مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، العدد (خاص) ، المجلد ، 21 ، 2008

تجزئة وتشخيص نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة*

نزار أحمد شكري علي خضير جابر
قسم علوم الأغذية والتقانات الأحيائية/كلية الزراعة/جامعة البصرة.

الخلاصة

جزأت نواتج تفاعلات ميلارد MRPs للخليطين ارجنين- زايلوز و ارجنين- فركتوز بتقنيات النضح الغشائي ، الاستخلاص في الوسط الصلب-السائل ، الترشيح الهلامي ، كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة ، كما شخصت الاجزاء الفعالة لهذه النواتج بتقنية مطيافية الأشعة تحت الحمراء . اوضحت التجزئة بالنضح الغشائي أن المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض لـ MRPs هي المسؤولة عن الفعالية المضادة للأكسدة بدرجة اكبر من المركبات ذات الوزن الجزيئي العالي، وعند التجزأة بالمذيبات اتضح أن أقصى فعالية تم الحصول عليها عند الاستخلاص بالايثانول المطلق . ونتج عن التجزئة بالترشيح الهلامي أربعة أجزاء رئيسة في كلا الخليطين ، أتضح أن أقصى فعالية تم الحصول عليها هي للجزءين I و II في خليط ارجنين- زايلوز وللجزءين II و III في خليط ارجنين- فركتوز. و بلغ عدد البقع المفصولة بكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة من الأجزاء 5، 6، 4 و3 بقعة على التوالي . اظهرتشخيصMRPs للأجزاء الأربعة بمطيافية الأشعة تحت الحمراء حزمة عريضة من طيف الجزءين I وII تعود إلى مجاميع الهيدروكسيل،بينما وجدت مجموعة الكاربوكسيل في الجزء III ، و ظهرت عدة حزم لطيف الأجزاء الأربعة لوجود المجاميع C – H ، C = N ، C = O .

المقدمة

تستعمل العديد من طرق الكروموتوكرافي لفصل وتجزئة MRPs المضادة للاكسدة لتنقيتها والحصول على الأجزاء ذات الفعالية العالية الممكن استعمالها بتراكيز قليلة جدا . استطاع [4] من الحصول على ثلاثة أجزاء رئيسة (III, II, I) عند تجزئة خليط تفاعل فركتوز- تربتوفان على عمود السيفاديكس LH-60. أتضح أن الفعالية المضادة للأكسدة تركزت في الجزئين (II و III) .

وفي دراسة لاحقة قام [5] بأجراء تنقية أضافية وعزل للمركب المضاد للأكسدة والموجودة في الجزء II-6 باستخدام تقنية HPLC ، تم الحصول على قمة كبيرة وحادة في هذا الجزء . جمعت هذه القمة وركزت وتم إعادة فصلها بتقنية TLC لكشف نقاوتها ، نتيجةً لذلك تم الحصول على بقعة واحدة طابقت البقعة التي أظهرت التأثير المضاد للأكسدة. قام [3] بتجزئة الميلانويدينات (المتحصل عليها من إحداث تفاعلات ميلارد عند تحميص القهوة بدرجات حرارة مختلفة) بتقنية الترشيح الهلامي على عمود السيفاديكس G-25 وأمكن الحصول على أربعة أجزاء رئيسة(IV,III,II,I,). أظهرت جميع الأجزاء فعالية عالية مضادة للأكسدة، إلا إن الجزء (I) اظهر فعالية أعلى من بقية الأجزاء لذا درست الخواص المتعلقة بالفعالية المضادة للأكسدة لهذا الجزء ومنها قابلية أقتناص الجذر الحر DPPH وقدرته لتثبيط تكوين بيروكسيدات حامض اللينوليك. لوحظ أن قابلية المركبات في الجزء (I) لتثبيط تكوين البيروكسيدات قد ازدادت وبزيادة درجة تحميص القهوة، إلا إن قابلية الاقتناص لم تتغير كثيراً بتغير درجة التحميص. درس[12] الخواص المضادة للأكسدة لـــ MRPs المتكونة في الشعير المحمص ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن عمليات التحميص قداً سهمت في تكوين مركبات ذات أوزان جزئية عالية.هدفت هذه الدراسة لتجزئة وتشخيص MRPs المضادة للأكسدة بأستعمال تقنيات النضح الغشائي،الاستخلاص في الوسط الصلب–السائل ،الترشيح الهلامي، كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة، مطيافية الأشعة تحت الحمراء.

المواد وطرائق العمل

التجزئة بتقنية النضح الغشائي:استخدمت الطريقة التي ذكرها [10] لتجزئة MRPs بتنقية النضح الغشائي وقدرت الفعالية المضادة للأكسدة للاجزاء لالمديلزة وغير المديلزة حسب الطريقة الموصوفة من قبل [2] وكذلك قدر التلون البني للمادة الاصلية وللاجزاء المحتجزة في اكياس النضح الغشائي وللاجزاء الخارجة من اكياس النضح الغشائي حسب الطريقة الموصوفة من قبل [17] .

التجزئة في الوسط الصلب– السائل: اتبعت الطريقة التي وجدها [2] لفصل نواتج تفاعلات ميـــلارد فـــي الوســـط الصلب –السائل باستخدام المذيبات: الميثانول، الايثانول المطلق، 2– بروبانول، خلات الاثيل ،اذ اضيف 20مل من هذه المذيبات إلى 0.5غم من نواتج تفاعلات ميلاردالمجفدة والمحضرة سابقا" . رجت المحاليل الناتجة ثم رشحت وجفد الراشح و قيست الفعالية المضادة للأكسدة للأجزاء المستخلصة بالمذيبات المختلفة وللخليط الخام بطريقة قابلية اقتناص الجذر الحر

DPPH الموصوفة من قبل [7] ، وكذلك قدر التلون البني للمادة الأصلية وللأجزاء المستخلصة حسب الطريقة الموصوفة من قبل [17] .

التجزئة بالترشيح الهلامي: اتبعت الطريقة التي وصفها [5] لفصل MRPs بتقنية الترشيح الهلامي (Gel Filtration) باستخدم سيفادكس Sephadex G-25 (Fine) والايثانول المطلق(ethanol absolute) كمحلول دارىء. أذيب 100ملغم من MRPs المجففة في 5 مل من المحلول الدارىء.وحقنت الى قمة عمود الفصل، ثم أضيف المحلول الدارئ (محلول الغسل) بمعدل جريان 0.6مل/دقيقة، جمع 70–75 أنبوبة وبمقدار 3مل/أنبوبة ثم قرأت الامتصاصية لهذه الأنابيب عند الطولين الموجيين 280 و 420 نانوميتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي. أجريت الاختبارات الآتية لكل جزء من الأجزاء المجففة: الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك بطريقة ثايوسيانات الحديديك بطريقة [2] قياس اللون البني حسب طريقة [17]، قابلية ربط ايون الحديديك الموصوفة من قبل، قابلية اقتناص الجذر الحرDPPH الموصوفة من قبل [7].

الفصل بكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة: استخدمت الطريقة التي ذكرها [5] لفصل MRPs (المجزئة بتقنية الترشيح الهلامي) باستخدام تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة(TLC) اذ حضرت النماذج المطلوب فصلها المتمثلة بنواتج تفاعلات ميلارد المجففة بتركيز 0.02% وذلك بإذابة 2ملغم من كل نموذج في 10 مل من الماء المقطر. استخدمت صفائح من طبقة الكروموتوغرافيا الرقيق لأجراء عملية الفصل . نقط 5 ميكروليتر من النماذج المحضرة سابقاً على مساحة تبعد 2سم من أسفل الصفيحة بعدها وضعت الصفيحة في حوض زجاجي يحتوي على محلول الفصل وبارتفاع 2سم. ترك محلول الفصل ليرتفع مسافة 15سم عن نقطة البداية ثم رفعت الصفيحة وجففت في هواء ساخن ، رشت الصفيحة أولاً بكاشف الفانيلين/حامض HCl المحضر سابقاً ثم بخليط كاشف TTC و 2,4-DNP، ثم جففت الصفيحة في الفرن عند درجة حرارة 90مْ لمدة 10 دقائق، قيست قيم Rf للبقع المفصولة وذلك بقسمة المسافة التي قطعها النموذج/المسافة التي قطعها محلول الفصل .

التشخيص بمطيافية الأشعة تحت الحمراء: أجريت عملية التشخيص للأجزاء المتحصل عليها من الفصل بتقنية الترشيح الهلامي والتي امتلكت فعالية مضادة لأكسدة حامض اللينوليك والمقاسة بطريقة ثايوسيانات الحديديك. حضرت النماذج حسب الطريقة التي أوردها [2] وتضمنت خلط النماذج المجففة مع بروميد البوتاسيوم بنسبة (100:1) ثم ضغط الخليط بالمكبس وتحت ضغط عالي مقداره

2500كغم/سم^2 للحصول على قرص صغير قطره 1سم وسمكه (1-2) ملم. وضع النموذج المكبوس في جهاز الأشعة تحت الحمراء وشخصت المجاميع الفعالة في MRPs .

النتائج والمناقشة

التجزئة بتقنية النضح الغشائي: يبين الجدول (1) التغير في اللون البني والفعالية المضادة للأكسدة لـ MRPs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) خلال مراحل تجزئتها بتقنية النضح الغشائي. يتضح من الجدول أن اللون البني في الجزء المتبقي داخل أغشية النضح الغشائي انخفض بتقدم مراحل التجزئة لكلا الخليطين، وقد رافق هذا الانخفاض زيادة في اللون البني للجزء المديلز الخارج من أغشية النضح الغشائي. وقد توافق هذا التغير في اللون البني مع التغير الحاصل في الفعالية المضادة للأكسدة في الجزء المحتجز والمديلز لكلا الخليطين وبتقدم مراحل التجزئة، إذ انخفضت الفعالية المضادة للأكسدة في الجزء المحتجز وازدادت في الجزء المديلز.تتفق النتائج اعلاه مع [4] عند تجزئة MRPs (فركتوز-تربتوفان + تربتوفان) بتنقية الترشيح الفائق ،اذ لوحظ ان معظم التأثير المضاد للأكسدة تركز في الجزء ذات الوزن الجزيئي الواطىء وان 90% من الصبغات البنية قد احتجزت في الجزء ذات الوزن الجزيئي العالي.

الجدول (1): التغير في اللون البني والفعالية المضادة للأكسدة لـ MRPs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) خلال مراحل تجزئتها بتقنية النضح الغشائي

مدة الديلزة (ساعة)	خليط (ارجنين- زايلوز)				خليط (ارجنين- فركتوز)			
	الجزء المحتجز		الجزء المديلز		الجزء المحتجز		الجزء المديلز	
	التغير اللوني	الفعالية المضادة للأكسدة (%)	التغير اللوني	الفعالية المضادة للأكسدة (%)	التغير اللوني	الفعالية المضادة للأكسدة (%)	التغير اللوني	الفعالية المضادة للأكسدة (%)
12	0.362	38	0.155	48	0.195	37	0.122	52
24	0.353	30	0.160	55	0.193	30	0.125	58
36	0.342	27	0.165	57	0.188	25	0.130	62
48	0.335	23	0.175	61	0.180	19	0.137	68
60	0.315	19	0.190	64	0.170	13	0.145	74
الخليط الخام	اللون البني (0.260)				اللون البني (0.160)			
(قبل الديلزة)	الفعالية المادة للأكسدة (43.6%)				الفعالية المادة للأكسدة (45.7%)			

* يمثل التغير اللوني قيم الامتصاصية عند الطول الموجي 420 نانوميتر

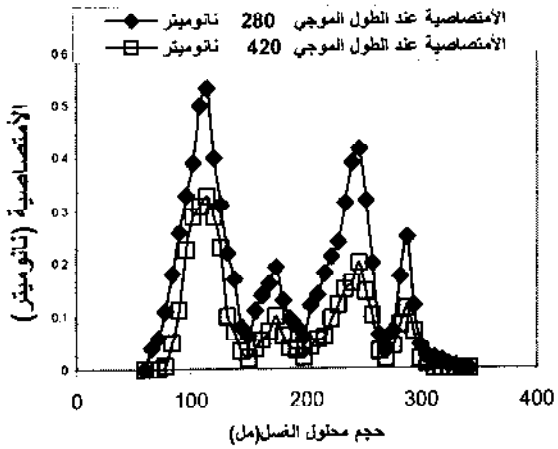
التجزئة في الوسط الصلب- السائل: يوضح الجدول (2) تأثير استخلاص MRPs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) بواسطة مذيبات مختلفة على الفعالية المضادة للأكسدة واللون البني. يتضح من الجدول أن جميع النماذج المستخلصة بالمذيبات أظهرت فعالية مضادة للأكسدة لكلا الخليطين، ألا أن أقصى فعالية تم الحصول عليها عند الاستخلاص بالايثانول المطلق مقارنة بالخليط الخام وبقية المذيبات ، وهي أعلى من الفعالية التي تم الحصول عليها عند تجزئة هذه النواتج بواسطة النضح الغشائي ولجميع مدد التجزئة. كما يتضح من الجدول (2) أن الفعالية المضادة للأكسدة لـ MRPs المستخلصة من خليط (ارجنين- فركتوز) بالمذيبات المختلفة أعلى مقارنة بخليط (ارجنين- زايلوز) باستثناء الاستخلاص بالميثانول. تتفق هذه النتائج مع [2] عند استخلاصهم MRPs لخليط (هستدين- كلوكوز)، ألا أن قيم الفعالية اقل مما توصلت إليه هذه الدراسة نتيجة لاختلاف نوع خليط تفاعل ميلارد واختلاف طريقة تقدير الفعالية المضادة للأكسدة.

أن التغيرات اللونية عند الاستخلاص بالمذيبات المختلفة لم تتوافق مع قيم الفعالية المضادة للأكسدة، إذ أن أقصى لون بني تم الحصول عليه هو عند الاستخلاص بالميثانول ، في حين أن أقصى فعالية مضادة للأكسدة تم الحصول عليها هي عند الاستخلاص بالايثانول المطلق، مما يدل على أن بعض المركبات المسؤولة عن الفعالية المضادة للأكسدة غير ملونة وليس لها علاقة بالصبغات البنية المتكونة أثناء تفاعل ميلارد والتي استخلصت بالمذيبات المختلفة.

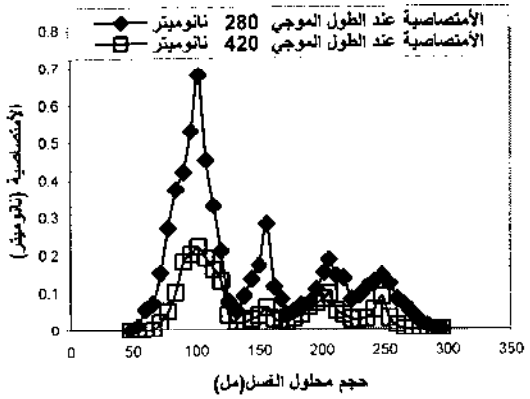
الجدول (2): تأثير استخلاص MRPs بالمذيبات المختلفة على الفعالية المضادة للأكسدة واللون البني مقارنة بالخليط الخام

مذيبات الاستخلاص	خليط (ارجنين- زايلوز)		خليط (ارجنين- فركتوز)	
	الفعالية المضادة للأكسدة(%)	اللون البني	الفعالية المضادة للأكسدة(%)	اللون البني
الخليط الخام	43.6	0.260	45.7	0.160
الميثانول	36.2	0.327	33.0	0.312
الايثانول المطلق	74.5	0.202	78.6	0.112
2-بروبانول	27.6	0.322	29.5	0.192
خلات الأثيل	7.7	0.120	7.9	0.060

التجزئة بالترشيح الهلامي: يبين الشكلان (1 و2) نتائج تجزئة MRPs المضادة للأكسدة للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) بتقنية الترشيح الهلامي على التوالي. أتضح من الشكلين ظهور أربع أجزاء رئيسة في كلا الخليطين. تم الحصول على هذه الأجزاء عند قياس الامتصاصية لمحلول الغسل عند الطول الموجي 280 نانوميتر، وقد رافقها أربعة أجزاء رئيسة أيضا عند قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 420 نانوميتر في كلا الخليطين وهي تمثل الصبغات البنية المتكونة عند تحضير MRPs ، مما يدل على احتواء الأجزاء المفصولة والمقاسة عند الطول الموجي 280 نانوميتر على الميلانويدنات المتنوعة الوزن الجزيئي وهي النواتج النهائية لتفاعلات ميلارد.



الشكل (1) : تجزأة نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة لخليط (ارجنين- زايلوز) بتقنية الترشيح الهلامي



الشكل (2): تجزأة نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة لخليط (ارجنين- فركتوز) بتقنية الترشيح

يوضح الجدول (3) قيم الامتصاصية للأجزاء المتحصل عليها عند تجزئة MRPs بتقنية الترشيح الهلامي للخليطين. أتضح من الجدول أن الصبغات البنية تركزت في الجزء (I) ، في حين احتوت بقية الأجزاء على تركيز اقل من الصبغات البنية، إضافة لاحتواء جميع الأجزاء في كلا الخليطين على مركبات ذات فعالية مضادة للأكسدة غير ملونة وليس لها علاقة بالمركبات الميلانويدينية.كما أتضح أن أقصى فعالية تم الحصول عليها هي للجزئين I و II في خليط ارجنين-

زايلوز وللجزأين II و III في خليط ارجنين- فركتوز وبلغت مقارنة بالخليط الخام والأجزاء المتحصل عليها من التجزئة. يتضح من الجدول أن الجزءين اظهرا أعلى فعالية في خليط ارجنين- زايلوز احتوت على تركيز أعلى من الصبغات البنية. مما يدل على ان هذه الصبغات هي المسؤولة عن الفعالية المضادة للأكسدة في كلا الجزئين.على النقيض من ذلك في خليط ارجنين- فركتوز فقد احتوى الجزءان اللذان اظهرا اقصى فعالية مضادة للأكسدة على ادنى تركيز للصبغات البنية، وهذا يتفق مع [4]عند تجزئة خليط تفاعل فركتوز- تربتوفان أما الجزء (III) في خليط ارجنين- زايلوز لم يظهر أية فعالية مضادة للأكسدة على الرغم من احتوائه على تركيز عال من الصبغات وهذا يرجع الى فقدان المركبات المضادة للأكسدة في هذا الجزء لصفة التأثير التعاوني والتي تمتلكها قبل التجزئة [16]، إضافة لاحتمال احتواء هذا الجزء على بعض المركبات المشجعة لحدوث الأكسدة الذاتية [13].

الجدول (3): قيم الامتصاصية والفعالية المضادة للأكسدة للأجزاء المتحصل عليها عند تجزئة MRPs في الخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) بتقنية الترشيح الهلامي

الأجزاء	خليط (ارجنين- زايلوز)		خليط (ارجنين- فركتوز)	
	اللون البني	الفعالية المضادة للأكسدة (%)	اللون البني	الفعالية المضادة للأكسدة (%)
I	0.320	62.7	0.175	35.5
II	0.112	88.6	0.050	93.2
III	0.225	0.00	0.090	86.0
IV	0.087	25.0	0.072	32.0
الخليط الخام	0.260	43.6	0.160	45.7

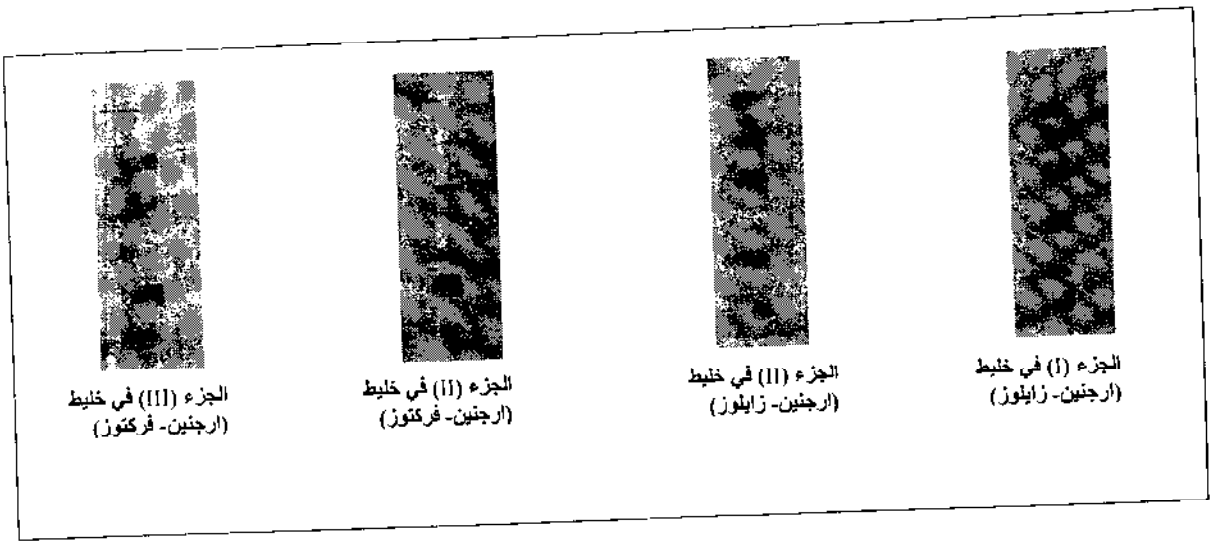
توافقت قابلية الأجزاء لاقتناص الجذر الحر مع فعاليتها المضادة للأكسدة، إذ أظهرت الأجزاء الأربعة (التي امتلكت فعالية مضادة للأكسدة في الاختبار السابق) قابلية عالية لاقتناص الجذر الحر(الجدول4) ، في حين لم يظهر الجزء (III) في خليط ارجنين- زايلوز أية فعالية لاقتناص الجذر الحر، بينما امتلك (IV) في نفس الخليط قابلية اقتناص ضعيفة. كما يتضح من الجدول (4) أن الجزء (I) في خليط ارجنين- زايلوز اظهر قابلية اقتناص أعلى من الجزء (I) في خليط ارجنين- فركتوز ، وهذا يتفـق مع [11] إذ وجدا علاقة خطية بين قابلية اقتناص جذر البيروكسيل وزيادة تركيز الصبغات البنية المعزولة من القهوة والنبيذ. أما فيما يخص

قابلية هذه الأجزاء لربط ايون الحديديك، فقد أظهرت الأجزاء المتحصل عليها من تجزئة خليط (ارجنين- زايلوز) قابلية ربط ضعيفة باستثناء الجزء (I) الذي امتلك أساساً فعالية عالية لإعاقة ألاكسدة ولاقتناص الجذر الحر والمحتوي على معظم الصبغات البنية الموجودة في الخليط الخام مما يدل على أن هذه القابلية ترجع الى وجود هذه الصبغات التي تمثل المركبات الميلانويدينية، أما بالنسبة لخليط ارجنين- فركتوز فقد امتلكت أجزاءه (III, II, I) قابلية ربط عالية لايون الحديديك. وهذا يتفق مع [8]، إذ لاحظو بان الميلانويدنات المحضرة من خليط تفاعل ميلارد (زايلوز- كلايسين) امتلكت قدرة عالية لربط الايونات ومنها ايون الحديديك.

الجدول (4): الفعالية الكيميائية للأجزاء المتحصل عليها عند تجزئة الخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) بتقنية الترشيح الهلامي

الأجزاء	خليط (ارجنين- زايلوز)		خليط (ارجنين- فركتوز)	
	فعالية اقتناص الجذر الحر (%)	قابلية ربط ايون الحديديك(ملغم/مل)	فعالية اقتناص الجذر الحر (%)	قابلية ربط ايون الحديديك(ملغم/مل)
I	60.4	2.15	30.7	4.55
II	75.0	0.76	89.8	4.11
III	0.00	1.25	85.1	3.86
IV	25.5	0.39	27.0	1.10
الخليط الخام	37.2	1.12	47.8	3.75

الفصل بكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة: يوضح الشكل (3) نتائج الفصل بكروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة للأجزاء الأربعة المتحصل عليها من التجزئة بتقنية الترشيح الهلامي والتي أظهرت أقصى فعالية الأكسدة وهي الجزءان I و II لخليط (ارجنين- زايلوز) والجزءين II و III لخليط (ارجنين- فركتوز)، اتضح أن البقع المفصولة كانت موجبة لجميع مواد الرش المستخدمة مما يدل على احتوائها على المركبات المضادة للأكسدة والمركبات الفينولية التي ترجع إليها جزءً من الفعالية المضادة للأكسدة. وهذا يتفق مع [4] عند فصله للأجزاء المتحصل عليها من تجزئة خليط (فركتوز- تربتوفان) بتقنية الترشيح الهلامي.



الشكل (27) : كروموتوكرافيا الطبقة الرقيقة للأجزاء المتحصل عليها من التجزأة بتقنية الترشيح الهلامي

التشخيص بمطيافية الأشعة تحت الحمراء: يبين الجدول (5) نتائج تشخيص المجاميع الفعالة للأجزاء الأربعة المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي والتي أظهرت فعالية مضادة للأكسدة باسلوب طيف الأشعة تحت الحمراء. واستناداً لما ذكره [14] لوحظت حزمة عريضة من طيف الجزءين (I و II) عند العدد ألموجي ($3400cm^{-1}$) والتي تعود الى مجاميع الهيدروكسيل في المركب (5-hydroxymethyl-2-furfural) والذي ترجع إليه جزء من الفعالية المضادة للأكسدة في المركبات الميلانويدنية المتكونة عند حصول تفاعلات ميلارد [9]. في حين لوحظت حزمة صغيرة في طيف الأشعة تحت الحمراء للجزء (II) عند العدد الموجي $3450cm^{-1}$ والتي تعود إلى مجموعة الهيدروكسيل، بينما وجدت مجموعة الكاربوكسيل من الجزء (III) عند العدد ألموجي $3450cm^{-1}$ وتعود وجود المركب (Arginyl-fructose) المتكون بشكل سلسلة كبيرة أثناء البلمرة الحاصلة بين الحامض الاميني والسكر [15].أما بالنسبة لمجموعة الأمين في الجزءين (I و II) لخليط ارجنين- زايلوز فلم تلاحظ حزم واضحة واغلبها كانت متداخلة مع مجموعة (OH) ، وبالمقابل فقد ظهرت حزمتان في كل جزء من الجزءين المفصولين من خليط ارجنين- فركتوز تعود لمجموعة الأمين والتي ترجع الى dialkyl-dihydro pyrazines ذات الفعالية المضادة للأكسدة القوية [9]. كما يلاحظ ظهور عدة حزم لطيف الأجزاء الأربعة نتيجة لوجود

المجاميع C – H ، C = N ، C = O والعائدة للمركبات المتكونة عند تفاعل الارجنين مع السكريات [6].

الجدول (12): أهم الحزم الامتصاصية الظاهرة في طيف الأشعة تحت الحمراء للأجزاء المفصولة بتقنية الترشيح الهلامي والمجاميع الامتصاصية المميزة لها

الأجزاء	الاهتزاز ا الإنساعي للآصرة C-H (cm^{-1}) في	الاهتزاز الإنساعي للآصـــرة C-H C = C-H (cm^{-1})	الاهتزاز الانحنائي للآصرة C-H C=C-H (cm^{-1})	الاهتزاز الإنساعـــي للآصرة C = N (cm^{-1}) أو C = O	الاهتزاز الإنساعي للآصرة C = C (cm^{-1})	الاهتزاز الانحنائي للآصرة C-H الإنفتابية (cm^{-1})	الاهتزاز الإنساعي ل C-H الإنفتابية (cm^{-1})	الاهتزاز الإنساعي لمجموعة (-NH) (cm^{-1})	الاهتزاز الإنساعي لمجموعة (OH) (cm^{-1})	الاهتزاز الإنساعي للآصرة C – O (cm^{-1})
(I) في خليط ين-زايلوز	1725	3075	800	1690	1625	1475	2950 2900 2880	غير واضحة ومتداخلة مع حزمة مجموعة (OH)	3400	1090
في خليط ين-زايلوز	2725	3040	800	1725	1600	1475	2950 2925 2880	غير واضحة ومتداخلة مع حزمة مجموعة (OH)	3400	1075
في خليط ين-فركتوز	–	3050	840	1760	1625	1475	2975 2925 2880	ظهور حزمتين NH_2 3075 و 3100	3450	1050
(I) في خليط نين-فركتوز	–	3050	800	توجد عدة حزم غير واضحة	1625	1500	2975 2925 2880	–	توجد مجموعة كاربوكسيل حيث تظهر هذه المجموعة حزمة عريضة (2500-3000)	1050

المصادر

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

2-Bersuder, P. & Hole, M. (2004). The isolation & characterization of potential antioxidants from a heated histidine-glucose model system. J. Am. Oil. Soc., 8 (1): 11-19.

3-Borrelli, R. C.; Visconti, A.; Mennella, C.; Anese, M. & Fogliano, V. (2002). Chemical characterization & antioxidant properties of coffee melanoidins. J. Agric. Food Chem., 50: 6527-6533.

3-Chiu, W. K.; Tanaka, M.; Nagashima, Y.; Ishizaki, S. & Taguchi, T. (1993a). Study on an antioxidative compound in the Maillard reaction products prepared from fructose-tryptophan & tryptophan. J. Tokyo Univ. Fish., 80 (2): 173-178.

4-Chiu, W. K.; Tanaka, M.; Nagashima, Y. & Taguchi , T. (1993 b). Separation & fractionation of the antioxidative Maillard reaction products prepared from fructose-tryptophan & tryptophan . J. Tokyo Univ. Fish., 80 (2): 31-38.

5-Friedman, M. (1996). Food browning & its prevention: An overview. J. Agric. Food Chem., 44: 631-653.

6-Jing, H. & Kitts, D. D. (2002). Chemical & biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products. Food & Chemical Toxicology , 40 (7):1005-10015.

7-Kajimoto, G. , Yoshida, H. & Takamori , Y. (1975). Reaction between the browning reaction products from glycine , reducing sugars & metals .Yukagaku , 24:15-21.

8-Lee, K. G. & Shibamoto, T. (2002). Toxicology & antioxidant activities of non-enzymatic browning reactions products:A Review. Food Reviews International, 18 (2): 151-175.

9-Lingnert, H. & Waller, G. R. (1983). Stability of antioxidants formed from histidine & glucose by the Maillard reaction. J. Agric. Food Chem., 31: 27-30.

10-Morales, F. J. & Perez, S. J. (2004). Peroxyl radical scavenging activity of melanoidins in aqueous systems. Europ. Food. Res. Technol., 218 (6): 515-520.

11-Papetti, A.; Daglia, M.; Berte, F.; Gregotti, C. & Gazzani, G. (2003). Antioxidant activity of roasted barley high molecular weight compounds. J. Agric. Food. Chem.., 51: 7866-7871.

12-Rivera, J. U.; Ocana, A. N. & Lopez, M. A. (2005). Mexican lime peel: comparative study on contents of dietary fiber & associated antioxidant activity. Food. Chem.., 89: 57-61.

13-Silverstein, R. M., Bassler, G. C. & Morril, T. C. (1981). Spectrometric identification of organic compounds. 4th ed. John Wiley & Sons. Inc., USA.

14-Suzuki, Y.; Choi, K. J.; Uchido, K. Ko, S. R.; Sohn, H. J. & Park, J. D. (2004). Arginyl – fructosyl - glucose & arginyl - fructose compounds related to browning reaction in the model system of steaming & heat-drying processes for the preparation of red Ginseng. J. Ginseng Res., 28 (3): 143-148.

15-Talcott, S. T.; Duncan, C. E.; Pozo-Insfran, D. D. & Gorbet, D. W. (2005). Polyphenolic & antioxidant changes during storage of normal, mid. & high oleic acid peanuts. Food. Chem., 89:77-84.

16-Tanaka, M.; Wen-Kue, C.; Nagashima, Y. & Taguchi, T. (1990b). Development of antioxidative effect during the Maillard reaction between tryptophan & glucose.J. Tokyo Univ. Fish.,77 (1):33-41.

Basrah J. Agric.Sci.,21 (Special issue) 2008

Fractionation and Identification of Antioxidative Maillard Reaction Products

Nazar Ahmeed Shokry **Ali Khudhair Jaber**
Department of Food Science and Biotechnology
College of Agriculture-University of Basrah.

SUMMARY

The Maillard Reaction Products of the mixtures(Arginine – Xylose) and (Arginine – Fructose) were fractionated by Dialysis,Separation by solid–liquid medium ,Gel filtration, Thin layer chromatography and Infrared spectroscopy . fractionation by Dialysis showed that MRPs compounds with low molecular weight were mainly accounted for antioxidative activity . When fractionation accomplished by solid–liquid medium , maximum activity was recovered with absolute ethanol extraction When Gel filtration applied , four main fractions were obtained for the both mixtures . Maximum activities were in fractions (I,II) for MRPs (Arg- Xyl) , and in fractions(II,III) for MRPs (Arg-Fru).).The scavenging of free radical analogue to their thin layer chromatography showed activity was (5,6,4,3)spots antioxidative activity for the above fractions respectively .Identification of MRPs of the four fractions by Infrared spectroscopy showed wide band for fractions (I,II) belong to the hydroxyl group , while carboxyl group also found in fraction (III) .Many bands were obtained for the spectra of the four fractions.These were due to the presence of C–H, C =N, C=O groups.