض الخليك بنسبة (٤: ١: ٤) كسائل مفرق ثم أجراء الكشوفات النوعية عليها.

وبالامكان تشخيص الفلافونات الكلايكوسيدية Flavanone glycosides في المستخلص الميثانولي بوساطة الرنين المغناطيسي النووي NMR وعلى تردد يبلغ MHZ(600) للحصول على مركب Naringin و Hesperetin و Neohesperidin و Hesperidin. في حين بالامكان تشخيص نفس المركبات السابقة المفصولة بوساطة HPLC بوساطة مطياف الكتلة (CE/MS/MS) Capillary Electrophoresis-Mass-Mass وعلى تردد MHZ(609.2) ومقارنتها مع المركبات القياسية.

كما يمكننا عزل مركب Naringin و Limonin من الحمضيات على كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC) باستعمال خليط هكسان وخلات الأثيل بنسبة (٤٠: ٦٠) لامتلاكها خاصية مضادة للأكسدة.

كم يمكن فصل المركبات الفينولية الموجودة في المستخلص الميثانولي باستعمال كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC) باستعمال أنظمة مختلفة من المذيبات هي خليط كلورفورم ميثانول وماء بنسبة (٥: ٣٥: ٦٥) وخليط كلوروفورم وميثانول بنسبة ١: ٩ وخليط بيوتانول وميثانول وماء بنسبة (٧: ١: ٥) على التوالي، فيمكن تشخيص التانينات بكلوريد الحديديك ١% كبقع زرقاء اللون، والفلافونيدات بكلوريد الألمنيوم ٢% كبقع صفراء اللون.