محاضرة مضادات الاكسدة / للدراسات العليا

أ.م.د. علي خضير الركابي

مضادات الاكسدة في الحنطة

١- تركيب حبة القمح Wheat Kernel Structure

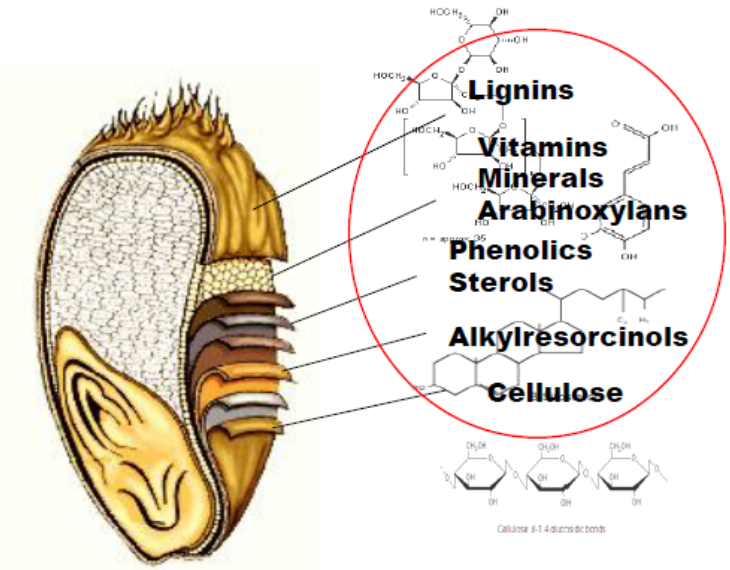
تتكون حبة القمح من اجزاء ثلاثة رئيسية هي الاندوسبيرم والنخالة والجنين ، يشكل الاندوسبيرم تقريبا ٨٣% من الوزن الكلي للحبة وتكون نسبة البروتين فيه بحدود ٧٠ – ٧٥% من اجمالي البروتين الكلي وهو يقع في مركز الحبة. تعد طبقة النخالة احدى الطبقات الخارجية

ذائية غير

موعة من

الفيتامينات اهمها فيتامين E وعدد من مجموعة فيتامين B فضلا عن البروتين والدهن والمعادن وكما في الجدول . يعد الجنين مصدرا مهما للمرافق الانزيمي (Co enzyme Q_{10} و Ubiquinine) Para– Amino Benzoic Acid (PABA) والتوكوفيرول وهذه المركبات جميعها تعد من مضادات الاكسدة المهمة والفعالة .

Localisation of the potential health benefits within the wheat kernels



شكل (١): رسم توضيحي لحبة القمح والمركبات الفعالة في طبقات النخالة

جدول(١) طبقات نخالة القمح ومحتواها من المركبات الفعالة حيويا .

طبقات نخالة القمح	المغذيات
طبقة البيركارب	– الالياف الغذائية غير الذائبة – حامض فيريولك – المركبات الفعالة حيويا – الفيتامينات
طبقة الاليرون	– المعادن – مجموعة الفيتامين B – البروتين – اللكينات – المركبات الفعالة حيويا – مضادات الاكسدة – الاحماض الفينولية
انسجة التيستا	– الالكيل ريسوريسينولات

تمتاز طبقة الاليرون بكونها غنية بالمغذيات كما تحتوي على كميات كبيرة من البروتين والمعادن والفيتامينات كالنياسين ، بسبب ذلك فهي طبقة اثارت الاهتمام كونها تتعلق بحياة الانسان تغذويا . والجدول (٢) يوضح محتوى الاليرون من المعادن والفيتامينات المهمة في حياة الفرد التغذوية .

جدول (٢) محتوى الاليرون من المعادن والفيتامينات ملغم/١٠٠غم من الوزن الجاف .

الفيتامينات	الاليرون الجاف ملغم/١٠٠غم
- الثيامين	1.4
- الرايبوفلافين	0.2
- النياسين	32.9
- البايرودكسين	1.3
- الفولات	0.2
- التوكوفيرول	1.2
المعادن	**الاليرون الجاف ملغم/١٠٠غم**
- البوتاسيوم	2250
- الفسفور	2540
- المغنيسيوم	1030
- الكالسيوم	93
- الحديد	26
- الزنك	14

اما بالنسبة الى المركبات الفينولية الرئيسية الموجودة بهذه الطبقة فهي :-

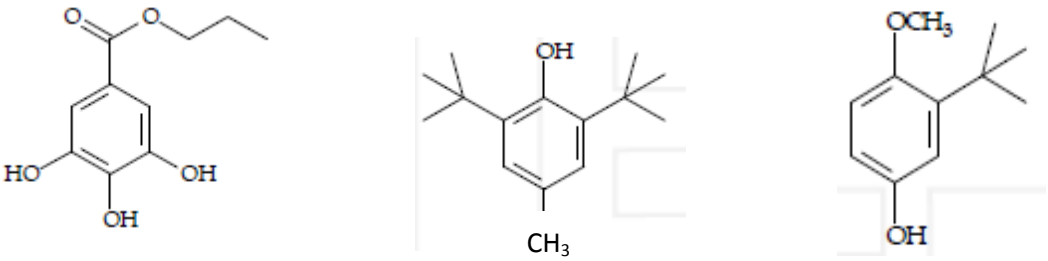
فيـــــــــــنولات بسيـــــطة مـــــثل Sinapic acid, Ferulic acid , P_ Coumaric acid, Syringic acid, Vanillic acid, AlKylresorcinols وفينولات معقدة مثل Lignin, Lignans .

٢ – مضادات الاكسدة Antioxidants

هي تلك المواد الكيميائية التي لها القدرة على مقاومة العوامل المؤكسده او لها القابلية على اقتناص الجذور الحرة فتعيق نشاطها او تمنع تكوينها اصلا ، وان القليل من جزيئات مضادات الاكسدة داخل جسم الانسان مثل بعض الانزيمات تكون غير كافية لمنع مثل هذا الضرر لذا فان تناول الاطعمة المحتوية على مضادات الاكسدة يكون مهماً في الحفاظ على الصحة العامة للفرد . ان بعض الاغذية تحتوي على مركبات تعمل كمضادة للاكسدة مثل فيتامين C وفيتامين E والكاروتينيدات والفلافونويدات وصبغات النباتات الاخرى ووجد ان بعض هذه المركبات يمكن ان تظهر تاثيراتها المفيدة خارج الجسم مثلما يحدث في عملية حفظ الاغذية .

مصادر مضادات الاكسدة

يمكن ان تكون مصادر مضادات الاكسدة المستخدمة في حفظ الاغذية صناعية مثل Butylated Hydroxyl Anisol (BHA) و Butylated Hydroxyl Toluene (BHT) و Tertiary Butyl Hydroxyl Quinon (TBHQ) و Propyl Gallate (PG) والموضحة تراكيبها الكيميائية في الشكل (٣) .



PG BHT BHA

شكل (٣): التركيب الكيميائي لبعض مضادات الاكسدة الصناعية

او مضادات اكسدة طبيعية اذ استخدمت هذه المضادات لمنع الشكوك حول سلامة وصحة الاغذية المضافة لها مضادات الاكسدة الصناعية لاحتمالية تحللها وانتاجها مواد مسرطنة وسامة .

ان من مضادات الاكسدة الطبيعية غير الانزيمية حامض الاسكوربيك (فيتامين C) والتوكوفيرول (فيتامين E) اللذان اكتسبا اهمية بالغة في اطالة مدة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الامراض مثل تقليل نسبة حدوث الاصابة بالجلطات القلبية وتصلب الشرايين .

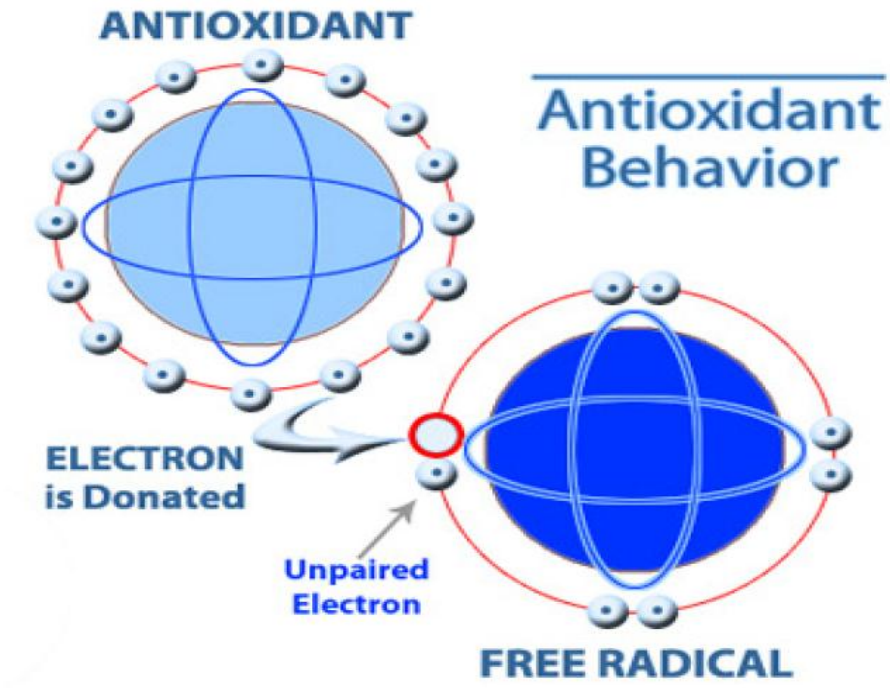
مضادات الاكسدة والجذور الحرة

تتعرض الزيوت والدهون والاغذية الحاوية على نسبة مرتفعة من الدهون الى التلف والفساد خلال الخزن لفترات طويلة وعلى درجات حرارة مرتفعة وهذا ما يعرف بتفاعلات الاكسدة ونواتج هذه العملية تؤدي الى خفض القيمة الغذائية وتغيير في الصفات الحسية مثل تغيير اللون والطعم والرائحة .

تحدث الاكسدة الذاتية للدهون عند تفاعلها المباشر مع الاوكسجين وتعد الاحماض العضوية والكحولات والالديهايدات والكيتونات النواتج النهائية لهذه العملية وهي المسؤولة عن النكهة المتزنخة ولمنع او تاخير هذه الحالة يتم استخدام مضادات الاكسدة .

ان تأخير الاكسدة الذاتية هو المفتاح لمنتجات عالية الجودة فالمستهلكون يفضلون مضافات الاغذية الطبيعية على الصناعية وهذا ما يزيد من اهمية مضادات الاكسدة الطبيعية مثل التوكوفيرولات وحامض الاسكوربيك والكاروتينويدات وان اول مضاد للاكسدة استخدم لهذا الغرض هو صمغ جوايك . ان مضادات الاكسدة هي مركبات تعمل على تكوين الجذور الحرة بأكثر من الية واحدة ومنها :-

١ – مضادات اكسدة تعمل على اخماد الجذور الحرة من خلال تفاعلها مباشرة مع هذه الجذور وتحويلها الى نواتج مستقرة عن طريق منحها الكترون او ذرة هيدروجين في مرحلة توليد الجذور الحرة كما في الشكل (٤).



شكل (٤): منح الالكترون من جزيئة مضاد الاكسدة

٢ – مضادات اكسدة كابحة للاوكسجين المفرد : اذ تقوم بتحويل الاوكسجين المفرد الى اوكسجين ثلاثي .

٣ – مضادات اكسدة ماسكة للايونات المعدنية .

ان عملية الاكسدة الذاتية للدهون وعمل مضادات الاكسدة يمكن توضيحها بالمعادلات التالية :-

1 – $R : H + O :: O + Initiator \longrightarrow R^{*} + HOO^{*}$

2 – $R^{*} + O :: O \longrightarrow ROO^{*}$

3 – $ROO^{*} + R : H \longrightarrow ROOH + R^{*}$

4 – $RO : OH \longrightarrow RO^{*} + HO^{*}$

5 – $R :: R + {}^{*}OH \longrightarrow R : R{-}O^{*}$

6 – $R^{*} + R^{*} \longrightarrow R : R$

7 – $R^{*} + ROO^{*} \longrightarrow ROOR$

$8 - ROO^{*} + ROO^{*} \longrightarrow ROOR + O_2$

$9 - POO^{*} + AH \longrightarrow ROOH + A^{*}$

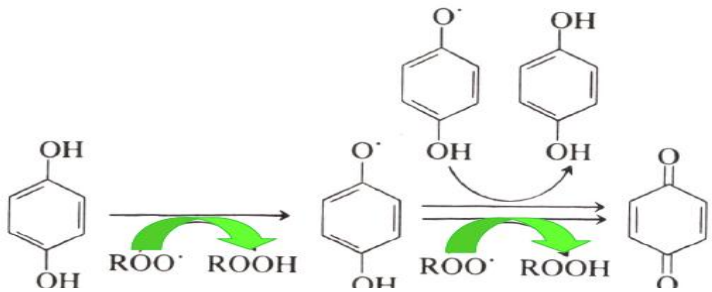
$10 - ROO^{*} + A^{*} \longrightarrow ROOA$ HA: Antioxidant

المركبات الفينولية

للمركبات الفينولية اهمية كبيرة في النظام الحيوي تتواجد بشكل عام في النباتات الغذائية وغير الغذائية كما تتواجد بالاوراق والازهار واعضاء اخرى من النباتات كما يمكن استخلاصها من الخضروات والاعشاب والفواكه والحبوب ومواد اخرى غنية بالفينولات ، ازداد استعمال الفينولات في الصناعات الغذائية لقيامها بتاخير او منع الهدم التاكسدي للدهون كذلك تعمل على المحافظة على الجودة الحسية والغذائية للاغذية النباتية الطازجة والمصنعة .

تمتلك المركبات الفينولية حلقة واحدة او اكثر من الحلقات الاروماتية المرتبطة مع مجموعة واحدة او اكثر من مجاميع الهيدروكسيل ، يوجد اكثر من ٨٠٠٠ تركيب فينولي معروف حاليا تتوزع بين اوزان جزيئية بسيطة مثل الاحماض الفينولية وبوليمرات عالية الوزن الجزيئي مثل التانينات .

ان المركبات الفينولية تعمل مضادات اكسدة من خلال منح ذرة هيدروجين من مجموعتي الهيدروكسيل المعوضة على الحلقة الفينولية وتفاعله مع جذر البيروكسي لينتج عنه تكون هيدروبيروكسيدات ومركب شبه مستقر يكون في حالة رنين كما في الشكل (٥) .



شكل (٥): الية عمل الفينول كمضاد اكسدة

الاحماض الفينولية

تشتق الاحماض الفينولية من حامض البنزويك وحامض السيناميك Cinnamic تتواجد في جميع انواع الحبوب فقد بين (Dykes and Roony (2007 ان الاحماض الفينولية يمكن تصنيفها لمجموعتين ، الاولى Hydroxy benzoic acid وتشمل : Gallic caid و P – Hydroxy benzoic acid و Vanillic acid و Syringic acid و Protocatechuic acid .

اما المجموعة الثانية Hydroxy cinnamic وتشمل : Coumaric acid و Caffeic acid و Ferulic acid و Sinapic acid ، وكما موضحة في الجدول (٤) .

جدول (٤): انواع الاحماض الفينولية المتواجدة في الحبوب

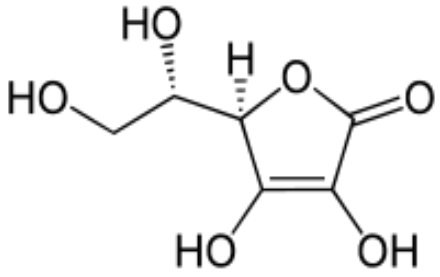
الاحماض الفينولية	الحبوب
حامض الهيدروكسي بنزويك	
حامض الكاليك	الدخن و الرز و السرجم
حامض بروتوكاجويك	الشعير و الذرة الصفراء والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم والقمح
حامض P– هيدروكسي بنزويك	الشعير و الذرة الصفراء والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم والقمح
حامض جنتستك	الدخن والسرجم
حامض السالسلك	الدخن والسرجم والقمح
حامض الفانيلك	الشعير و الذرة الصفراء والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم والقمح
حامض السيرنجيك	الشعير و الذرة الصفراء والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم والقمح
حامض الهيدروكسي سيناميك	
حامض الفريوليك	الشعير و الذرة الصفراء والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم والقمح
حامض الكافيك	الشعير و الذرة الصفراء والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم والقمح
حامض o– كيوماريك	الشعير

حامض m–كيوماريك	الشعير
حامض p – كيوماريك	الشعير و الذرة الصفراء والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم والقمح
حامض السينامیك	الدخن والسرجم والقمح
حامض السنابيك	الشعير والدخن والشوفان والرز والشيلم والسرجم

بعض مضادات الاكسدة الطبيعية

حامض الاسكوربيك (فيتامين C)

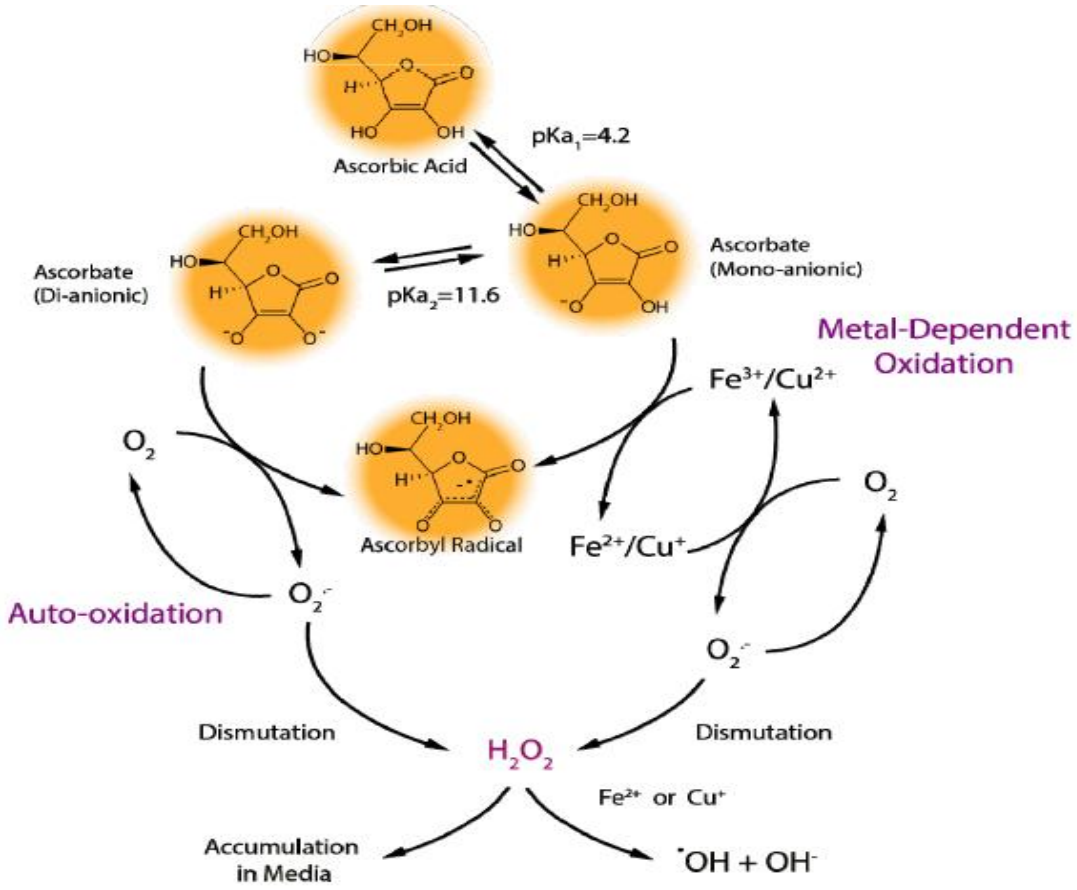
يعد حامض الاسكوربيك من المركبات القابلة للذوبان في الماء ويعمل مضاداً للاكسدة من خلال الجذور الحرة الناتجة من عملية الايض . يشبه تركيب حامض الاسكوربيك السكريات سداسية الكاربون وكما موضح في الشكل (٦) .



شكل (٦): الصيغة الكيميائية لحامض الاسكوربيك

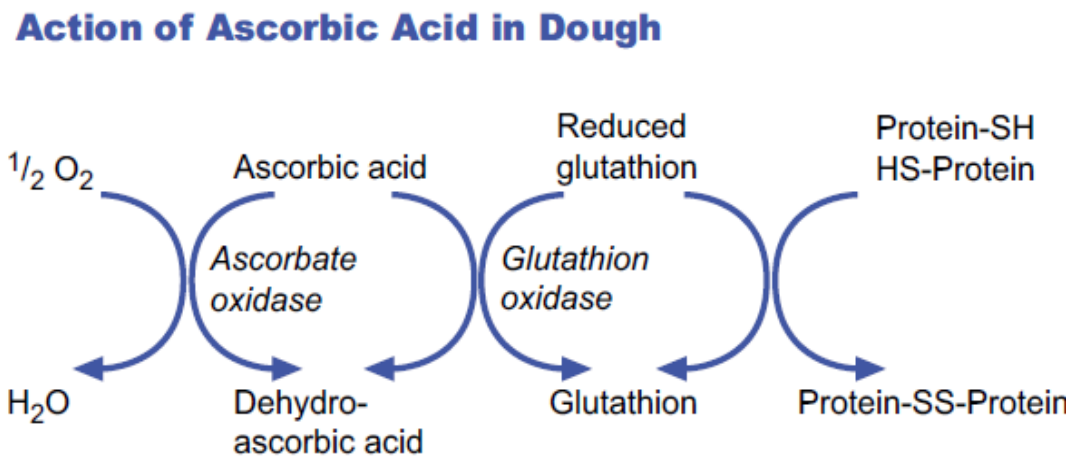
يتواجد هذا الحامض في حالات ثلاث هي حامض الاسكوربيك بصورة مختزلة و حامض الاسكوربيك بصورة مؤكسدة (Dehydro–ascorbic acid (DHA وحالة وسطية غير مستقرة وقابلة للتفاعل تسمى الجذر الحر اسكوربيل ، وللحالتين المؤكسدة و المختزلة الوظيفة الفيتامينية نفسها ومن اهم الخواص التي تجعل هذا الحامض مضاد اكسدة فعال هي قلة تفاعل جذر الاسكوربيل المتكون من خلال الاشكال النشطة للاوكسجين او النتروجين اذ يتحول جذر الاسكوربيل بسرعة الى الاسكوربات او Dehydroxy Ascorbic Acid (DHAA) . ويوضح الشكل (٧) دور حامض الاسكوربيك داخل جسم الانسان .

يتواجد حامض الاسكوربيك في مصادر غذائية مختلفة منها الفواكه الحامضية والخضروات والطماطم والبطاطا وعليه فان تناول هذه الاغذية ضروري جدا لتامين الاحتياجات اليومية منه ، اذ ان جسم الانسان لا يستطيع تكوين هذا الفيتامين بسبب افتقاره الى انزيم Gulacolactone oxidase المسؤول عن تكوينه .



شكل (٧): دور حامض الاسكوربيك داخل جسم الانسان

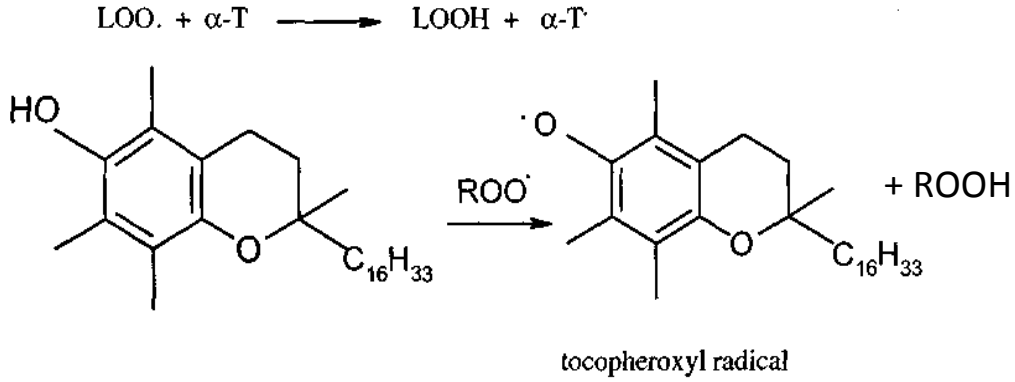
يعد حامض الاسكوربيك احد محسنات الطحين الشائعة الاستعمال من خلال ازالة مجموعة الهيدروجين من مجموعة السلفاهيدريل للاحماض الامينية وتكوين اواصر ثنائية الكبريت تعمل على تماسك وثبات العجين وكما في الشكل (٨) .



شكل (٨): دور حامض الاسكوربيك في العجين

α- Tocopherol (Vitamin E) (E فيتامين) الفا- توكوفيرولات

يعد فيتامين E من المواد التي لاغنى عنها في حياتنا اليومية التي تعمل مواد مضادة للاكسدة في جسم الانسان ، يوجد هذا الفيتامين في المكسرات والحبوب وجنين حبة القمح ويعتقد ان امتصاصه في الجسم يكون في الامعاء مرافقا لامتصاص الدهون اذ تمتص الامعاء ٤٠% فقط من المتناول ومعظمه يذهب الى الدم بوساطة قنوات اللمفاوية .ان وظيفة هذا الفيتامين بصفته مضاد للاكسدة تكمن بقدرته على اقتناص الجذور الحرة مثل الاوكسجين المفرد وفوق الاوكسيد والبيروكسيد ، وكما موضح في الشكل (٩) .



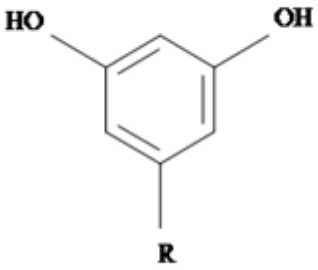
شكل (٩): دور فيتامين E فى محاصرة جذر البيروكسيل

مركبات الالكيل ريسوريسينولات (ARS) Alkylresorcinols

تعد **ARS** من الدهون الفينولية ويسمى ايضا Resoncinolic ، وتتواجد غالبا في اجزاء نخالة حبوب الشيلم والتراتيكال والقمح في المنطقة الواقعة بين طبقات البيركارب و التستا ولهذا يعود سبب عدم تواجد هذه المركبات في دقيق القمح بسبب عمليات الاستخلاص وازالة الطبقات الخارجية للحبة .

التركيب الكيميائي الالكيل ريسوريسينولات (ARS) Alkylresorcinols

تتكون هذا المركبات من حلقة اروماتية ترتبط بها عند ذرة الكاربون رقم ٥ مجموعة الكيل وكما موضحة في الشكل (١٠) .



R= $(CH_2)_n(CH_3)$
n =14, 16, 18, 20, 22, 24

شكل (١٠): التركيب الكيميائي للالكيل ريسوريسينولات المتواجدة في الحبوب

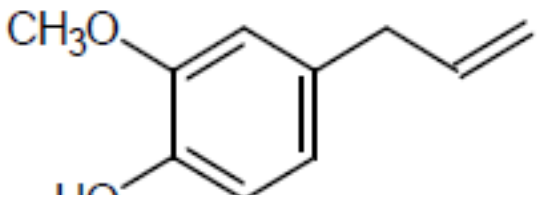
علما ان مجموعة الالكيل تتكون من سلسلة لذرات الكاربون وهذه السلسة ربما تكون مشبعة او غير مشبعة

الفعالية الحيوية للالكيل ريسوريسنولات

تعد المركبات ARS ذات فعالية بايولوجية مختلفة وان معظم نشاطه يستند الى قدرته في التفاعل مع الاغشية البايولوجية بالجسم وعلى سبيل المثال ارتباطه مع المجاميع الكارهة للماء في بعض البروتينات مؤدياً الى تحوير نشاطها الانزيمي . يحتوي ARS على مجموعتي هيدروكسيل في موقع ذرة الكاربون رقم ١ و ٣ من الحلقة الاروماتية ولهذه المجموعتين القدرة على اخماد الجذور الحرة الناتجة عن عمليات الاكسدة الذاتية للاحماض الدهنية .

مركبات اليوجينول ومشتقاتها Eugenol Compounds and Derivatives

تعد اليوجينولات من المركبات الفينولية الفعالة وتوجد بنسبة (٨٠ – ٩٥)% في زيت القرنفل وتتكون من سلسلة هيدروكاربونية قصيرة وتكون ذا رائحة قوية تستعمل كمطهرات للاسنان وهو مضادات اكسدة ، يوجد توجه بان تحل هذه المركبات محل مضادات الاكسدة الصناعية وتكمن الية عملها في ايقاف او تاخير الاكسدة الذاتية للدهون من خلال مسك الاوكسجين المفرد وربط الحديد واختزال المعادن . ويبين الشكل (١٢) التركيب البنائي لليوجينول.

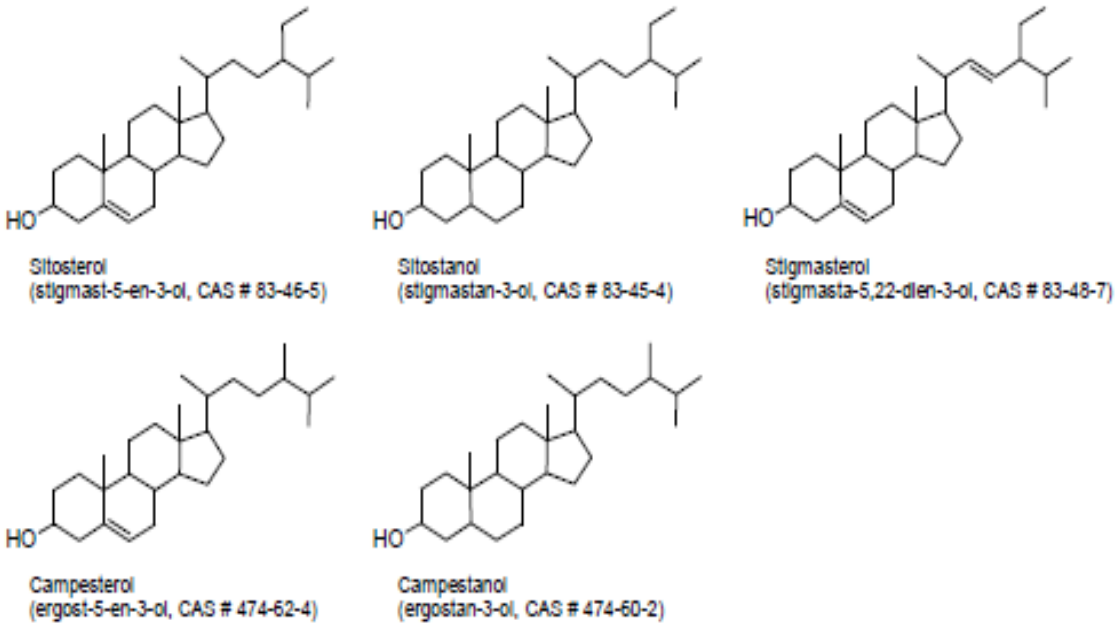


شكل (١٢): الشكل البنائي لمركب الايوجينول

مركبات الفايتوستيرول Phytosterol Compounds

يوجد الفايتوستيرول في اغلب المواد الغذائية ذات الاصل النباتي ويمتلك العديد من الخصائص التي تجعله من المواد النشطة حيويا والتي تعود بالفوائد الايجابية على صحة الانسان ، وان السبب في ذلك يكمن في قدرة هذه المركبات على العمل كمضاد اكسدة ومضاد للالتهاب ومثبط بكتيري ، توجد عدة انواع من الفايتوستيرول منها β– Sitosterol و Campesterol و Stigmasterol وجميعها ذات قابلية مضادة للاكسدة .

تعد حبوب القمح من المصادر الطبيعية المهمة للفايتوستيرولات ويتركز معظمها في طبقتي النخالة والجنين وعند ازالة هاتين الطبقتين خلال عملية الطحن تفقد حبة القمح هذه المركبات الفعالة ويبين الشكل (١٣) التركيب الكيميائي لبعض الفايتوستيرولات الموجودة في حبة القمح .



شكل (١٣): التركيب الكيميائي لبعض مركبات الفايتوستيرول الموجودة في حبة القمح

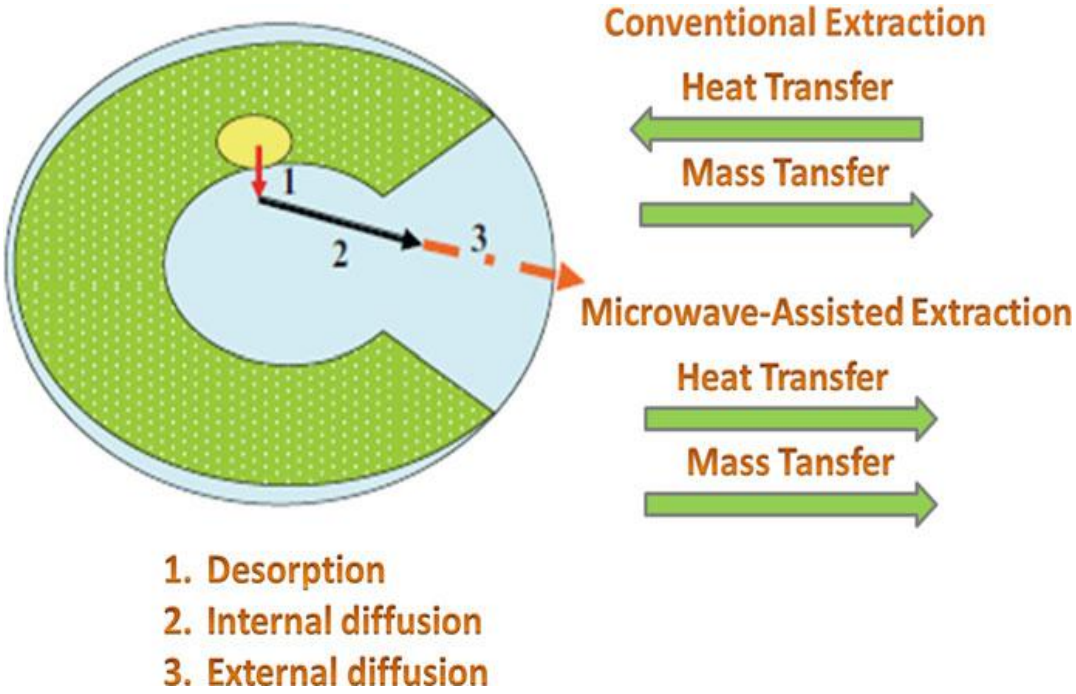
تقنية الاستخلاص بمساعدة الموجات الدقيقة

استخدمت في السنوات الاخيرة وعلى نطاق واسع تقنيـــة Microwave Assisted Extraction (MAE) في تطوير كفاءة استخلاص المركبات الحيوية الفعالة وذلك من خلال اعطائها حاصل عالي من هذه المركبات وبوقت قصير مقارنة بالتقنيات التقليدية المستخدمة بالاستخلاص كذلك تقلل من استهلاك المذيبات العضوية .

ان عملية الاستخلاص بالموجات الدقيقة تختلف عن الاستخلاص بالطرائق التقليدية من خلال توليد الموجات الكهرومغناطيسية الناجمة عن الموجات الدقيقة التي تسبب تغيرات في بنية الخلية اثناء الاستخلاص وتكون عملية الاستخلاص بالموجات الدقيقة سريعة وذات حاصل كبير وذلك لان الانتقال الحراري والكتلة تكون باتجاه واحد (من الداخل الى الخارج) في حين الطرائق التقليدية يحدث انتقال الحرارة من الخارج الى الداخل وانتقال الكتلة من الداخل الى الخارج ويمكن ملاحظة ذلك من خلال الشكل (١٤) .

ان عملية الاستخلاص بالموجات الدقيقة تحدث بثلاث خطوات وهي :-

١ – طور التوازن : يحدث في هذا الطور اذابة المادة وتكسير الحواجز التي تحتويها اذ تزال المادة الفعالة من السطح الخارجي للدقائق بسرعة ثابتة .



شكل (١٤): الية انتقال الحرارة والكتلة خلال الاستخلاص بالموجات الدقيقة والطرائق التقليدية للمنتجات الطبيعية

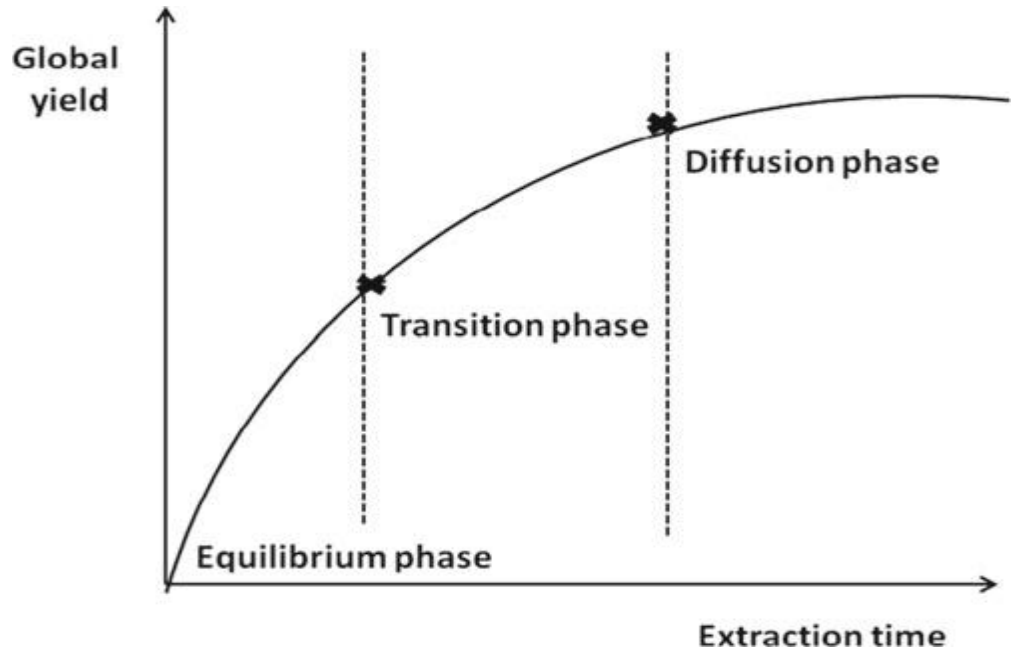
٢ – طور الانتقال الوسطي للانتشار : ان مقاومة انتقال الكتلة يبدا عند تداخل (سائل – صلب) وفي هذه الحالة يسود انتقال الكتلة عن طريق الحمل والانتشار .

٣ – الطور الاخير وفيه يجب ان تتغلب المادة المذابة على التفاعلات التي تربطها بالمادة او الدقائق الصلبة ومن ثم الانتشار الى مذيب الاستخلاص وكما في الشكل (١٥) .

اما الية التسخين اثناء الاستخلاص بالموجات الدقيقة يحدث انتقال للطاقة عن طريق اليتين :-

دوران ثنائي القطب والتوصيل الايوني (الاستقطاب الايوني) من خلال انعكاسات ثنائية القطب وحركة الايونات المشحونة الموجودة في المذاب والمذيب وكلا الاليتين تحدثان في وقت واحد، وبسبب المجال الكهرومغناطيسي تحدث حركة سريعة للايونات وان مقاومة المحلول

لحركة الايونات ينتج عنهما عملية احتكاك وتصادم مما يؤدي ذلك الى رفع درجة حرارة المحلول وان الدوران القطبي يعني اعادة ترتيب القطبية مع المجال الكهرومغناطيسي المطبق .



شكل (١٥): علاقة كمية الحاصل مع زمن عملية الاستخلاص

وان نقل الطاقة هو السمة الرئيسة لعملية التسخين بالموجات الدقيقة ، عادة تتم عملية انتقال الحرارة في التسخين التقليدي عن طريق الحمل والتوصيل والاشعاع ويتم الانتقال من السطح الخارجي للمادة الى داخلها ، بينما في حالة التسخين بالموجات الدقيقة فان المواد المراد تسخينها تستلم الطاقة مباشرة من خلال التداخل الجزيئي مع المجال الكهرومغناطيسي عن طريق تحويل الطاقة الكهرومغناطيسية الى طاقة حرارية (اي تكون عملية انتقال الحرارة والكتلة من الداخل الى الخـارج .

ان قابلية المذيبات على امتصاص طاقة الموجات الدقيقة تكون عالية عندما يكون ثابت وفقد العزل عاليا ايضا وتعد بعض المذيبات شفافة للموجات المايكروية وهي لاتسخن عندما تتعرض لموجات المايكرويف فالهكسان مثلا شفاف للموجات المايكروية بينما يمتص الايثانول الموجات الدقيقة بشكل كبير ، وان كل من المذيبات القطبية وغير القطبية يمكن استخدامها في الموجات الدقيقة فالايثانول والميثانول والماء تكون كافية القطبية لذا فهي تسخن بطاقة الموجات الدقيقة ، وان اضافة الملح للخليط (المذاب والمذيب) يمكن ان يزيد من سرعة

التسخين وذلك لان التوصيل الايوني مصدر رئيسي للاستقطاب وبالتالي زيادة الاستخلاص الموجات الدقيقة . وفي دراسة اجريت استخدمت فيها تقنية الاستخلاص بالموجات الدقيقة وتقنية الاستخلاص التقليدية لأستخلاص المركبات المضادة للاكسدة من جنين الذرة ونخالة القمح وجنين القمح ، اذ اجريت طريقة الاستخلاص التقليدية بدرجة حرارة ٦٠ م وباستخدام ثلاث مذيبات عضوية ثلاث هي الاسيتون والهكسان والميثانول ، اما طريقة الاستخلاص بمساعدة الموجات الدقيقة اجريت بدرجات حرارة مختلفة كانت (٦٠ و ٨٠ و ١٠٠ و ١٢٠) م وباستعمال مذيب عضوي الميثانول واستخدمت طريقة DPPH في قياس سعة مضادات الاكسدة ، اظهرت النتائج ان سعة مضادات الاكسدة المستخلصة بتقنية MAE كانت اعلى من العينات المستخلصة بتقنية TSE . وبالاتجاه نفسه ان الفعالية المضادة للاكسدة لمستخلص نخالة الشوفان بتقنية MAE باستخدام الميثانول ودرجة حرارة ١٠٠ م تفوقت على الفعالية المضادة للاكسدة لمستخلص نخالة الشوفان بتقنية TSE وباستخدام درجة حرارة ٦٠ م والمذيب نفسه ، بعد ان قدرت الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة DPPH فكانت الفعالية للمستخلص الاول ٧٩% والمستخلص الثاني ٦٠% . وفي دراسة اجريت في استخلاص المركبات الفينولية من اربع انواع من التوابل باستعمال تقنيتي : MAE (٢٠٠ واط و واستعمال الماء والايثانول بنسبة ٥٠ :٥٠ حجم/حجم) وUAE(٣٣ KHz واستعمال الماء والايثانول بنسبة ٥٠ : ٥٠ حجم / حجم) وقيست الفعالية المضادة للاكسدة بطريقة DPPH وكانت ابرز فعالية مضادة للاكسدة بفعل المركبات الفينولية المستخلصة بطريقة MAE وكما موضحة في الجدولين (٥) و (٦)

جدول (٥): محتوى الفينول الكلي للتوابل المستخلصة بتقنيتي UAE و MAE

Sample	Total Phenolic content mg gallic acid / 100g	
	UAE	MAE
Coriandrum Sativum	41.812 ± 2.78	82.091 ±8.432
Coriandrum Zeylanicum	506.597 ±23.518	1679.201 ± 65.333
Cuminum Cyminum	290.296 ±13.545	1159.542 ± 21.239
Crocus Sativus	500.213 ±34.745	2939.472 ± 24.00

جدول (٦): الفعالية المضادة للاكسدة للتوابل المستخلصة بتقنيتي UAE و MAE

Sample	Antioxidant activity DPPH % inhibition	
	UAE	MAE
Coriandrum Sativum	74.379	75.565
Coriandrum Zeylanicum	90.451	91.789
Cuminum Cyminum	85.432	88.432
Crocus Sativus	15.692	19.673

بعض تقنيات تشخيص مضادات الاكسدة المستخلصة من النباتات

١ : تقنية Gas Chromatography – Mass Spectrometry

تعد هذه التقنية واسعة الاستعمال في تشخيص وفصل وتحديد المركبات الفينولية لاسيما تلك المركبات القابلة للتطاير (اي فصل وتشخيص المركبات الموجودة في خليط ما وهي في الطور الغازي) ، اذ تمتلك ثبات كيميائي عالٍ اي عدم حصول تحلل او تكسر عند تحويلها الى الحالة الغازية باستخدام التسخين ويعد مطياف الكتلة عالِ الحساسية مقارنة مع المكاشيف الاخرى لكروماتوغرافي الغاز فضلا عن قدرته في التعرف على المركبات عن طريق الوزن الجزيئي للمركب وارتباط الذرات ببعضها .

درست المركبات الفينولية المضادة للاكسدة المستخلصة من الياف النخيل المضغوطة باستخدام تقنية ثاني اوكسيد الكاربون فوق الحرج Super critical SC– CO_2 والتي تم تشخيصها باستخدام تقنية GC–MS فاظهرت نتائج التحليل ان هذه الالياف تحتوي على العديد من المركبات الفينولية والتي تم تقدير فعاليتها المضادة للاكسدة باستخدام طريقة FRAP وطريقة TEAC ومن المركبـــات المشخصـــة 2– Methoxy – 4 – vinyl phenol و Vanillin و Benzoic acid و3, Methoxy – 4 – Hydrophenyl– Methyl Methanoate استطاعا Sigh and Kumar (2013) تشخيص المركبات الموجودة في مستخلص فاكهة Terminalia Chebula Retz والتي تسمى ايضا Black

Myrobalan باستخدام تقنية GC–MS و Ethyl acetate كمذيب . اظهرت نتائج التحليل ان هذا المستخلص يمتلك مركبات ذات فعالية عالية كونها مضادات للاكسدة مثل فيتامين E و (Phenol) Pyrogallo و Flavonoid 1,3–O–rutinoside ومثبطات للنمو الميكروبي . تمكن (2014) Gunenc من تشخيص احد الالكيل ريسوريسينولات وهو من الفينولات الدهنية بعد ان تم استخلاصه من نخالة حبة القمح بتقنية $SC–CO_2$ واظهرت نتائج التحليل ان لهذا المركب العديد من النظائر والمشتقات C_{15}:0 و C_{17}:0 و C_{19}:0 و C_{21}:0 و C_{23}:0 و C_{25}:0 ، ويبين الجدول (٧) الاسماء العلمية لهذه المركبات .

الاسم النظامي	الرمز	R
5–n–Peptadecylresorcinol	C_{15}:0	$C_{15}H_{31}$
5–n–heptadecylresorcinol	C_{17}:0	$C_{17}H_{35}$
5–n–nonadecylresorcinol	C_{19}:0	$C_{19}H_{39}$
5–n–heneicosylresorcinol	C_{21}:0	$C_{21}H_{43}$
5–n–tricosylresorcinol	C_{23}:0	$C_{23}H_{47}$
5–n–pentacosylresorcinol	C_{25}:0	$C_{25}H_{51}$

اما الفعالية المضادة للاكسدة لهذه المركبات فتم قياسها وكما موضحة في الجدول

جدول (٨): الفعالية المضادة للاكسدة لمركب ARS لكل نوع وخليطهم

ARS	Concentration in Mole (Phenol/DPPH)	DPPH	ORAC (µ Mole /g)
C_{15}:0	5.2	19.2 ± 1.0	199 ± 3.8
C_{17}:0	4.8	23.0 ± 0.6	202 ± 5.3
C_{19}:0	4.4	20.3 ± 2.0	228.1 ± 7.6
C_{21}:0	4.1	20.7 ± 1.3	142.8 ± 4.3
C_{23}:0	3.8	20.9 ± 0.0	178.2 ± 5.6
C_{25}:0	3.6	20.1 ± 1.7	215.0 ± 9.8
ARS–mix	4.3	31.5 ± 1.8	245.9 ± 7.6

٢ : تقنية كروماتوغرافيا السائل عالِ الاداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

تعد تقنية كروماتوغرافي السائل عالِ الاداء HPLC من الطرائق الواسعة الاستعمال لفصل الحوامض الفينولية والتربينات الثنائية والثلاثية من المستخلصات النباتية .

وفي دراسة اجريت لتقدير كمية الالكيل ريسوريسينولات بتقنية HPLC لانواع من الحبوب التي تم استخلاصها بمذيب خلات الاثيل Ethyl Acetate لمدة استخلاص ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة المختبر مع التحريك المستمر للمستخلصات . اظهرت النتائج ان كمية هذه المركبات في حبوب الشيلم تراوحت بين ٨٧.١ – ١١٢.٠ ملغم/ ١٠٠غم وفي حبوب القمح كانت ٢٤.٠ – ٤٠.٢ ملغم/ ١٠٠غم والتريتيكال Triticale بلغت ٣٢.١ – ٧٤.٤ ملغم/ ١٠٠غم وكميات صغيرة في الشعير تراوحت (٢.٢ – ٣.٧) ملغم/١٠٠ غم ، وان المركبات التي ظهرت اثناء عملية التشخيص كانت ستة نظائر من مركب ARS هي C_{15}:0 و C_{17}:0 و C_{19}:0 و C_{21}:0 و C_{23}:0 و C_{25}:0 ، وبالاتجاه نفسه تم استخلاص وتقييم مضادات الاكسدة الطبيعية لنبات المرمرية والكركم وجوز الطيب باستعمال مذيبات عضوية مختلفة هي خلات الاثيل والكلوروفورم والاسيتون والميثانول والايثانول ، اذ تم فصل عشرة مركبات فينولية بوساطة جهاز HPLC لجميع المكونات الرئيسة للمستخلصات النباتية عدا مشتق الفيرليك لم يظهر في مستخلص الكلوروفورم لجوز الطيب وكان حامض الكلوروجينيك الاعلى في مستوى الاحماض الفينولية لجميع المكونات المفصولة وكما موضح في الجدول (٩) .

جدول (٩): المركبات الفينولية المشخصة في نبات المرمرية والكركم وجوز الطيب

Phenolic Compounds	Sage Ethyl Acetate Extract Fraction I (µg/L)	Turmeric Chloroform Extract Fraction III (µg/L)	Nutmeg Chloroform Extract Fraction I (µg/L)
Gallic Acid	٢٦٨٠	٢٤٠٠	٢٦٩٠
Protocatechuic Acid	٣٠١٠	٢٩٠٠	٣٢٠٠
P– HydroxyBenzoic Acid	٢٨٧٠	٣٠٥٠	٣١٤٠
Vanillic Acid	٦٨٠	٧٦٠	٩٧٠
Caffeic Acid	٣٨٤٠	٣٦٠	٤٦٦٠
Chlorogenic Acid	٦٥٨٠	٥٤٢٠	٤٨٧٠
P– Coumaric Acid	١٠٦٠	٩٤٠	١٠٨٠
Ferulic Acid	٣١٠	٢٦٠	٢٨٠
Ferulic Derivative	٢٠٠	٢٤٠	N. D.
Avenan Thranide	٣٥٦٠	٣٨٦٠	4700
Total Phenolic Compounds	٢٤٧٩٠	٢٠١٩٠	25590