مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية - سلسلة العلوم الأساسية المجلد (39) العدد (5) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (39) No. (5) 2017

المركبات الفينولية من (حشيشة الدينار و بذور العنب) ودراسة استخلاص فعاليتها بوصفها مضادات أكسدة

د. نبيل طعمة*
د. شعبان عباس **
أحمد حمادي***

(تاريخ الإيداع 9 / 7 / 2017. قُبِل للنشر في 26 / 10 /2017)

ملخّص

استخلصت المركبات الفينولية من أوراق وأزهار حشيشة الدينار وبذور العنب *من الإنتاج المحلي* بطريقة النقع وباستخدام مذيبات مختلفة (ميتانول-إيتانول-مزيج كحولي مائي) . بلغ محتوى البوليفنولات في المستخلصات الميتانولية من أجل 100 g مادة جافة 6.31 g لبذور العنب و2.08 g لأوراق حشيشة الدينار و0.6 g لأزهارها. تميزت المستخلصات الميتانولية بفعالية مضادة للأكسدة ظهرت من خلال مقدرتها على إرجاع شوارد الحديد الثلاثي Fe^{+3} فعند التركيز 2500 ppm بلغت القدرة الإرجاعية 96.45% ، 67.56% لبذور العنب وأوراق حشيشة الدينار على التوالي. كما أظهرت المستخلصات الميتانولية لبذور العنب و أوراق حشيشة الدينار عند التركيز 80 ppm فعالية في التقاط الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$ بلغت 82.04% ، 40.92% على التوالي. أعطت المستخلصات الميتانولية لبذور العنب وأوراق حشيشة الدينار عند التركيز 250 ppm فعالية في حماية حمض اللينوليك من عملية الأكسدة بلغت 78.98%، 48.41% على التوالي. جرى مقارنة قيم الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات مع عينات قياسية من حمض الاسكوربيك و BHT.

الكلمات المفتاحية: بذور العنب، حشيشة الدينار، مركبات فينولية، الفعالية المضادة للأكسدة.

*أستاذ – قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة تشرين– اللاذقية – سورية
** أستاذ مساعد – قسم الكيمياء– كلية العلوم – جامعة تشرين– اللاذقية – سورية
*** طالب دراسات عليا (ماجستير) – قسم الكيمياء– كلية العلوم – جامعة تشرين– اللاذقية – سورية

Extraction of phenolic compounds from (Hops,grape seeds) and study its antioxidant activity

Dr. Nabeel Taameh*
Dr. Shaaban Abas **
Ahmad Hamade***

(Received 9 / 7 / 2017. Accepted 26 / 10 /2017)

□ ABSTRACT □

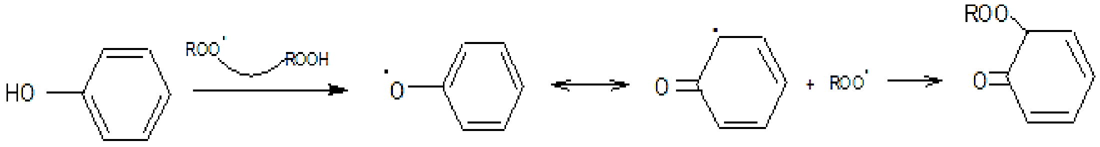
The phenolic compounds were extracted from leaves and flowers of Hops and grape seeds from local production by soaking with different solvents (Methanol-ethanol-alcohol and water mixture) . The polyphenols content in the methanol extracts for 100 g dry matter was 6.31 g for the grape seeds, 2.08 g for Hops leaves and 0.6 g for Hops flowers. Methanol extracts were characterized by an antioxidant activity that appeared by their ability to Reduce ions ferriques Fe^{+3}, at a concentration of 2500 ppm, the Reducing Power was 96.45% , 67.56% for the grape seeds and Hops leaves, respectively. The methanolic extracts of grape seeds and Hops leaves at 80 ppm showed activity in scavenge free radical $DPPH^{\cdot}$ was 82.04% and 40.92% respectively. The methanolic extracts of grape seeds and Hops leaves at 250 ppm gave the ability to protect linoleic acid from the oxidation process of 78.98% and 48.41%, respectively. The antioxidant activity values of the extracts were compared with standard samples of ascorbic acid and BHT.

Key words: grape seeds , Hops, phenolic compound , antioxidant activity

* **Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**
****Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**
*****Postgraduate Student - Department of Chemistry , Faculty of Sciences , Tishreen University, Latakia, Syria**

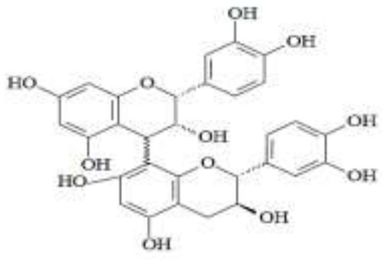
مقدمة:

شاع استخدام مضادات الأكسدة في الآونة الأخيرة بسبب أهميتها في وقاية المواد الغذائية و التجميلية وحتى بعض المواد الصناعية من الأكسدة التي تؤدي إلى تخريبها، كما أصبحت مصدرا للمكملات الضرورية لجسم الإنسان [1]. تبين حديثا أن لمضادات الأكسدة المصنعة آثار جانبية عندما تدخل في جسم الكائن الحي لذا يجري البحث عن بدائل طبيعية لهذه المضادات المصنعة [2]. تعد النباتات المحتوية على البولي فينولات أحد أهم مصادر مضادات الأكسدة الطبيعية، حيث تكمن أهمية هذه المركبات في قدرتها العالية على التقاط الجذور الحرة [3] وفق آليات متنوعة منها :



الشكل(1) آلية التقاط الفينولات للجذور الحرة

أظهرت الدراسات [5.4] وجود نسب مرتفعة من مركب بروسيانيدين procyanidin في كل من بذور العنب وحشيشة الدينار، كما أكد باحثون في دراسة أخرى [6] أن مركب بروسيانيدين يتميز بتأثيرات فيزيولوجية على درجة من الأهمية ، حيث يمتلك فعالية مضادة للأكسدة أقوى من الفيتامينات E و C بعشرين ضعف بسبب قدرته على تحطيم الجذور الحرة وتثبيط عملية الأكسدة العميقة للدهون إلى جانب تعزيز فعالية مضادات الأكسدة ذاتها الموجودة بالجسم.



Procyanidin

جرى تقدير كمية الفينولات الكلية في مستخلصات لبذور العنب الأسود (*vitis vinifera*) باستخدام مجموعة من المذيبات فقد بلغت الكمية باستخدام مزيج (إيتانول– ماء) بنسبة (30:70) 2.53 g (GAE) /100 g DM

(GAE : Gallic acid Equivalent, DM : Dry Matter)

وباستخدام الميتانول كانت الكمية 2.02 g في حين أعطى الماء أقل كمية من الفينولات 0.75 g [7] ، من جهة أخرى أظهرت دراسة أجريت على العنب الأسود (*vitis vinifera*) قيماً مرتفعة من الفينولات في البذور وصلت ل 4.45 g (GAE) /100 g DM بالمقارنة مع محتوى منخفض منها في جلد الثمرة [8] .

درس الباحثون في [9] فعالية بذور العنب (*vitis vinifera*) في التقاط الجذر الحر ($DPPH^{\cdot}$)

إذ أعطى المستخلص الإيتانولي عند التركيز 75 ppm فعالية قدرها 74.46% وذلك بعد إضافة حجم 1/1 من محلول مستخلص البذور و محلول ($DPPH^{\cdot}$) ذو التركيز 0.2 mM .

من جهة أخرى سجل محتوى أزهار نبات حشيشة الدينار من الفينولات الكلية في مستخلص إيتانولي 50% للأزهار إذ بلغ 0.134 g (GAE) /100 g DM [10].

كما أعطت أوراق حشيشة الدينار فعالية قدرها 76.9% في التقاط الجذر الحر ($DPPH^{\cdot}$)عند التركيز 250 ppm [11] .

تنوعت دراسات تقدير الفعالية المضادة للأكسدة واعتمد بعض الباحثين على حماية نظام حمض اللينوليك من التأكسد كمقياس لهذه الفعالية . لهذه الغاية أجرى الباحثون دراسة مقارنة للفعالية المضادة للأكسدة بنظام حمض اللينوليك لعدة مستخلصات من بذور العنب (*vitis vinifera*) باستخدام مجموعة من المذيبات كالأسيتون وخلات الإيتيل والميتانول ، وقد بلغت فعالية المستخلص الميتانولي في حماية حمض اللينوليك من عملية الأكسدة 88.7 % عند التركيز 200 ppm [12] .

اعتمادا على ما سبق تم اختيار عينات من بذور العنب الأسود وحشيشة الدينار لاحتوائها على مجموعة كبيرة من المركبات الفينولية [13.4] نذكر منها في بذور العنب (Resveratrol – procyanidin – Quercetin – myricetin – Kaempferol) وفي حشيشة الدينار (Xanthohumol –procyanidin – Quercetin – Genestein) لدراسة فعالية مستخلصاتها كمضادات للأكسدة.

أهمية البحث وأهدافه:

المساهمة في التعرف على محتوى المنتجات المحلية (حشيشة الدينار وبذور العنب الأسود) من المركبات الفينولية واستخلاصها من مصادرها الطبيعية المحلية، واستخدام هذه المستخلصات بوصفها مضادات أكسدة في وقاية النظم العضوية اعتمادا على قدرتها في التقاط الأوكسجين البيروكسيدي، ومقارنة فعاليتها.

طرائق البحث ومواده :

1-1- جمع العينات: تم جمع *حشيشة الدينار (Humulus lupulus)* و بذور العنب الأسود (*vitis vinifera*) *من المنتجات المحلية* ثم تركت في الظل حتى تمام الجفاف ، فصلت أزهار حشيشة الدينار عن الأوراق و طحنت العينات بطاحونة كهربائية للحصول على مسحوق متجانس وحفظت في البراد لحين الاستخدام.

1-2- الاستخلاص : اعتمد لعملية الاستخلاص عن طريق النقع نظم المذيبات التالية : ميتانول 100%؛ إيتانول 90% ؛ مزيج (ميتانول: إيتانول 80% : ماء) بنسبة (70 : 20 :10).

لهذه الغاية أخذ 10 غرام من مسحوق مادة الدراسة ومزج في أحد النظم المذيبة السابقة [6]، تم تحميض العينات ب 1 مل من حمض الخل [14] وحفظت في مكان مظلم 48 ساعة ، ثم رشحت المستخلصات وعولجت ب 50 ml من الهكسان لإزالة المركبات الدهنية من المستخلص الكحولي ، عزلت الطبقة الكحولية وجرى تركيزها باستخدام المبخر الدوار بدرجة حرارة قدرها 40 مئوية ، ثم حفظت المستخلصات في الثلاجة لحين الاستخدام .

1-3- تحديد التركيز الكلي للفينولات: اعتمدت طريقة القياس اللوني باستخدام كاشف فولن – سيكالتو Folin–Ciocalteu phenol reagent لقياس تركيز الفينولات الكلية

وذلك باعتبارها الكمية المكافئة لحمض الغاليك الذي سوف يتم استخدامه كمادة قياسة [15] وذلك بإتباع الخطوات التالية:

-تحضير المحاليل القياسية والمنحني القياسي لحمض الغاليك

انطلاقا من المحلول الأم لحمض الغاليك بتركيز 1 mg / ml تم تحضير المحاليل المخففة التالية (25 - 12.5 - 6.25 - 3.12 - 1.6) مقدرة ب µg/ml.

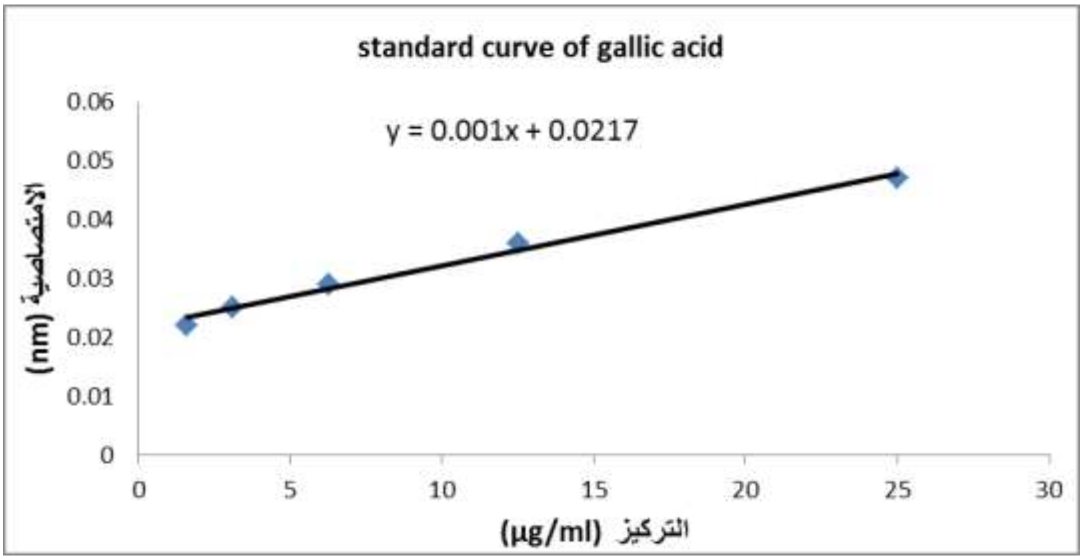
أخذ 0.1 مل من كل تركيز وأضيف له 2.8 مل ماء مقطر و 0.1 مل من الكاشف و2 مل كربونات الصوديوم 2% ثم حفظت المحاليل بحرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة وقيست الامتصاصية عند طول موجة 760 nm باستخدام مقياس الطيف الضوئي في المجال المرئي وفوق البنفسجيUV-Vis Spectrophotometer ، مقابل محلول العينة الشاهدة الذي جرى إعداده باستبدال محاليل حمض الغاليك بالميتانول.

نعرض في الجدول (1) قيم الامتصاص المسجلة لتراكيز حمض الغاليك التي تقابل العلاقة الرياضية التالية:

$$y = 0.001x + 0.0217$$

الجدول(1) قيم الامتصاص المسجلة للتراكيز القياسية لحمض الغاليك

التركيز (µg/ml)	1.6	3.12	6.25	12.5	25
الأمتصاصية	0.022	0.025	0.029	0.036	0.047



الشكل(2) المنحني القياسي لامتصاصية حمض الغاليك

حضرت محاليل العينات للقياس بواقع 20 mg من مستخلص العينة المدروسة مذاباً في 20 ml من الميتانول ثم أخذ 0.1 ml من كل تركيز وأضيف له 2.8 ml ماء مقطر و 0.1 ml كاشف فولن سيكالتو و 2ml كربونات الصوديوم 2% . تركت المحاليل بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة ثم قيست الامتصاصية عند طول موجة 760 nm ، مقابل محلول العينة الشاهدة الذي جرى إعداده كما سبق مع استبدال محاليل العينات بالميتانول.

1- 4- قياس الفعالية المضادة للأكسدة:

a - قياس قدرة المستخلص الميتانولي لبذور العنب وأوراق حشيشة الدينار على إرجاع شوارد الحديد الثلاثي Fe^{+3} :

تم اعتماد الطريقة المذكورة في [16] حيث حضرت مجموعة محاليل بتراكيز محددة من مستخلصي بذور العنب وأوراق حشيشة الدينار في الماء المقطر بواقع

(2500 – 2000 – 1000 – 500 – 200 – 100 – 50) ppm .

أخذ 1 ml من كل تركيز وأضيف له 2.5 ml محلول موقي فوسفاتي (0.2 M , pH 6.6) و 2.5 ml محلول فري سيانيد البوتاسيوم 1% ، حضن الخليط في درجة حرارة 50 مئوية لمدة 20 دقيقة ، ثم أضيف بعدها 2.5 ml من ثلاثي كلور حمض الخل (CCl_3CooH) رشح الخليط وأخذ 2.5 ml من الرشاحة و أضيف إليها 1 ml ماء مقطر و 0.5 ml كلوريد الحديد 0.1% فتشكل معقد أزرق بروسيا. قيست امتصاصية المعقد عند طول موجة 700 nm باستخدام جهاز UV-Vis Spectrophotometer . مقابل العينة الشاهدة التي استبدل فيها حجم العينة المدروسة (1 ml) بالماء المقطر.

جرى حساب القدرة الإرجاعية للمستخلصات المدروسة منسوبة إلى القدرة الإرجاعية لمحلول مشبع لحمض الغاليك الذي أعطى أعلى قدرة إرجاعية ممكنة لشوارد الحديد الثلاثي Fe^{+3} . وفق العلاقة:

$$\text{القدرة الإرجاعية}\% = \frac{A\ sample}{A\ galic} \times 100$$

b-قياس فعالية المستخلصات في التقاط الجذور الحرة :

تعتمد الطريقة على قياس فعالية المستخلص الميتانولي لبذور العنب وأوراق حشيشة الدينار في قدرتها على كسح الجذر الحر "free radical scavenger" مثل $DPPH^{\cdot}$ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) وتحويله إلى DPPH-H (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine)

إذ يقدم مضاد الأكسدة المقترح (أو المادة المدروسة) جذر الهيدروجين للكاشف ($DPPH^{\cdot}$) مما يؤدي إلى تحييده وفق التفاعل :

$$DPPH^{\cdot} + RH \rightarrow DPPH\text{-}H + R^{\cdot}$$

بنفسجي اللون   أصفر اللون

تم تحضير محاليل بتراكيز محددة من مستخلصي بذور العنب وأوراق حشيشة الدينار في الميتانول (5 , 10 , 20 , 40 , 60 , 80) ppm . مزج 2 ml من كل تركيز مع 2 ml من محلول $DPPH^{\cdot}$ في الميتانول تركيزه 200 ppm, وترك المزيج لمدة 30 دقيقة في الظلام وبدرجة حرارة الغرفة ثم تقاس الامتصاصية عند طول الموجة 520 nm بمطياف ما فوق البنفسجي والمرئي UV-Vis spectrophotometer . اعتمد في العمل العينة القياسية المؤلفة من 2 ml ميتانول عوضاً عن محلول العينة مع إضافة الكاشف كما سبق. [17] .

حسبت القدرة على تثبيط الجذور الحرة بالعلاقة :

$$\text{القدرة على تثبيط الجذور الحرة}\% = \frac{Ablank - Asample}{A\ blank} \times 100$$

C- قياس الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام نظام حامض اللينوليك :

تعطي هذه الطريقة الفعالية المضادة للأكسدة كنسبة مئوية من خلال دراسة قدرة المستخلص الميتانولي لبذور العنب وأوراق حشيشة الدينار على حماية حمض اللينوليك من عملية التأكسد.

- عملياً جرى مزج 0.1 ml من محلول محدد التركيز لكل من المستخلصين مع 2.5 ml من حمض اللينوليك تركيزه 0.02 M في الإيتانول وأضيف للمحلول 2 ml من محلول منظم الفوسفات (0.2 M, pH=7)
- حضن المزيج بدرجة حرارة 40 مئوية لمدة 24 ساعة ، بعد ذلك أخذ 0.1 ml من هذا الخليط وأضيف إليه مزيج مؤلف من (4 ml ايتانول 75% و0.1 ml ثيوسيانات البوتاسيوم 30 %) ومن ثم أضيف 0.1 ml من كلوريد الحديدي (0.02 M محضر في 3.5% حمض كلور الماء) إلى الخليط لتكوين معقد أحمر اللون من $Fe(SCN)_3$.

حضرت العينة القياسية بنفس الأسلوب أعلاه لكن مع استبدال ما يقابل حجم العينة المدروسة بالماء المقطر وتعريضها لنفس شروط الحفظ والمعاملة.

ثم قيست الامتصاصية للعينة المدروسة ونموذج العينة القياسية عند طول موجة 500 nm التي توافق امتصاصية للمعقد $Fe(SCN)_3$ [18] .

حسبت الفعالية المضادة للأكسدة بالعلاقة:

$$\text{الفعالية المضادة للأكسدة}\% = 100 - [\frac{A\ sample}{A\ blank} \times 100]$$

النتائج والمناقشة :

2-1 - بالاعتماد على علاقة المنحني القياسي لحمض الغاليك تم حساب كمية الفينولات الكلية TPC (Total phenol content) وكذلك النسبة المئوية للفينولات R المقابلة لها في المستخلصات المحضرة.

نعرض في الجدول (2) المحتوى الكلي للفينولات TPC في المستخلصات المدروسة مقدرة ب (عدد غرامات حمض الغاليك المكافئة Gallic acid Equivalent لكل 100 g من المادة الجافة).

الجدول (2) المحتوى الكلي للفينولات في بذور العنب و أوراق وأزهار حشيشة الدينار

العينة المدروسة / المذيب		(الميتانول)	(الإيتانول)	(ميتانول-إيتانول- ماء) m (10-20-70)
بذور العنب	TPC	6.31 ± 0.22	4.69 ±0.3	4.72 ± 0.16
	R	41.69 ±0.24	41.6 ± 0.87	35.73 ± 0.94
زهرة حشيشة الدينار	TPC	0.65 ±0.01	0.67 ±0.06	0.65 ±0.01
	R	9.59 ±0.31	8.36 ±0.55	6.93 ±0.26
ورق حشيشة الدينار	TPC	2.08 ±0.14	1.52 ±0.17	1.72 ±0.02
	R	18.03±0.65	17.69±0.70	15.99 ±0.73

يبدو من النتائج في الجدول (2) أن بذور العنب تحتوي على كمية من الفينولات مرتفعة بالمقارنة مع محتوى هذه الفينولات في أزهار و أوراق حشيشة الدينار،حيث أعطى المستخلص الميتانولي للبذور كمية مرتفعة نسبياً من الفينولات بلغت 6.31 g (GAE) /100 g DM

من جهة أخرى يبدو من الجدول (2) أن أوراق حشيشة الدينار تحتوي على كمية أكبر من الفينولات بالمقارنة مع تلك الموجودة في الأزهار (المخاريط) ، وأن الميتانول هو المذيب الأفضل بين أقرانه المستعملة في استخلاص المركبات الفينولية كما ذكر في الدراسة [14].

بناءا" على النتائج السابقة تم دراسة الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلص الميتانولي لكل من بذور العنب وأوراق حشيشة الدينار.

2-2- قياس القدرة الإرجاعية للمستخلص الميتانولي لكل من بذور العنب وأوراق حشيشة الدينار:

درست القدرة الإرجاعية لمستخلصات من بذور العنب وأوراق حشيش الدينار بتراكيز متدرجة ppm (50 ، 100 ، 200 ، 500 ، 1000 ، 2000 ، 2500) بالتفاعل مع شوارد الحديد الثلاثي (سيانيد الحديد الثلاثي) في وسط حمضي مما يؤدي لتشكل معقد أزرق اللون تشغل فيه شاردة الحديد الثنائي الركن الأساسي هو أزرق بروسيا ، وتشير قيم الامتصاص المسجلة للعينات المدروسة إلى وجود تناسب طردي بين قيم الامتصاص المسجلة و تراكيز المستخلصات المدروسة الأمر الذي يؤكد القدرة الإرجاعية للمستخلصات المدروسة .

تبين المعادلات التالية آلية تشكل معقد أزرق بروسيا

$$\text{Prussian Blue: } [Fe(CN)_6]^{3-} + ArOH \rightarrow [Fe(CN)_6]^{4-} + ArO^{\bullet} + H^+$$

$$[Fe(CN)_6]^{4-} + Fe^{3+} + K^+ \rightarrow KFe[Fe(CN)6]$$

$$\lambda max=700\ nm$$

الجدول (3) تغيرات قيم امتصاصية معقد ازرق بروسيا بزيادة تركيز مستخلص بذور العنب

التركيز ppm	50	100	200	500	1000	2000	2500
الإمتصاصية	0.78±0.02	0.98±0.02	1.35±0.08	2.24±0.12	3.07±0.09	3.36±0.10	3.49±0.11

الجدول (4) تغيرات قيم امتصاصية معقد ازرق بروسيا بزيادة تركيز مستخلص أوراق حشيشة الدينار

التركيز ppm	50	100	200	500	1000	2000	2500
الإمتصاصية	0.47±0.04	0.59±0.04	0.84±0.05	1.34±0.05	1.74±0.06	2.23±0.12	2.44±0.08

لأجل مقارنة القدرة الإرجاعية للمستخلصات السابقة كنسبة مئوية تم استخدام محلول مشبع لحمض الغاليك بتركيز 15000 ppm باعتباره محلولا مرجعيا بدلا من العينات المدروسة بهدف الحصول على أكبر قدرة إرجاعية ضمن شروط التجربة لشوارد الحديد الثلاثي Fe^{+3} ، لقد أعطى هذا المحلول امتصاصية قدرها(3.626 ±0.03).

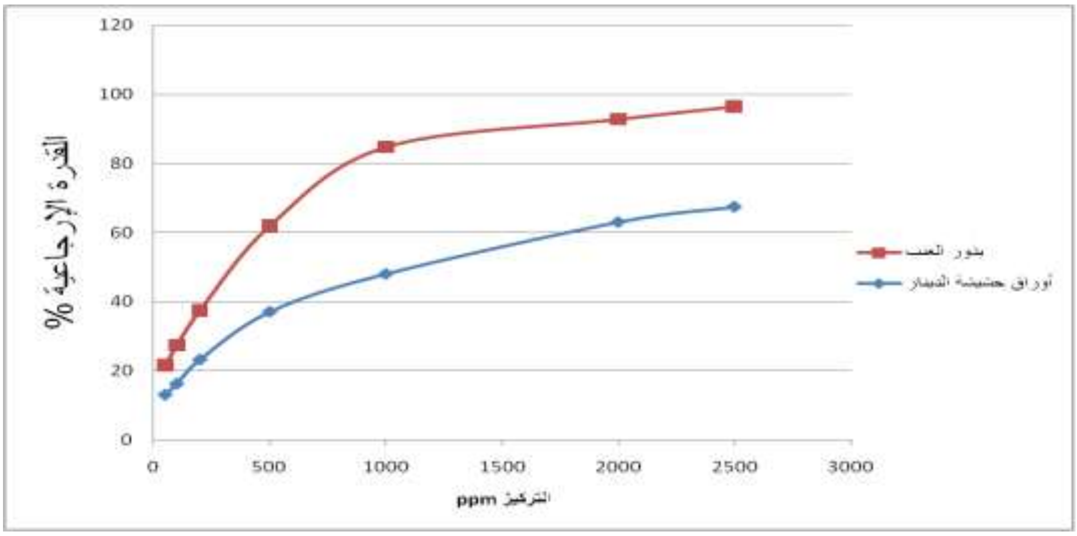
وبالتالي تعطى القدرة الإرجاعية للعينات اللمدروسة كنسبة مئوية منسوبة لقدرة حمض الغاليك بالعلاقة :

$$\text{القدرة الإرجاعية}\% = \frac{\text{امتصاصية العينة}}{3.626} \times 100$$

وبهدف المقارنة اعتمدنا في العمل محلول حمض الاسكوربيك (فيتامين C) عند التركيز 200 ppm بوصفه مادة ذات صفات إرجاعية معروفة . نعرض في الجدول (5) والشكل (3) نتائج هذه القياسات .

الجدول (5) القدرة الإرجاعية % لمستخلصي بذور العنب و أوراق حشيشة الدينار

التركيز ppm	50	100	200	500	1000	2000	2500
بذور العنب	21.57±0.65	27.22±0.60	37.49±2.27	61.94±3.50	84.75±2.67	92.74±2.98	96.45±3.28
أوراق حشيشة الدينار	13.12±1.17	16.27±1.12	23.29±1.42	37.10±1.43	48.07±1.88	63.08±4.98	67.56±2.41
حمض الاسكوربيك	--------	--------	46.69±0.77	--------	--------	--------	---------



الشكل (3) القدرة الإرجاعية لمستخلصي بذور العنب و أوراق حشيشة الدينار

2-3- قياس فعالية مستخلصات بذور العنب وأوراق حشيشة الدينار في التقاط الجذر الحر ($DPPH^{\cdot}$):

بهدف تسليط الضوء على فعالية مستخلصات بذور العنب و أوراق حشيشة الدينار في التقاط الجذور الحرة وإيقافها (تثبيطها) جرى استعمال الجذر الحر ($DPPH^{\cdot}$) بوصفه أحد المركبات الجذرية الثابتة التي عادة ما تستخدم لهذه الغاية .

أظهرت عملية التحليل أن امتصاصية العينة القياسية الناتجة عن إضافة 2 ml من محلول $DPPH^{\cdot}$ ذي التركيز 200 ppm الى 2 ml من الميثانول تساوي Ac =2.88±0.03

و من أجل تقدير فعالية المستخلصات في التقاط الجذور الحرة جرى حساب النسبة المئوية ل $DPPH^{\cdot}$ المكتسحة (الملتقطة) I % وفق العلاقة التالية :

$$I\ \% = \frac{Ac - At}{Ac} \times 100$$

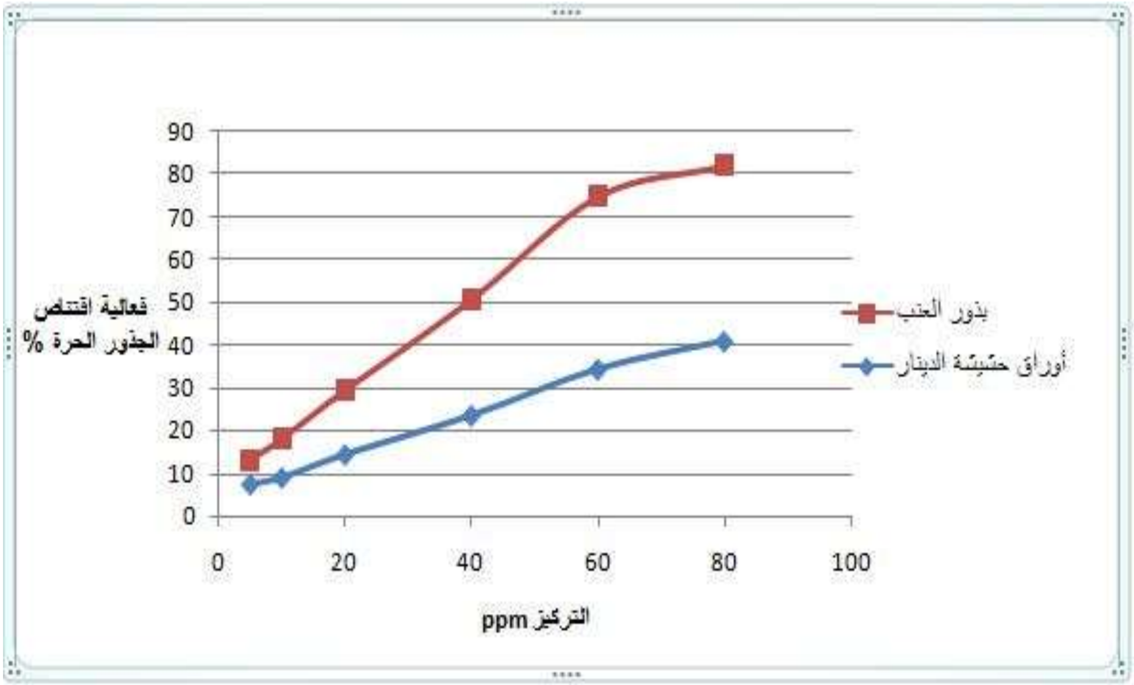
حيث امتصاصية العينة القياسية :Ac امتصاصية العينة المدروسة :At

بالتوازي مع قياس فعالية المستخلصات في التقاط الجذور الحرة جرى تقدير فعالية كل من حمض الأسكوربيك وBHT مضاد الأكسدة الصنعي (3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluene) بهدف المقارنة مع العينات المدروسة.

سجل في هذه الدراسة النتائج التالية (الجدول 6 والشكل 4).

يبدو بوضوح من القيم العددية في الجدول (6) تميز مستخلصات بذور العنب بفعالية مرتفعة في اكتساح الجذور الحرة تفوق على ما سجل لمضاد الأكسدة الصنعي BHT وأوراق حشيشة الدينار بمعدل الضعف تقريباً ، في حين كان لحمض الأسكوربيك فعالية في التقاط الجذور الحرة تفوق ضعف ما أظهرته مستخلصات بذور العنب عند

نفس التركيز و أربع أضعاف ما سجل لمستخلصات أوراق حشيشة الدينار، الأمر الذي يشير الفعالية النسبية لبذور العنب في التقاط الحذور الحرة .



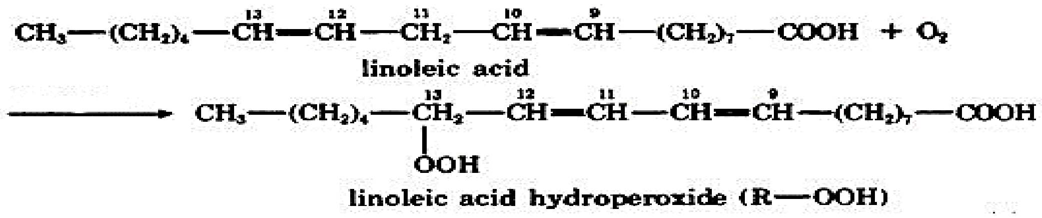
الشكل (4) فعالية مستخلصات بذور العنب وأوراق حشيشة الدينار في التقاط الجذور الحرة

الجدول (6) فعالية مستخلصات بذور العنب وأوراق حشيشة الدينار
في التقاط (DPPH·) على أساس النسبة المئوية ل ·DPPH الملتقطة

العينة	التركيز ppm					
	5	10	20	40	60	80
بذور العنب	13.17±0.45	18.14±0.55	29.52±1.72	50.83±2.79	74.90±2.59	82.04±2.17
أوراق حشيشة الدينار	7.26±0.57	8.83±0.59	14.26±0.77	23.45±0.27	34.33±3.11	40.92±1.80
حمض الاسكوربيك	--------	-------	63.19±2.78	--------	--------	--------
BHT	--------	-------	-------	27.33±2.09	--------	--------

2-4- قياس الفعالية المضادة للأكسدة بإستخدام نظام حامض اللينوليك :

إن أكسدة أحد الروابط المضاعفة في جزيئة حمض اللينوليك بالتسخين بوجود الأكسجين الجزيئي يؤدي لتشكل هيدرو بيروكسيد حمض اللينوليك . يكشف عن وجوده من خلال أكسدته لشوارد الحديد الثنائي وتحويلها لشوارد الحديد الثلاثي التي تشكل بتفاعلها مع شوارد ثيوسيانات معقداً أحمراً من ثيوسيانات الحديد كما في التفاعلات التالية:



$$R\text{-}OOH + 2Fe^{2+} + 2H^{+} \rightarrow R\text{-}OH + 2Fe^{3+} + H_2O$$

$$Fe^{3+} + 3SCN^{-} \rightarrow \underset{\text{(red complex)}}{Fe(SCN)_3}$$

يعبر عن الفعالية المضادة للأكسدة كنسبة مئوية باستخدام العلاقة:

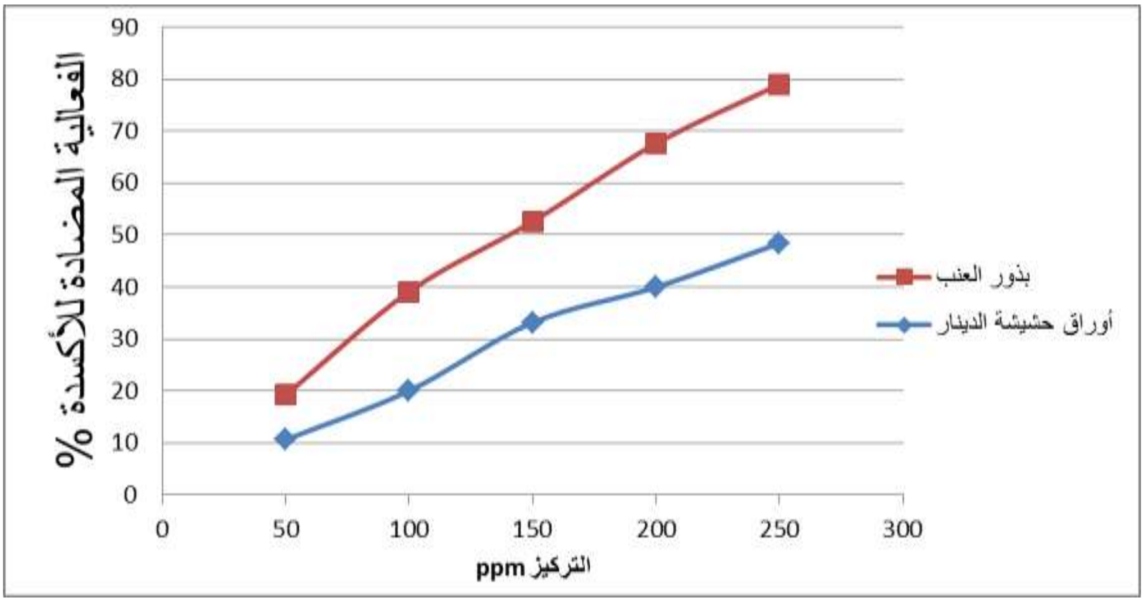
$$\text{الفعالية المضادة للأكسدة}\% = 100 - [\frac{A\ sample}{A\ blank} \times 100]$$

جرى مقارنة نتائج القياس مع عينية من حمض الاسكوربيك الذي يعد أحد مضادات الأكسدة الطبيعية بتركيز 150 ppm وقد جرى معالجتها بالتوازي كما في العينات المدروسة .

نعرض في الجدول (7) والشكل (5) قيم الفعالية المضادة للأكسدة

الجدول (7) الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات باستخدام نظام حمض اللينوليك

العينة	التركيز ppm				
	50	100	150	200	250
بذور العنب	19.22±1.48	39.11±1.56	52.58±3.02	67.61±1.66	78.98±1.09
أوراق حشيشة الدينار	10.62±1.29	20.03±1.95	33.16±1.80	39.96±0.84	48.41±1.01
حمض الاسكوربيك	--------	--------	57.23±1.01	--------	--------



الشكل (5) فعالية مستخلصات بذور العنب وأوراق حشيشة في حماية حمض اللينوليك من الأكسدة

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

1- يمتلك الميتانول قدرة مرتفعة في استخلاص الفينولات من معظم العينات المدروسة لذلك يعد مذيب جيد وتم استخدام مستخلصاته في دراسة الفعالية المضادة للأكسدة.

2- تبين أن التركيز الكلي للفينولات في أزهار حشيشة الدينار قليل بالمقارنة مع تركيز هذه المركبات في الأوراق.

3- يمتلك المستخلص الميتانولي لبذور العنب قدرة إرجاعية أكبر من قدرة مستخلص أوراق حشيشة الدينار تجاه الكواشف المؤكسدة المدروسة.

4- يمتلك المستخلص الميتانولي لبذور العنب فعالية أعلى من مستخلص أوراق حشيشة الدينار في اقتناص الجذور الحرة عند جميع التراكيز المدروسة.

5- تفوق المستخلص الميتانولي لبذور العنب على مستخلص أوراق حشيشة الدينار في حماية حمض اللينوليك من عملية الأكسدة.

6- يمتلك المستخلص الميتانولي لبذور العنب فعالية تعادل ضعف فعالية مضاد الأكسدة الصنعي BHT في اقتناص الجذور الحرة عند التركيز 40 ppm .

التوصيات:

1- الاستفادة من بذور العنب و حشيشة الدينار في الحصول على مستخلصات طبيعية لاحتوائها على كميات جيدة من الفينولات ذات الفعالية المضادة للأكسدة.

2- استخدام هذه المستخلصات في المجالات الصحية والطبية لما تمتلك من فوائد جمة تنعكس إيجاباً على الصحة العامة.

3- العمل على استبدال مضادات الأكسدة الصنعية بالمستخلصات الطبيعة التي تعد أكثر أمانا و فعالية.

4- البحث عن منتجات نباتية أخرى يمكن الاستفادة منها في مجال مضادات الأكسدة.

المراجع:

1. YILMAZ, Y; TOLEDO, R. *Health aspects of functional grape seeds constituents.* Trends in Food Science & Technology,2004.15(9): 422 – 433 .

2. PANICHAYUPAKARANANT .P ; KAEWSUSWAN. S. *Bioassay-guided isolation of the antioxidant constituent from Cassia alata*, J Sci. Technol., 2004.26 (1): 103-107 .

3. LEONTOWICZ,H;GORINSTEIN,S; LOJEK,A; LEONTOWICZ,M; SOLIVAFORTUNY,R;PARK,YS;JUNG,ST;TRAKHTENBERG.S;MARTINBELLOS,O, O.*Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches,and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity hn rats*, J Nutr Biochem.2002,13(10):603- 610.

4. GODEVAC, D; TESEVIC ,V; VELICKOVIC, M; VUJISIC,L; VAJS, V;MILOSAVLJEVIC, S.*Polyphenolic compounds in seeds from some grape cultivars grown in Serbia*. *J. Serb. Chem. Soc.2010, 75* (12) 1641–1652 .

5. JERUMANIiS, J. *Quantitative analysis of flavanoids in barley, hops, and beer by high-performance liquid chromatography (HPLC)*.J.inst.brew.1985,91,250-252.

6. VERONECA,N; CARMEN,G; BEGONA,B; YUN,H;ALYSON,E.*Non-galloylated and galloyated proanthocyanid in oligomers in grap seeds from Vitus vinifera L.cv. Graciano,Tempranillo and Cabernet Sauvignon*.J, Sci Food Agric, 2006.86:915-921..

7. LI,H; WANG, X;LI,P;LI, Y. *Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (Vitis vinifera) Seed Powder Assessed by Different Methods*. Journal of Food and Drug Analysis, 2008.Vol. 16, No. 6.67-73

8. KY, I;LORRAIN,B ; KOLBAS, N;CROZIER,A ;TEISSEDRE, P.*Wine by-Products: Phenolic Characterization and Antioxidant Activity Evaluation of Grapes and Grape Pomaces from Six Different French Grape Varieties. Molecules* 2014, *19,* 482-506.

9. AL-MUWALY,K ;AL-FIAYEH,K;ALI,A. *Antioxidant and free radical scavenging effects of black grape seed (Vitis Vinifera L)*. Second Scientific Conference – Science College -Tikrit University, *2012*.

10. NIKNEJAD,F;MOHAMMADI,M ; KHOMEIRI,M ;HADI,S RAZAVI; ALAMI.M. *Antifungal and Antioxidant Effects of Hops (Humulus lupulus L.) Flower Extracts*. AENSI Journals, 2014,395-401.

11. KROFTA,K; MIKYSKA,A;HASKOVA,D. *Antioxidant Characteristics of Hops and Hop Products*. J. Inst. Brew. 2008,114(2), 160–166.

12. JAYAPRAKASHA,G,K; SINGH,R,P, ;SAKARIAH. *Antioxidant activity of grape seed (Vitis cinifera)*. Food Chemistry, 2001,73, no3,285-290.

13.ARRAEZ,D:CORTACERO,R;SEGURA,R;JOSE,C;MARTEN,A;CONTRERAS, L;FERNANDES,A. *Characterization of the methanolic extract of hops using capillary electrophoresiselectrospray ionization-mass spectrometry. Electrophoresis* 2006, *27,* 2197–2207.

14. KHODDAMI.A ;WILKES,M ;ROBERTS,T. *Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds.* Department of Plant and Food Sciences. University of Sydney, Sydney, Australia *Molecules*, 2013, *18*, 2328-2375 .

15. LIN, J.Y; TANG,C.Y.. *Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation*. Food Chemistry.2007, 10: 140-147.

16. OYAIZU, M. *Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine*. Japan Journal of Nutrition.1986, 44, 307–315.

17 .LEE,J ;HWANG,W;LIM,S. *Antioxidant and Anticancer activities of organic extracts from platycodon grandiflorum A. de candolle roots*. J.Ethnophannacol. 2004,93,409-415.

18. JAE SUE,C; YOUN,C; HYUN AH,J; HYE JIN,P ; TAKAKO,Y. *Comparative evaluation of antioxidant potential of alaternina (2-hydroxy emodin) and emodin*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000,6347–6351.