الفعالية المضادة للأكسدة لبعض المستخلصات النباتية ذات المحتوى الفينولي

أ.م.د. علي عبد الكاظم جاسم الغانمي - جامعة كربلاء - كلية العلوم - قسم علوم الحياة
م. عزيز ياسر حسن العذاري - جامعة كربلاء - كلية العلوم - قسم علوم الحياة
م.م. علاء عبد الحسين كريم الدعمي - جامعة القادسية – كلية التربية – قسم علوم الحياة
المراسلات الى : أ.م.د. علي عبد الكاظم جاسم الغانمي

الخلاصة :

تم تحديد المحتوى الفينولي وحامض الكاليك و الفعالية المضادة للأكسدة لستة مستخلصات نباتية محلية هي التفاح *Pyrus malus* والجوز *Juglans regia* والنبق *Zizyphus jujubae* والطرفة *Tamarix mannifera* والدفلة *Neriun oleander* والرمان *Punica granatun*.استخلصت المواد الفينولية بطريقتين هما الماء المغلي و الميثانول 50% . و أوضحت النتائج أن نسب هذه المواد متقاربة بطريقتي الاستخلاص المستخدمتين , كما أظهرت الدراسة أن أوراق التفاح هي أكثر المستخلصات المدروسة احتواءا على حامض الكاليك إذ بلغ تركيزه(0.677 و 0.559) ملغم / مل في المستخلصين المائي و الكحولي على التوالي .

أما الفعالية المضادة للأكسدة فقد لوحظ تميز المستخلصات الميثانولية لقشور الرمان و أوراق الجوز إذ بلغت (IC_{50}) لهذين المستخلصين 100 و 250 مايكرو غرام / مل ، على التوالي .

Abstract

The phenolic constituents gallic acid,and the antioxidant activity for six local plants extracts, *Pyrus malus ,Juglans regia, Zizyphus jujubae, Tamarix mannifera, Neriun oleander and Punica granatun* were determined . The phenolic compounds were extracted by two methods,boiled water and 50% methanol.The results reveald that there were no apparent diffrences between the mentioned extraction methods. The leaves of *Pyrus malus* were the most studied extractants containing gallic acid with the concentration of (0.677 and 0.559)mg/ml in the water and alcoholic extracts, respectively . The antioxidant activity were the highest in the methanolic extract of *Punica granatun* peels and *Juglans regia* leaves with(IC_{50})of100and250µg/ml,respectively.

المقدمة

لوحظ في الآونة الأخيرة تنامي الطلب على المصادر الطبيعية لمضادات الاكسدة (Antioxidants) نظرا لأهميتها الكبيرة في المجالات الغذائية و الصيدلانية وتعد النباتات مصدرا لاينضب لهذه المضادات لأحتواءها على الكثير من المركبات الفعالة حيويا .

ان مضادات الأكسدة بمثابة الخط الدفاعي ضد التلف التأكسدي (Oxidative damage) , ويمكن تقسيمها الى ثلاثة أقسام (1) : الأنزيمات مثل أنزيم superoxide dismutase ,مثبطات تكوين الجذور الحرة مثل مثبطات تفاعل فنتون (Fenton reaction) inhibitors وعوامل قانصة للجذور الحرة مثل فيتامين E

تمثل مضادات الأكسدة صنفا من المركبات الكيميائية واسعة الانتشار في الطبيعة التي تمتلك اليات عمل متنوعة , و لعل أكثر هذه الآليات أهمية هي تفاعلها مع الجذور الحرة وتكوين نواتج مستقرة وغير فعالة (2) .

وتعد الفينولات مضادات أكسدة جيدة تؤدي دورا مهما في الحماية من الاثار السلبية للجذور الحرة (3) . وتعرف المركبات الفينولية بانها مركبات فعالة ذات اوزان جزيئية منخفضة حاوية على حلقة اروماتية تحمل واحد او اكثر من مجاميع الهايدرو كسيل (4) .

يصنف حامض الكاليك (gallic acid) ضمن المركبات الفينولية وله استعمالات عديدة في حقول مختلفة منها دخوله في صناعة المادة المضادة للاكسدة (propyl gallate) وصناعة المضاد الحيوي Trimethoprim وصناعة الجلود (5) .

ونظرا لما تمتلكه مضادات الاكسدة من اهمية كبيرة فقد هدفت هذة الدراسة الى استخلاص المركبات الفينولية من بعض النباتات المحلية و تحديد محتواها من حامض الكاليك

ومن ثم التحري عن مضادات الاكسدة في هذه المستخلصات .

المواد و طرائق العمل

النباتات المستخدمة في هذه الدراسة :

جدول (1) : النباتات المستخدمة في هذه الدراسة

ت	الاسم المحلي للنبات	الاسم العلمي و العائلة	الجزء المستخدم من النبات	مصدر الحصول على النبات
1	تفاح	*Pyrus malus* Linn.(Rosaceae)	اوراق	بساتين ناحية الحسينية/كربلاء
2	جوز	*Juglans regia* Linn.(Juglandaceae)	اوراق	حدائق مدينة السليمانية
3	نبق	*Zizyphus jujubae* Lam.(Rhamnaceae)	اوراق	حديقة منزلية/كربلاء
4	طرفة	*Tamarix mannifera* Ehrenb.(Tamaricaceae)	اوراق	بساتين ناحية الحسينية/كربلاء
5	دفلة	*Neriun oleander* Linn.(Abocynaceae)	اوراق	حديقة منزلية/كربلاء
6	رمان	*Punica granatun* Linn.(Punicaceae)	قشور	السوق المحلية/كربلاء

تهيئة النماذج :
جففت النماذج المستخدمة في الدراسة عند درجة حرارة الغرفة ثم سحقت باستخدام الخلاط الكهربائي باستثناء قشور الرمان التي سحقت باستخدام الهاون اليدوي و لغاية الحصول على مسحوق ناعم .

استخلاص المواد الفينولية :
استخدمت طريقتان لاستخلاص المواد الفينولية هما :
1- الاستخلاص بالماء المقطر المغلي (6)
2- الاستخلاص بالكحول (ميثانول 50 %) (7)

تقدير محتوى الفينولات الكلية:
قدرت الفينولات الكلية (Total phenols) في المستخلصات النباتية (8) مع بعض التحوير وذلك بقراءة الامتصاص على طول موجي 600 نانوميتر بدلا من 750 نانوميتر.

تقدير حامض الكاليك:
قدرت كمية حامض الكاليك وفق الطريقة الموصوفة (1).

تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:
قدرت الفعالية المضادة للأكسدة في المستخلصات النباتية باستخدام الجذر الحر [ABTS] (3 Ethylbenzo Thiazoline 6 - Sulfonic acid) - azinobis – 2,2بتركيز7 ملي مولر الذي يعطي امتصاصية مقدارها (0.02 ± 0.7) عند الطول الموجي 734 نانوميتر(9)، و باستخدام تراكيز مختلفة من كل مستخلص نباتي و حددت الفعالية المضادة للأكسدة باستخدام تركيز المستخلص الذي له القابلية على كسح الجذر ((radical scavenging) أو اختزال أو تثبيط امتصاصيته الى النصف (IC_{50}) و تم حساب نسبة التثبيط حسب المعادلة الآتية:

$$PI (\%) = [1- (At / Ar)] \times 100$$

حيث ان :
At= امتصاص النموذج
Ar= امتصاص المادة المرجعية (الجذر الحر).

النتائج و المناقشة

1-المحتوى الفينولي و حامض الكاليك:

يتضح من الجدول (2) عدم وجود فروقات واضحة في المحتوى الفينولي بين طريقتي الاستخلاص المستخدمتين في هذه الدراسة .كما يتضح أيضا أن المحتوى الفينولي للمستخلصات النباتية ينحصر بين (1.46 – 5.185) ملغم/مل للمستخلصات الميثانولية و(0.837-5.185) ملغم/مل للمستخلصات المائية . ان كفاءة استخلاص المواد الفينولية يعتمد على نوع المذيب المستخدم و نوع الفينول المراد عزله، و أن الاختلاف في المحتوى الفينولي بين النباتات المدروسة يتفق مع ما ورد في دراسات سابقة ففي دراسة شملت ثمانية مستخلصات نباتية تبين أن المحتوى الفينولي يتراوح بين (6.8 – 32.1) ملغم/غم مادة جافة (10) و يمكن أن يعزى الاختلاف في تركيز المواد الفينولية الى الوظائف المختلفة التي تؤديها الفينولات ابتداءا من دورها في تحديد القيمة الغذائية و اللون و المذاق و النكهة للمادة النباتية فضلا عن دورها في حماية النبات من التلف الحاصل بفعل الأحياء المجهرية و الحشرات و آكلات الأعشاب (11) .

يتضح أن هناك تفاوتا في كميات حامض الكاليك المتحصل عليها في طريقتي الاستخلاص المستخدمتين في هذه الدراسة ، اذ يلاحظ أن أعلى كمية لهذا الحامض كانت من المستخلص المائي للتفاح و التي بلغت (0.677) ملغم/مل و أوطأ كمية من المستخلص المائي للطرفة و التي بلغت (0.052) ملغم/مل ، في حين تساوت كمية الحامض المستخلصة من النبق في كلا طريقتي الاستخلاص الميثانولية و المائية. ان النتائج المستحصلة من هذه الدراسة لا تتفق مع دراسة أخرى تشير الى الحصول على نتائج متقاربة من تراكيز الأحماض الفينولية باستخدام طرائق استخلاص مختلفة(12).

جدول (2) المحتوى الفينولي وحامض الكاليك لبعض المستخلصات النباتية المحلية

ت	نوع المستخلص النباتي	الفينولات الكلية(ملغم/مل)		حامض الكاليك(ملغم/مل)	
		المستخلص الميثانولي	المستخلص المائي	المستخلص الميثانولي	المستخلص المائي
1	تفاح	0.01 ± 2.22	0.01 ± 1.77	0.004±0.554	0.006±0.677
2	جوز	0.05± 2.644	0.00± 2.326	0.001±0.300	0.001±0.148
3	نبق	0.81 ± 1.90	0.06±1.91	0.001±0.150	0.002±0.148
4	طرفة	0.06 ± 3.08	0.06±0.837	0.01±0.163	0.004±0.052
5	دفلة	0.01 ± 1.46	0.04±1.78	0.003±0.076	0.003±0.069
6	رمان	0.06± 5.185	0.42±5.185	0.002±0.423	0.001±0.604

الرموز : ± : تعني الانحراف القياسي

2-الفعالية المضادة للأكسدة:

يتضح من النتائج المبينة في الأشكال (1- 6) أن المستخلصات الميثانولية للنباتات قيد الدراسة أبدت فعالية مضادة للأكسدة أقوى من المستخلصات المائية ، اذ تطلبت المستخلصات الميثانولية تراكيز أقل للوصول الى IC_{50} حيث تراوحت تلك التراكيز بين (0.1-3) ملغم/مل بينما تراوحت بين (0.5-10) ملغم/مل للمستخلصات المائية .

كما يتضح من النتائج أن المستخلص الميثانولي للرمان قد أبدى أعلى فعالية مضادة للأكسدة من بين المستخلصات المدروسة اذ كانت IC_{50} عند التركيز 0.1 ملغم/مل (الشكل 6) بينما أبدت المستخلصات المائية للجوز والدفلة أضعف فعالية مضادة للأكسدة اذ كانت IC_{50} عند التركيز 10 ملغم/مل (الشكلين 2 و 5) .

ان تفوق المستخلص الميثانولي للرمان في فعاليته المضادة للأكسدة يعود الى احتوائه على كمية كبيرة من التانينات (13) التي هي مواد فينولية و يمكن أن تعمل كمضادات للأكسدة (1) .

ان الفعالية المضادة للأكسدة يمكن أن تعزى الى وجود المواد الفينولية التي تتميز بخصائصها الأخمادية (redox properties) و بالتالي تعد أما عوامل مختزلة أو مانحة للهيدروجين و كذلك قابليتها على اخماد الجذور الحرة (14) .

و لغرض تحديد ما اذا كانت هناك علاقة بين المحتوى الفينولي في المستخلص و الفعالية المضادة للأكسدة يتضح من النتائج عدم وجود أية علاقة و تتفق هذه النتائج مع ما ذكره ,(15) في حين لا تتفق مع ما وجده (7) الذي أشار الى وجود علاقة بين زيادة المحتوى من المواد الفينولية و ارتفاع الفعالية المضادة للأكسدة و ذلك في دراسة شملت 14ضربا من نوى التمر .

References

1- Hagerman, A. E. (2002)."Tannin Hand bock". Miami University. U.S.A.

2- Pokorny, J. and Korczak, J.(2001). Preparation of natural antioxidant In: Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M.,editors. Antioxidants in food: Practical application. Cambridge England: Wood head publishing Limited. P 41 – 311.

3- Methew, S. and Abraham, T. E.(2006). *In vitro* antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamonum verum* leaf extract assayed by different methodlogical. Food Chem. Toxical., 44: 198 – 209.

4- Jogan-Roy, J.; Emilia-Abroham, T. ; Abhijith, K. S. ;Sayjith Kumar, P. V. and Thakur, M.S. (2005). Biosensor for the determination of phenols , based on cross – linked enzyme crystals (CIEC) of lacose. Bioelectronic , 1: 206 – 211.

5- Parathaman, R. ; Vidyalakshmi, R. ; Indhumathi, J. and Singaradivel, K. (2009). Biosynthesis of tannase and simultaneous determination of phenolic compounds in *Aspergillus niger* fermented paddy straw by HPLC. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry 4 (2) : 93-97.

6- Al-Ghanimi, A.A. ; Al-Ethari, A.Y. and Abdulhusain, H. K. (2007). Partial purification of tannins from *Quercus infectoria* galls and the study of its effect on some isolated skin pathogenic microorganisms. Journal of Kerbala University,. 5(4):227-234.

7- Ardekani, M.R.S. ; Khanavi, M. ; Hajimahmodi, M. ; Jahangiri, M. and Hadjiakhoondi, A. (2010). Comparison of antioxidant activity and total phenol contentsof some date seed varieties from Iran. Iranian Journal of pharmaccutical Research. 9 (2) : 141-146.

8- Roudsari, M.H. (2007). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from canola meal. Msc. Thesis, University of Sackatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, Canada.

9- Budsat, P. and Shotipruk, A. (2008). Extraction of phenolic compounds from fruits of Bitter Mellon (*Momordica charantia*) subcritical water extraction and antioxidant activities of these extracts. Chiang Mai. J. Sci. 35 (1) : 123-130.

10- Bajpai, M. ; Pande, A. ; Tewari, S.K. and Prakashm D.(2005). Phenolic contents and antioxidant activity of some food and medicinal plants. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 56 (4): 287-291.

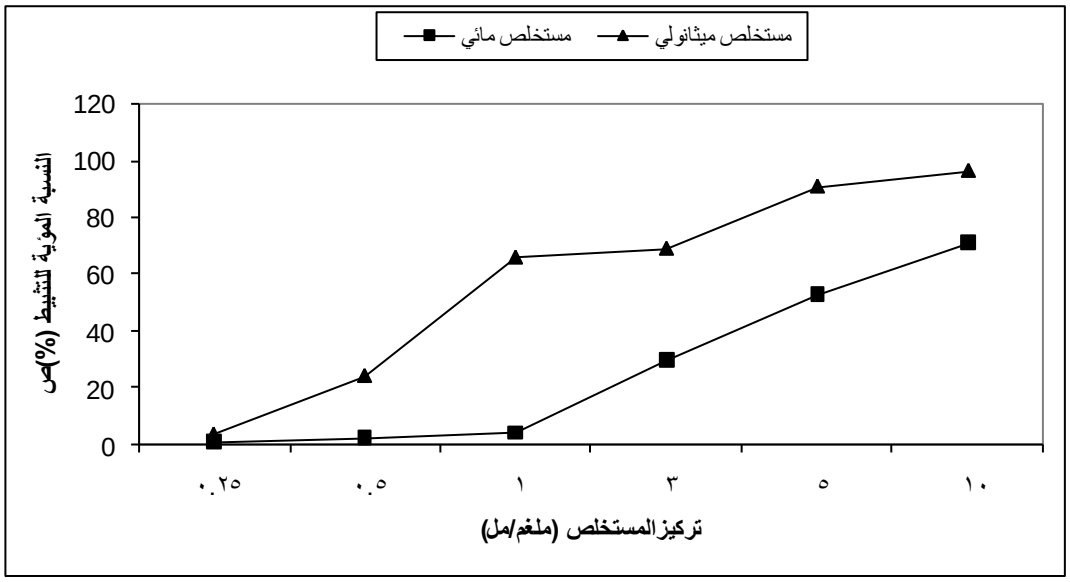
11- Vaya, J. ; Belinky, P.A. and Aviramm M. (1997). Antioxidant constituents from licorice roots : Isolation, Structure elucidation and antioxidative capacity toward LDL oxidation. Free Radical. Biol. Med. , 23(2) : 302-313.

12- Hojnos, M.W. ; Oniszczuk, A.; Szewczy, K. and Wianowska, D.(2007). Effect of sample preparation methods on the HPLC quantitation of some phenolic acids in plant materials. Acta chromatographia no.19. 2007.

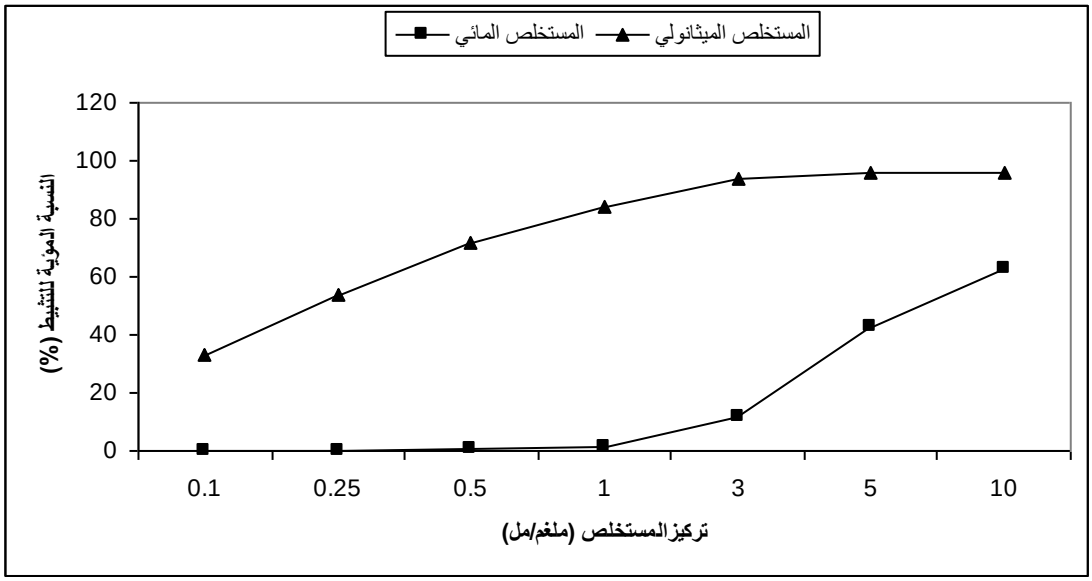
13- Al- Rawi ,A and Chakrabarty ,H.L.(1988).Medical plants of Iraq. Ministry of agriculture &Irrigtion , Water Resources research.Baghdad .

14- Hakkim, F.L. ; Arivazhagan, G.and Boopath, R.(2008). Antioxidant property of selected *Ocimum* species and their secondary metabolite content. J. Med. Plant Res. 2: 250-257.

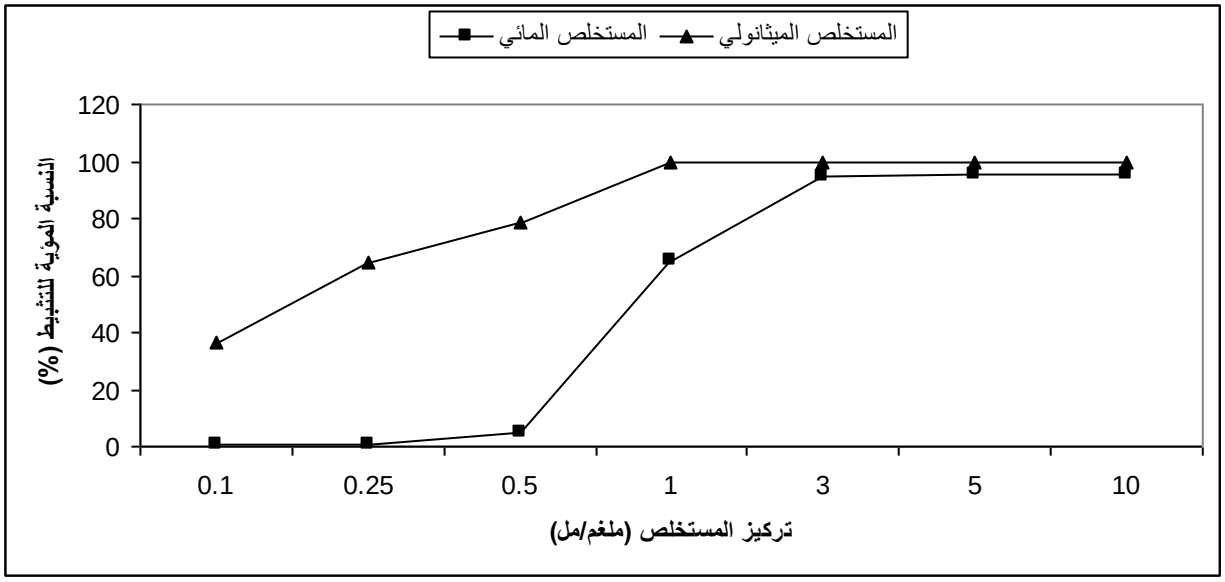
15-Sengul, M.; Yildiz , H. ; Gungor, N. ; Cetin, B. ; Eser, Z. and Ercisli, S.(2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. Pak. J. pharm. Sci. 22 (1):102_106.



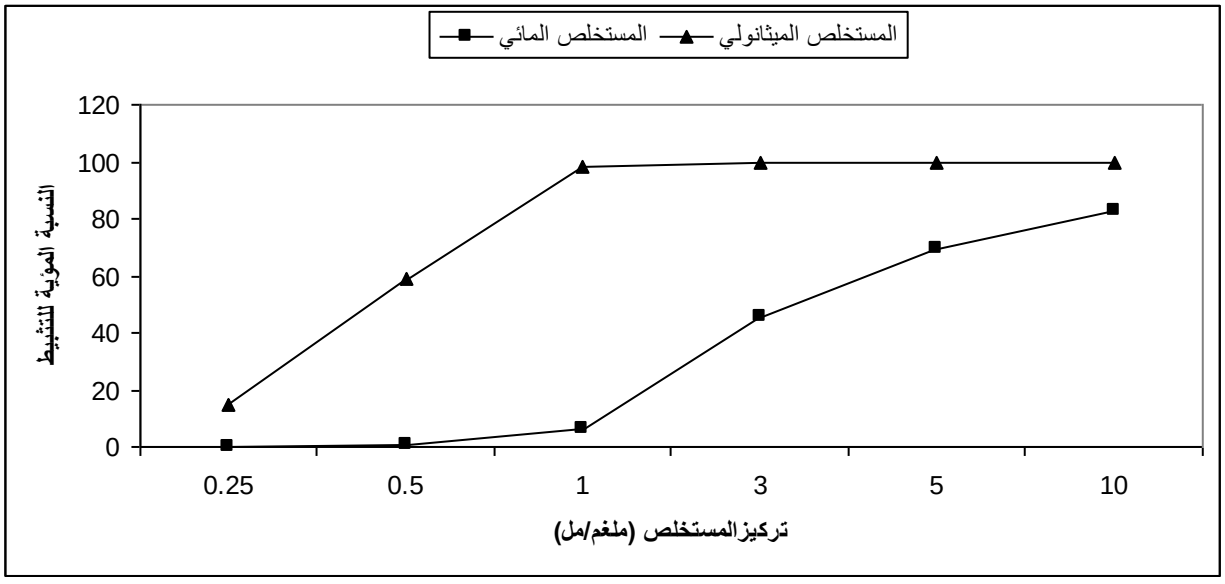
شكل(1): الفعالية المضادة للأكسدة في مستخلص أوراق التفاح



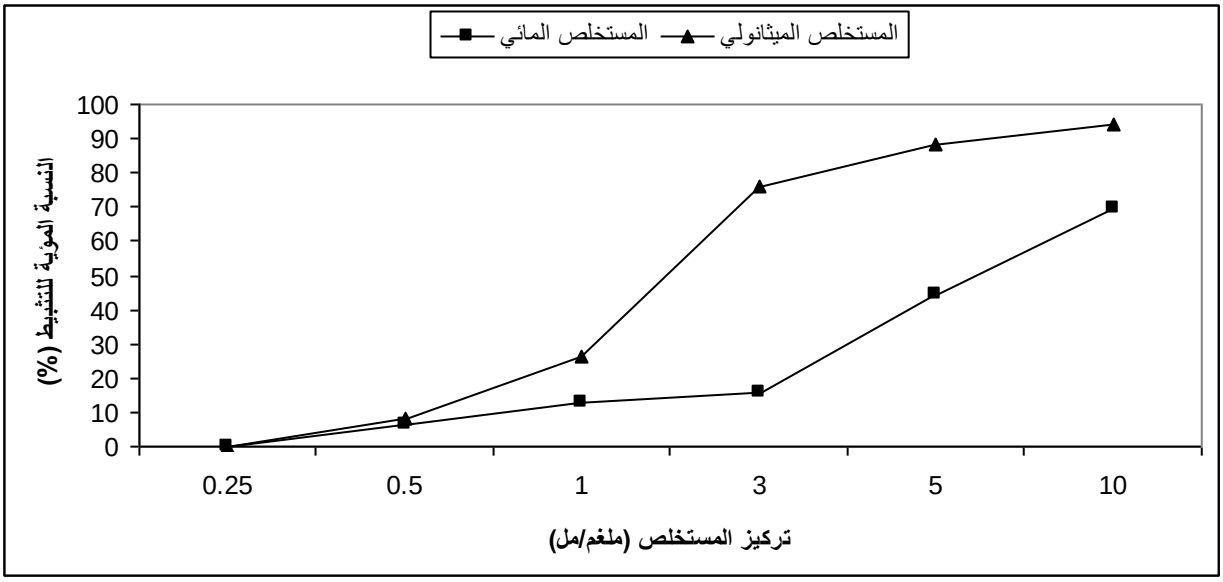
شكل(2): الفعاليةالمضادة للأكسدة في مستخلص أوراق الجوز



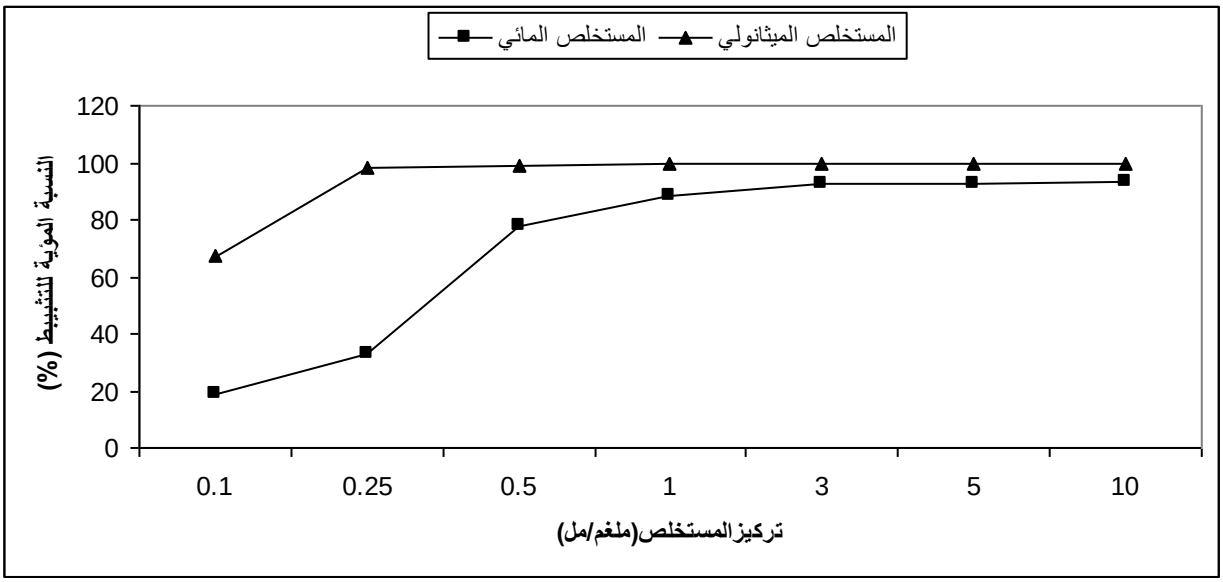
شكل(3): الفعاليةالمضادة للأكسدة في مستخلص أوراق النبق



شكل(4): الفعالية المضادة للأكسدة في مستخلص أوراق الطرفة



شكل (5): الفعالية المضادة للأكسدة في مستخلص أوراق الدفلة



شكل(6): الفعالية المضادة للأكسدة في مستخلص قشور الرمان