مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (37) العدد (1) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (37) No. (1) 2015

تحديد سويات المركبات الفينولية وفعاليتها المضادة للأكسدة في بعض العصائر الوظيفية المحلِّيَّة

الدكتورة ديمة الدياب*
نور الأسعد**

(تاريخ الإيداع 29 / 12 / 2014. قُبِل للنشر في 17 / 2 /2015)

□ ملخّص □

تتصف الأغذية الوظيفية بأنها أغذية مشابهة للغذاء التقليدي، غير أنّ لها تأثيرات مفيدة مثبتة علمياً تفوق قيمتها الغذائية الأساسية. وتُعزى هذه التأثيرات إلى وجود مكوّن وظيفي إمّا أن يوجد في الغذاء بحالة طبيعية في غذاء معين، وإما تتم إضافته إلى هذا الغذاء. هناك عدد من المنتجات الوظيفية المتوافرة في السوق العالمية كالعصائر الوظيفية الطبيعية الغنية بالمركبات الفينولية. ويهدف البحث إلى تحديد محتوى بعض العصائر الوظيفية المحلية من المركبات الفينولية وما ينتج عنها من فعالية مضادة للأكسدة باتباع طريقة Folin–Ciocalteu لتحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية فكان عصير التوت الأسود هو الأغنى، بينما كان عصير العنب الأحمر الأقل غنى. كما جرى خلال الدراسة تحديد الشروط المثلى لتخريب حمض الأسكوربيك دون تخريب المركبات الفينولية فكانت الحرارة الأمثل 75°C والزمن الأمثل 30 دقيقة. جرى بعدها تحديد الفعالية المضادة للأكسدة بكاشف potassium ferricyanide حيث كانت العصائر الأغنى بالمركبات الفينولية هي الأكثر فعالية مضادة للأكسدة. واعتماداً على النتائج السابقة تم إيجاد ارتباط قوي بين المحتوى الكلي من المركبات الفينولية والفعالية المضادة للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: الأغذية الوظيفية؛ مضادات الأكسدة؛ المركبات الفينولية.

*مدرِّسة – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية – كلية الصيدلة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
**طالبة دراسات عليا (ماجستير) – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية – كلية الصيدلة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (37) العدد (1) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (37) No. (1) 2015

Determination of Phenolic Compounds Levels and Their Antioxidant Activity in Some Local Functional Juices

Dr. Dima AL-Diab *
Nour Al-As'aad **

(Received 29 / 12 / 2014. Accepted 17 / 2 / 2015)

□ ABSTRACT □

Functional foods are similar to conventional food and demonstrate beneficial effects beyond their nutritional value. These effects are attributed to the presence of functional ingredients. Functional ingredients can either be found naturally in a certain food or added to it. There's a number of functional food products available in the market. For example, natural functional juices containing polyphenols. The aim of this study is to determine total phenolic content and antioxidant activity in some local functional juices. Total phenolic content was determined according to Folin- Ciocalteu method. The highest in content was mulberry juice, while the lowest was red grape juice. The best conditions for eliminating ascorbic acid were also determined which were heating for 30 min at 75°C. Antioxidant activity was subsequently determined using potassium ferricyanide. The highest in phenolic content among the studied juices were the highest in antioxidant activity. Thus a strong correlation was found between total phenolic content and antioxidant activity.

Keywords: Functional food; antioxidants; polyphenols.

* **Assistant professor, Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
** **Postgraduate student, Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدّمة:

يلعب النظام الغذائي دوراً هاماً في الحفاظ على الصحة مما جعل الإنسان أكثر اهتماماً بالأغذية الوظيفية. ونشأ مفهوم الأغذية الوظيفية في اليابان عام 1984 تحت عنوان FOSHU أو الأغذية ذات الاستخدامات الصحية المحددة (*Fo*od for *S*pecified *H*ealth *U*ses)، وتم لاحقاً استخدام تعبير الأغذية الوظيفية. (Siro et al., 2008; Fernandez, 2007; Menrad, 2003). يجب أن يحقق الغذاء عدداً من الشروط كي يُصنَّف على أنه غذاء وظيفي، يجب أن يكون مشابهاً للغذاء التقليدي من حيث المظهر وألا يُقدَّم للمستهلك بشكل دواء كالحبوب أو الكبسولات، كما يجب أن يتم تناوله كجزء من النظام الغذائي العادي، وأن يمتلك تأثيرات إيجابية على صحة الإنسان إضافة إلى قيمته الغذائية، وأن يعطي هذه التأثيرات الإيجابية عند تناول كميات من المتوقع تناولها في النظام الغذائي اليومي، إضافة إلى وجود أدلة علمية تدعم هذه التأثيرات. تتضمن التأثيرات الإيجابية تحسين الحالة الصحية و/أو تخفيض خطورة الإصابة بالمرض وتُعزى إلى وجود مجموعة من المكونات تُعرَف بالمكوّنات الوظيفية الموضحة في الجدول (1) (Alzamora et al., 2005; Eisenbrand, 2004; Roberfroid, 2002).

يمكن للمكوّنات الوظيفية أن توجد بحالة طبيعية في الأغذية وتسمى حينها "أغذية وظيفية داخلية"، مثل الأنثوسيانينات المتوافرة بكثرة في التوتيات berries والمسؤولة عن فوائدها كالوقاية من القرحة والبدانة والسرطان والأمراض القلبية الوعائية وبالمقابل يوجد ما يُدعى بالأغذية الوظيفية الخارجية التي يمكن الحصول عليها بشكل أساسي عبر إضافة مكوّن وظيفي ما إليها، مثل إضافة إسترات الستيرول النباتية التي تُخفِّض الكوليستيرول ودسم الدم إلى المارغارين (Landstrom, 2008; Espin et al., 2007)، كما يمكن الحصول على الأغذية الوظيفية الخارجية عبر إزالة أو إنقاص محتوى الغذاء من أحد مكوناته أو استبدال أحد مكونات هذا الغذاء (European Commission, 2010; Roberfroid, 2002).

تُصنّف الأغذية الوظيفية في أربعة أنواع، أولها الأغذية المُدعَّمة fortified foods وهي منتجات غذائية مُدعَّمة بكميات إضافية من المكوّن الوظيفي الموجود أصلاً فيها، مثل تدعيم منتجات الحبوب بحمض الفوليك، والنوع الثاني هو الأغذية المغناة enriched foods التي تُضاف إليها مكونات وظيفية لا توجد عادة فيها مثل إغناء عصير البرتقال بالكالسيوم، أما النوع الثالث فهو المنتجات المعَدَّلة altered products التي يتم الحصول عليها عبر استبدال مكوّنات يُحتمل أنها ضارة بأخرى أكثر فائدة دون التأثير على نوعية المنتج مثل استخدام بدائل الدسم عالية المحتوى بالألياف الغذائية عوضاً عن دسم الحليب في صناعة المثلجات، والنوع الأخير هو السلع المعزَّزة enhanced commodities التي يتم تعزيز محتواها من المكونات الوظيفية بوسائل طبيعية، مثل البيض الغني بحموض omega-3 الذي يتم إنتاجه عبر تغيير تركيبة الأعلاف المستهلكة من قبل الدجاج (Siro et al.,2008; Spence, 2006).

هناك منتجات عدة من الأغذية الوظيفية المتوافرة في السوق يُذكر منها probiotics وهي أحياء دقيقة حية تضاف إلى منتجات الحليب لعلاج التهاب الأمعاء عند المستهلك ومساعدته على مقاومة العدوى، ومن أمثلتها اللبن المدعّم بالعصيات اللبنية (Fernandez, 2007; Pang et al., 2012; Alzamora et al., 2005) ومنتجات الخبز الوظيفية bakery products مثل الخبز الأبيض المدعّم بالألياف الغذائية. وأيضاً المشروبات الوظيفية functional drinks وهي مجموعة من المشروبات تشترك بكونها خالية من الكحول حيث يمكن لبعضها أن يدعَّم بالفيتامينات C، A وE، ويمكن لبعضها أن يخفِّض الكوليستيرول عبر تدعيمه بـomega-3، بينما يتميز بعضها

الآخر بغناه الطبيعي بالمركبات الفينولية مثل عصائر بعض الفواكه التي تعد من الأغذية الوظيفية الداخلية (Siro et al., 2008).

الجدول 1: أمثلة عن المكونات الوظيفية، وبعض مصادرها وفوائدها المحتملة (Shi et al., 2011; Kiefer et al., 2002)

المركب	المصدر	الفوائد المحتملة
Carotenoids	السبانخ، الذرة، الحمضيات، صفار البيض، البندورة	تساهم في الحفاظ على الرؤية الجيدة، تساهم في الحفاظ على صحة البروستات
Polyphenols	التوت، الكرز، الحمضيات، العنب، الفريز	تدعم الفعالية الخلوية المضادة للأكسدة، تخفض خطورة الإصابة بالسرطان والأمراض القلبية، تساهم في الحفاظ على صحة السبيل البولي،و تملك فعالية مضادة للبكتيريا، وتعزز الوظيفة المناعية
Glucosinolate	الملفوف، القرنبيط	تخفض خطورة الإصابة بالسرطان، وتملك فعالية مضادة للبكتيريا
Phytoestrogens	فول الصويا، والجودار، والكتان	تساهم في الحفاظ على صحة العظام والدماغ والوظيفة المناعية
Plant sterols and stanols	الذرة، والصويا، والقمح	تساهم في تخفيض خطورة الإصابة بالأمراض القلبية التاجية

تنشأ المركبات الفينولية في النباتات من الحمض الأميني فينيل ألانين الذي يعطي حمض السينامك، وعبر سلسلة من التحولات الحيوية يتم الحصول على العديد من أنواع المركبات الفينولية كالحموض الفينولية والكومارينات ومركبات الليغنان والتانينات والستيلبينات والفلافونوئيدات (Vermerris and Nicholson, 2006). جرت دراسة المركبات الفينولية على نطاق واسع لما تتمتع به من فوائد صحية ولمساهمتها في الوقاية من من أمراض عدة متعلقة بالشيخوخة كالسرطان والأمراض القلبية الوعائية والأمراض العصبية التنكسية كداء ألتزهايمر والخرف (Loo et al., 2008; Silva et al., 2007; Kaur and Kapoor, 2001). تعزى التأثيرات المفيدة للمركبات الفينولية إلى خواصها المضادة للأكسدة العائدة لغناها بمجموعات الهيدروكسيل المانحة للهيدروجين حيث تقوم بكنس scavenge الجذور الحرة الضارة بخلايا الجسم (Pang et al. 2012; Cirico and Omaye, 2006).

يتميز النظام الغذائي لبلدان حوض البحر المتوسط بغناه بالأغذية الطبيعية الغنية بالمركبات الفينولية كالفواكه المتنوعة التي تُستهلك مباشرة أو بعد عصرها (Saura-Calixto and Goni, 2006)، ولقد تناولت دراسات عدة الفوائد الصحية لهذه العصائر فعلى سبيل المثال أظهر عصير التوت القدرة على تخفيض الأذية الخلوية التأكسدية (Espin et al., 2007)، بينما أظهر عصير العنب القدرة على تثبيط أكسدة الليبوبروتين منخفض الكثافة LDL (low density lipoprotein) (Da´valos et al., 2005).

في هذه الدراسة تم تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في عدد من العصائر الوظيفية الطبيعية المتوافرة محلياً بطريقة Folin-Ciocalteu، إضافة إلى تحديد الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية عن طريق

قياس القدرة الإرجاعية لهذه المركبات باستخدام كاشف Potassium ferricyanide وذلك بعد تخريب حمض الأسكوربيك للتخلص من تأثيره المضاد للأكسدة، وتم إنجاز هذا البحث في كلية الصيدلة بجامعة تشرين في الفترة الممتدة بين شهر شباط وشهر تشرين الثاني من العام 2014.

أهمية البحث وأهدافه:

أهمية البحث:

إبراز أهمية العصائر الوظيفية الحاوية مركبات فينولية لما تمتاز به من فوائد صحية عديدة فهي تتميز بفعاليتها المضادة للأكسدة، والمضادة للالتهاب والمضادة للجراثيم.

يهدف هذا البحث إلى تحديد محتوى المركبات الفينولية في بعض العصائر الوظيفية المتوافرة محلياً وما ينتج عنها من فعالية مضادة للأكسدة، ومن ثمّ تحديد العصير المَحَلّي الأغنى بهذه المركبات.

طرائق البحث ومواده:

- **المواد والتجهيزات المستخدمة:**

استُخدمت في الدراسة مجموعة من التجهيزات المخبرية المتوافرة في مخابر الكلية والمذكورة في الجدول (2)، كما استُخدمت مجموعة من المواد والمحلات المذكورة في الجدول (3).

الجدول 2: التجهيزات المستخدمة في الدراسة

الجهاز	الطراز
ميزان ذو حساسية 0.0001 g	RADWAG, AS 220/C/2
مقياس الطيف الضوئي Spectrophotometer	Jasco v-530 UV
حمام مائي	K & H Industries
ميكروبيبيت Micropipette	Labkit (Chemelex, S.A., Spain)

الجدول 3: المواد والمحلات المستخدمة في الدراسة

المادة	الشركة	المادة	الشركة
كاشف Folin-Denis	Sigma-Aldrich, Switzerland	كلور الحديد اللامائي	Qualikems, India
كربونات الصوديوم	BDH, England	حمض الخل ثلاثي الكلور (TCA) Trichloroacetic acid	Riedel-De Haen AG, Germany
حمض الغالي Gallic acid	Biotech LTD	فوسفات ثنائية الصوديوم	Merck, Germany
Potassium ferricyanide	M&B May & Baker LTD, England	فوسفات أحادية الصوديوم	Riedel-De Haen AG, Germany

كبريتات الحديدي	BDH, England	بيكربونات الصوديوم	Qualikems, India
2,6-dichlorophenolindophenol Sodium salt Dihydrate (DCPIP)	Fluka, Germany	ماء مقطر حديثاً	-----

- **تحضير المحاليل والكواشف:**

– **محلول كربونات الصوديوم 2%:** ويحضَّر بوزن 1 g من كربونات الصوديوم في بالون معايرة سعة 50 ml وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

– **محلول (DCPIP) 0.001 N:** ويحضَّر بوزن 0.0064 g من DCPIP في بالون معايرة سعة 25 ml و0.0060 g من بيكربونات الصوديوم وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

– **محلول كاشف Potassium ferricyanide 1%:** ويحضَّر بوزن 0.25 g من المسحوق في بالون معايرة سعة 25 ml وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

– **محلول TCA 10%:** ويحضَّر بوزن 2.5 g من **TCA** في بالون معايرة سعة 25 ml وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

– **محلول كلور الحديد 0.1%:** ويحضَّر بوزن 0.01 g من المسحوق في بالون معايرة سعة 10 ml وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

– **وقاء فوسفاتي 0.2 M وpH 6.6:** ويحضَّر بوزن 0.4852 g من الفوسفات أحادية الصوديوم و0.1398 g من الفوسفات ثنائية الصوديوم في بالون معايرة سعة 25 ml وإكمال الحجم بالماء المقطر حتى خط العيار.

– **سلسلة كبريتات الحديدي العيارية:** تم تحضير محاليل كبريتات الحديدي بالتراكيز (100 – 250 – 500 – 750 – 1000 µM) حيث تم تحضير كل تركيز 3 مرات ثم إجراء اختبار الفعالية المضادة للأكسدة وقياس الامتصاصية.

– **سلسلة حمض الغالي العيارية:** تم تحضير محاليل حمض الغالي بالتراكيز (0.1 – 0.2 – 0.3 – 0.4 – 0.5 – 0.75 g/L) حيث تم تحضير كل تركيز 3 مرات ثم إجراء اختبار Folin-Ciocalteu وقياس الامتصاصية.

- **طرائق البحث:**

1- الاعتيان

شملت الدراسة فواكه عدة هي البرتقال، والغريفون، والتوت الأسود، وتوت العليق، والبندورة البلدية، والبندورة البلاستيكية، والفريز، والعنب الأحمر، والعنب الأسود فقد تم أخذ ثلاث عينات طازجة من كل صنف من الفواكه المدروسة من ثلاثة محلات تجارية مختلفة في السوق المحلية وذلك في موسم توافر كل من هذه الفواكه. تم عصر الفواكه بعصارة منزلية ثم ترشيحها، وبعدها تم تجميد العصير في الثلاجة بحرارة (-20°C) إلى حين القيام بالتحليل (Mezadri et al., 2008). استُخدم العصير مباشرة عند تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية (Shui and Leong, 2006)، بينما خضعت العصائر للتسخين في حمام مائي بغية تخريب حمض الأسكوربيك قبل قياس الفعالية المضادة للأكسدة. جرى تحليل كل مجموعة من مجموعات العصائر الثلاثة على حدة ثم حساب المتوسط الحسابي لكل نوع من العصير.

2- تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية:

تم اختيار حمض الغالي كمادة معبرة عن مجموع المركبات الفينولية ذات البنى المختلفة. جرى تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية بطريقة Folin-Ciocalteu التي ذكرها الباحثان Vermerris و Nicholson عام 2006، وهي من الطرائق الطيفية التي تسمح بتحديد تركيز المركبات الفينولية من خلال قياس امتصاصية المعقد الأزرق المتشكل بين كاشف Folin Denis والمركبات الفينولية عند طول موجة 750 nm. تم تمديد العصائر بحيث يصبح تركيز المركبات الفينولية ضمن الحدود الممكن تحديدها. أُضيف إلى 0.1 ml من العصير الممدد 2 ml من محلول كربونات الصوديوم اللامائية 2% المحضر حديثاً، وبعد مزجها جيداً، أُضيف 0.1 ml من الكاشف الممدد بنسبة (1:1) بالماء المقطر، لتُترك بعدها بحرارة الغرفة مدة 30 دقيقة قبل قراءة الامتصاصية. تم تحضير blank بتطبيق نفس الخطوات لكن بعد استبدال 0.1 ml من العصير الممدد بـ0.1 ml من الماء المقطر ثم طرح امتصاصيته من امتصاصية العينات. كما تم تحضير سلسلة عيارية من حمض الغالي تتراوح تراكيزها بين (0.1-0.75 g/l)، ثم حساب كمية المركبات الفينولية الكلية بالرجوع إلى السلسلة العيارية المذكورة، وكان التعبير عن النتائج بعدد غرامات مكافئات حمض الغالي (gallic acid equivalents GAE) لكل لتر من العصير.

3- التخلص من حمض الأسكوربيك:

يوجد حمض الأسكوربيك بنسبة عالية في الخضار والفواكه ويسهم بشكل كبير في الفعالية المضادة للأكسدة (Zulueta,2007)، لذا كان من الضروري التخلص منه بهدف قياس الفعالية المضادة للأكسدة العائدة للمركبات الفينولية فقط. جرى تخريب حمض الأسكوربيك بتسخين العصير في حمام مائي بدرجات حرارة مختلفة ولفترات زمنية مختلفة. كانت البداية مع تثبيت مدة التسخين (20 دقيقة) وتجريب درجات حرارة مختلفة هي (70, °C 75, 80)، ثم رُفعت مدة التسخين إلى 30 دقيقة مع تجريب درجات الحرارة (70, 75 °C). جرى تحديد المحتوى من حمض الأسكوربيك قبل التسخين وبعده باستخدام كاشف 0.001 N DCPIP (Koley et al., 2011; Georgea et al., 2004)، إضافة إلى تحديد المحتوى من المركبات الفينولية قبل التسخين وبعده بطريقة Folin-Ciocalteu للتأكد من عدم وجود تخرب بالمركبات الفينولية (Shui and Leong, 2006).

4-قياس الفعالية المضادة لأكسدة العصائر:

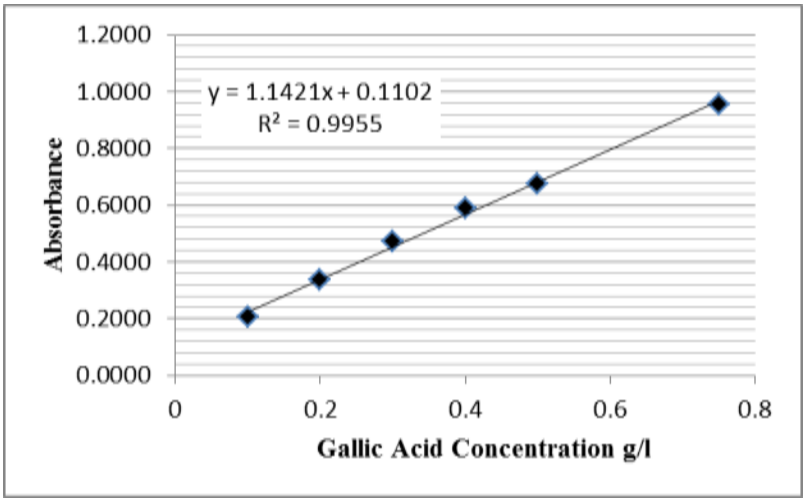
تُحدَّد الفعالية المضادة لأكسدة العصائر الخالية من حمض الأسكوربيك بطريقة قياس القدرة الإرجاعية مع بعض التعديل، واستخدام كاشف potassium ferricyanide الذي يشكل معقداً أصفر اللون مع شوارد الحديد. يسبب وجود مضادات الأكسدة في العينة إرجاع معقد $ferricyanide/Fe^{+3}$ إلى $ferricyanide/Fe^{+2}$ ذي اللون الأخضر، وتُقرأ امتصاصية المعقد السابق عند طول موجة 700 nm. ثم يُجرى هذا الاختبار بمزج 0.5 ml من العصير الممدد مع 0.5 ml من الوقاء الفوسفاتي ذي التركيز 0.2 M و6.6 pH، ثم إضافة 0.5 ml من محلول potassium ferricyanide 1%، بعدها يتم حضن المزيج في حمام مائي بحرارة 50°C مدة 20 دقيقة ثم إضافة 0.5 ml من محلول TCA 10% (w/v) وأخيراً يتم مزج 1 ml من المزيج مع 1 ml من الماء المقطر و0.2 ml من محلول كلور الحديد 0.1 %. يتم تحضير blank بتطبيق الخطوات السابقة نفسها بعد استبدال 0.5 ml من العصير الممدد بـ0.5 ml من الوقاء الفوسفاتي ثم طرح امتصاصيته من امتصاصية العينات (Chua et al., 2008; Baea and Suh, 2007). وتجدر الإشارة إلى أن هذا الاختبار كان يعتمد فقط على قياس الامتصاصية بحيث أن زيادة الامتصاصية

تشير إلى زيادة القدرة الإرجاعية، لذا جرى في هذا البحث تجريب تحضير سلسلة عيارية من محاليل كبريتات الحديدي بتراكيز تتراوح بين (100–1000 µM) لاستخدامها في تقدير القدرة الإرجاعية للمركبات الفينولية اعتماداً على التشابه مع طريقة FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) التي تستخدم كاشف 2,4,6–tripyridyl–2–triazine عوضاً عن potassium ferricyanide حيث تحسب النتائج في طريقة FRAP بالرجوع إلى سلسلة عيارية من كبريتات الحديدي، وبما أن كلتا الطريقتين تقيسان في النهاية تركيز شوارد الحديدي الناتجة من إرجاع الحديد بالمركبات الفينولية فقد تم في هذه الدراسة تحضير السلسلة العيارية (George et al., 2004).

النتائج والمناقشة:

1- المحتوى الكلي من المركبات الفينولية:

بما أن حمض الغالي قد استُخدِم كمادة مناسبة للتعبير عن المركبات الفينولية فقد جرى حساب المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في العصائر الوظيفية المدروسة استناداً إلى السلسلة العيارية المحضرة باستخدام حمض الغالي بتراكيز تتراوح بين (0.1–0.75 g/l) والموضحة في الشكل (1). هذا ويبين الجدول (4) النتائج التي يُعبَّر عنها بعدد غرامات مكافئات حمض الغالي لكل لتر من العصير. وقد لوحظ المحتوى الأعلى من المركبات الفينولية في عصير التوت الأسود، يليه عصير توت العليق نظراً لغناها بالأنثوسيانينيات مقارنة ببقية العصائر المدروسة (Baea and Suh, 2007). لم يلاحظ فرق في محتوى المركبات الفينولية بين البندورة البلدية التي تنمو في الصيف والبندورة البلاستيكية التي تنمو في الشتاء وقد يعود ذلك إلى عدم الحاجة إلى تدفئة البيوت البلاستيكية في السنة التي أُجريَت فيها الدراسة مما جعلها تنمو بشروط مشابهة للبندورة البلدية. لكن أظهر كلا نوعي البندورة نتائج أعلى من تلك التي حصل عليها الباحث George وزملاؤه عام 2004 التي تراوحت بين (0.22 g/Kg – 0.092). كما لوحظ أن محتوى العنب الأسود من المركبات الفينولية كان أعلى من محتوى العنب الأحمر وذلك عائد إلى غناه بالفلافونوئيدات (Da´valos et al., 2005). كما كانت نتائج عصير العنب الأحمر أقل من تلك التي حصل عليها الباحث Da´valos وزملاؤه عام 2005 التي تراوح فيها المحتوى من المركبات الفينولية بين ($0.7–1.2\ g_{GAE}/L_{Juice}$). أما الغريفون فكان أعلى محتوى بالمركبات الفينولية من البرتقال، وكانت هذه النتائج متوافقة مع تلك التي حصل عليها الباحث Gorinstein وزملاؤه عام 2006 التي تراوحت بين ($0.496 – 1.47\ g_{GAE}/Kg$) للغريفون وبين ($0.81–1.38 g_{GAE}/Kg$) للبرتقال. كما أظهرت الدراسة التي أجراها الباحث Kovačević وزملاؤه عام 2009 على عصير الفريز نتائج مشابهة حيث تراوح محتوى المركبات الفينولية بين (2.74 – 3.96 mg/g) من الوزن الجاف.



الشكل (1): السلسلة العيارية لحمض الغالي المستخدمة في حساب محتوى المركبات الفينولية للعصائر الوظيفية المدروسة

الجدول 4: المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في العصائر الوظيفية المدروسة

نوع العصير	تركيز المركبات الفينولية g_{GAE}/L_{Juice}
توت أسود	11.4 – 8.7
توت العليق	4 – 3.2
فريز	4.4 –2.1
عنب أسود	1.7 – 1.3
غريفون	1.8 – 1.1
برتقال	0.93 – 0.77
بندورة بلدية	0.79 – 0.64
بندورة بلاستيكية	0.76 – 0.62
عنب أحمر	0.66 – 0.35

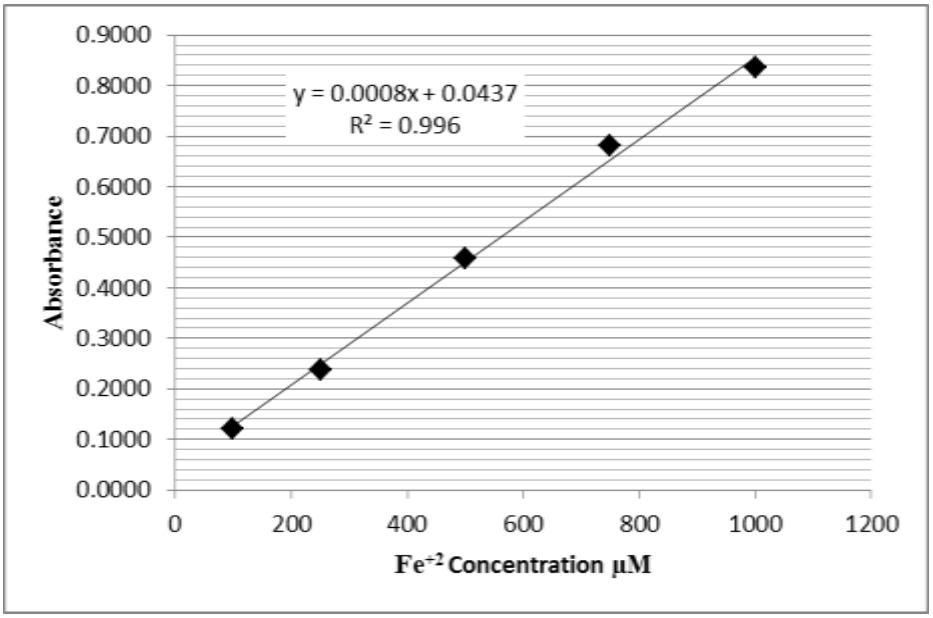
2-التخلص من حمض الأسكوربيك:

لوحظ عدم تخرب حمض الأسكوربيك عند تسخين العصائر بحمام مائي مدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 70°C و75°C. كما سبّب التسخين مدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 80°C تخرّب جزء من المركبات الفينولية، لذلك لم تُجرّب هذه الدرجة من الحرارة عند زيادة مدة التسخين إلى 30 دقيقة، بل تم تسخين العصائر مدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 70°C إلا أنها لم تكن كافية لتخريب حمض الأسكوربيك بشكل كامل،على حين أدى التسخين مدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 75°C لتخريب كامل لحمض الأسكوربيك دون تخريب المركبات الفينولية في العصائر الوظيفية المدروسة جميعها؛ لذلك تم اختيار هذه الشروط لمنع تداخل حمض الأسكوربيك مع المركبات الفينولية عند قياس الفعالية المضادة للأكسدة.

3- الفعالية المضادة للأكسدة:

استُخدمت السلسلة العيارية (الشكل 2) لمحاليل كبريتات الحديدي بتراكيز تتراوح بين 100-1000 µM لتحديد تركيز شوارد الحديدي المتشكلة في كل عينة نتيجة إرجاع معقد ferricyanide/Fe^{+3} إلى معقد ferricyanide/Fe^{+2}، حيث يُعبَّر عن الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات الفينولية بالقدرة الإرجاعية الممثلة بتركيز شوارد الحديدي المتشكلة. ومن هنا تبرز أهمية تحضير السلسلة العيارية لما تضفيه من فائدة لهذه الطريقة تتمثل بالحصول على نتائج رقمية لمقارنة أنواع العصائر فيما بينها خصوصاً أن كلاً منها ممدد بنسبة مختلفة عن الآخر. تُظهر النتائج المبينة في الجدول (5) أن القدرة الإرجاعية تتناسب مع المحتوى الكلي من المركبات الفينولية، ويمكن تفسير قيم الانحراف المعياري العالية الملاحظة في الجدول لكون العينات الثلاث لكل نوع من أنواع العصائر مأخوذة من محلات تجارية مختلفة وقد تكون من مناطق زراعية مختلفة، كما أن موعد قطافها وظروف تخزينها غير معروفة.

ولوحظ أن عصير التوت الأسود يمتلك الفعالية الأعلى المضادة للأكسدة يليه عصير توت العليق، الفريز ثم العنب الأسود، مروراً بنوعي البندورة اللذين أظهرا فعالية منخفضة لقلة غناها بالمركبات الفينولية مقارنة ببقية العصائر الوظيفية، علماً أن البندورة تعد من الفواكه الأغنى بحمض الأسكوربيك والليكوبين كمركبات مضادة للأكسدة، لكن تسخين العصائر أدى إلى تخريب حمض الأسكوربيك وبالتالي انخفاض فعاليتها المضادة للأكسدة، أما الليكوبين فيحتاج إلى حرارة أكبر كي يبدأ بالتخرب (Lee and Chen, 2004)، مما يشير إلى أن الفعالية المضادة للأكسدة للبندورة تُعزى لغناها بحمض الأسكوربيك لذا انخفضت هذه الفعالية عند تخريبه (George et al., 2004). على حين تتمتع أغلب العصائر المدروسة بفعالية عالية مضادة للأكسدة بعد تخريب حمض الأسكوربيك مما يشير إلى أن هذه الفعالية عائدة لغنى هذه العصائر بالمركبات الفينولية (Chua et al., 2008; Baea and Suh, 2007).



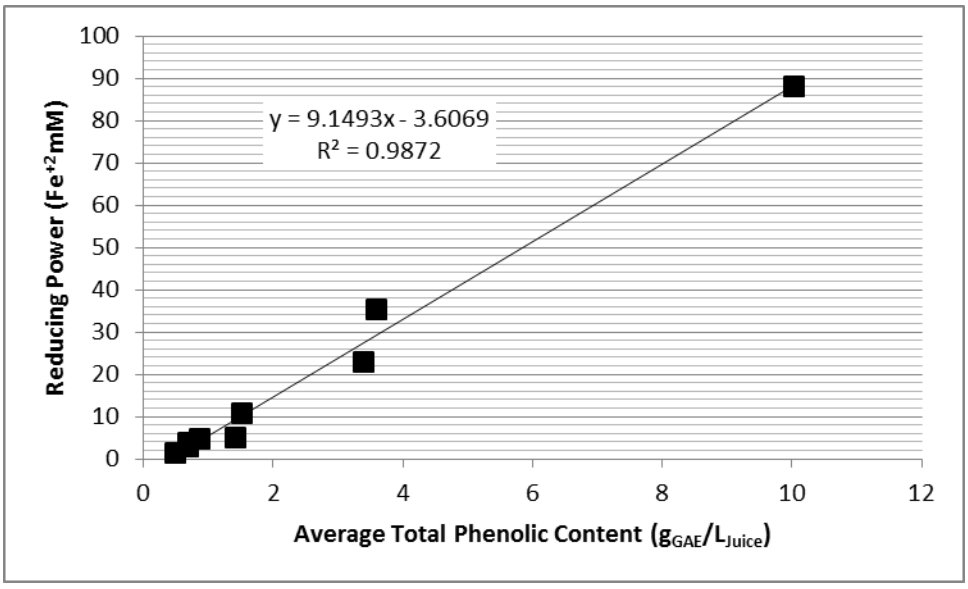
الشكل 2: السلسلة العيارية لكبريتات الحديدي المستخدمة في حساب القدرة الإرجاعية للعصائر الوظيفية المدروسة

الجدول 5: القدرة الإرجاعية للمركبات الفينولية في العصائر الوظيفية المدروسة

نوع العصير	القدرة الإرجاعية مقدرة بشوارد الحديدي SD ± mM
توت أسود	17.7 ± 87.98
توت العليق	5.22 ± 35.43
فريز	3.53 ± 22.93
عنب أسود	3.63 ± 10.8
غريفون	2.42 ± 4.92
برتقال	1.41 ± 4.75
بندورة بلدية	0.73 ± 3.88
بندورة بلاستيكية	0.09 ± 3.01
عنب أحمر	0.85± 1.5

4-العلاقة بين المحتوى الكلي من المركبات الفينولية والفعالية المضادة للأكسدة:

اعتماداً على النتائج السابقة يُلاحَظ ارتباط قوي بين تركيز المركبات الفينولية وبين الفعالية المضادة للأكسدة ممثلة بالقدرة الإرجاعية كما يبين الشكل (3). لذا يمكن القول: إنه كلما زادت كمية المركبات الفينولية في العصير الوظيفي زادت فعاليته المضادة للأكسدة وهذا يتوافق مع النتيجة التي حصل عليها الباحث Kadam وزملاؤه عام 2008 عند دراستهم عصير قصب السكر.



الشكل (3): تزايد القدرة الإرجاعية للعصائر الوظيفية بتزايد تركيز المركبات الفينولية فيها

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

- تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في بعض العصائر الوظيفية المتوافرة محلياً (غريفون، وبرتقال، وتوت أسود، وتوت العليق، وبندورة بلدية، وبندورة بلاستيكية، وفريز، وعنب أحمر، وعنب أسود) باستخدام طريقة Folin–Ciocalteu المرجعية حيث كان العصير الوظيفي الأغنى بها هو عصير التوت الأسود يليه عصير توت العليق، بينما كان عصير العنب الأحمر هو الأقل غنى بها.

- أعطت الفعالية المضادة للأكسدة للعصائر الوظيفية المدروسة نتائج متوافقة مع طريقة Folin–Ciocalteu من حيث ترتيب العصائر حيث تم إيجاد علاقة إيجابية قوية بين المحتوى من المركبات الفينولية والفعالية المضادة للأكسدة.

- تم تحديد الشروط المثلى لتخريب حمض الأسكوربيك دون تخريب المركبات الفينولية بالتسخين في حمام مائي على درجة حرارة 75°C مدة 30 دقيقة.

- تم تعديل طريقة قياس القدرة الإرجاعية من خلال تحضير سلسلة عيارية من كبريتات الحديدي.

التوصيات:

- متابعة الدراسة على أنواع أخرى من العصائر الوظيفية المتوافرة محلياً.

- متابعة الدراسة على العصائر الوظيفية المصنعة والمعلبة ومقارنتها بالعصائر الطبيعية.

المراجع:

ALZAMORA, S. M.; SALVATORI, D.; TAPIA, M. S.; LO´PEZ-MALO, A.; WELTI-CHANES, J.; FITO, P. *Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds.* Journal of Food Engineering, Nº. 67, 2005, 205–214.

BAEA, S. H.; SUH, H. J. *Antioxidant activities of five different mulberry cultivars in Korea.* LWT, Nº.40, 2007, 955–962.

CHUA, M. T.; TUNG, Y. T.; CHANG, S. T. *Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of Cinnamomum osmophloeum*. Bioresource Technology, Nº. 99, 2008, 1918–1925.

CIRICO, L.; OMAYE, S. *Additive or synergetic effects of phenolic compounds on human low density lipoprotein oxidation*. Food and Chemical Toxicology, Nº. 44, 2006, 510–516.

DA´VALOS, A.; BARTOLOME´, B.; GO´MEZ-CORDOVE´S, C. *Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars.* Food Chemistry, Nº. 93, 2005, 325–330.

EISENBRAND, G. *Functional Food: Safety Aspects*, Germany, 2004.

ESPI´N, J. C.; GARCI´A-CONESA, M. T.; TOMA´S-BARBERA´N, F. A. *Review Nutraceuticals: Facts and fiction.* Phytochemistry, Nº. 68, 2007, 2986–3008.

FERNANDEZ, M. *Application of Biotechnology for Functional Foods*, Pew Initiative on Food and Biotechnology, 2007, 78.

GEORGE, B.; KAUR, C.; KHURDIYA, D.S.; KAPOOR, H.C. *Antioxidants in tomato (Lycopersium esculentum) as a function of genotype.* Food Chemistry, Nº.84, 2004, 45–51.

GORINSTEIN, S.; HUANG, D.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; YAMAMOTO, K.; SOLIVA-FORTUNY, R.; MARTIN BELLOSO, O.; MARTINEZ AYALA, A. L.; Trakhtenberg, S. *Determination of naringin and hesperidin in citrus fruit by high-performance liquid chromatography. The antioxidant potential of citrus fruit*. Acta chromatographica, Nº. 17, 2006.

KADAM, U.S.; GHOSH, S.B.; STRAYO, D.; SUPRASANNA, P.; DEVASAGAYAM, T.P.A.; BAPAT, V.A. *Antioxidant activity in sugarcane juice and its protective role against radiation induced DNA damage*. Food Chemistry, Nº. 106, 2008, 1154–1160.

KAUR, C.; KAPOOR, H. *Review Antioxidants in fruits and vegetables and the millennium's health*. International Journal of Food Science and Technology, Nº. 36, 2001, 703-725.

KIEFER, I; BERGHOFER, E; BLASS, M; BURGER, P; HOPPICHLER, F.*Functional Food - Lebensmittel mit Zusatznutzen?*. Journal für Ernährungsmedizin; Nº. 4, 2002, 10-15.

KOLEY, T. K.; KAUR, C.; NAGAL, S.; WALIA, S.; JAGGI, S.; SARIKA. *Antioxidant activity and phenolic content in genotypes of Indian jujube (Zizyphus mauritiana Lamk.)*. Arabian Journal of Chemistry, 2011.

KONG, K.; MAT-JUNIT, S.; AMINUDIN, N; ISMAIL, A.; ABDUL-AZIZ, A. *Antioxidant activities and polyphenolics from the shoots of Barringtonia racemosa (L.) Spreng in a polar to apolar medium system*. Food Chemistry, Nº. 134, 2012, 324–332.

KOVAČEVIĆ, D. B.; LEVAJ, B.; DRAGOVIĆ-UZELAC, V. *Free Radical Scavenging Activity and Phenolic Content in Strawberry Fruit and Jam*. Agriculturae Conspectus Scientifi cus, Vol.74, Nº. 3, 2009, 155-159.

LANDSTRÖM, E. *To Choose or not to Choose Functional Foods, that is the Question*, Sweden, 2008, Uppsala University.

LEE, M.T.; CHEN, B. H. *Stability of lycopene during heating and illumination in a model system*. Food Chemistry, Nº. 78, 2002, 425–432

LOO, A.Y.; JAIN, K.; DARAH, I. *Antioxidant activity of compounds isolated from the pyroligneous acid, Rhizophora apiculata*. Food Chemistry, Nº. 107, 2008, 1151–1160.

MENRAD, K. *Market and marketing of functional food in Europe*. Journal of Food Engineering, Nº. 56, 2003, 181–188.

MEZADRI, T.; VILLANO, D.; FERNANDEZ-PACHON, M.; GARCI´A-PARRILLA, M.C.; TRONCOSO, A.M. *Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (Malpighia emarginata DC.) fruits and derivatives*. Journal of Food Composition and Analysis, Nº. 21, 2008, 282– 290.

PANG, G.; Xie, J.; CHENA, Q.; HUA, Z. *How functional foods play critical roles in human health*. Food Science and Human Wellness, Nº. 1, 2012, 26–60.

ROBERFROID, M. *Functional food concept and its application to prebiotics*, Digestive and Liver Diseases, 2002, 34,2, 105-110.

SAURA-CALIXTO, F; GONI, I. *Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet*. Food Chemistry, Nº.94, 2006, 442–447

SHI, J.; HO, C.T.; SHAHIDI, F. *Functional Foods of the East*, NUTRACEUTICAL SCIENCE AND TECHNOLOGY, Canada, 2011, 505.

SHUI, G.; LEONG, L. P. *Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals*. Food Chemistry, Nº. 97, 2006, 277–284.

SILVA, E.M.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H.; REES, J. F.; LARONDELLE, Y. *Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region.* Food Chemistry, Nº. 101, 2007, 1012–1018.

SIRO, I.; KAPOLNA, E.; KAPOLNA, B.; LUGASI, A. *Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review*. Appetite, Nº. 51, 2008, 456–467.

SPENCE, J. -*Challenges related to the composition of functional foods.* Journal of Food Composition and Analysis, Nº. 19, 2006, 4–6.

UROPEAN COMMISSION (2010). Functional Foods. Directorate-General for Research.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. *Phenolic Compound Biochemistry***.** Springer, The Netherlands, 2006, 276.

ZULUETA, A.; ESTEVE, M. J.; FRASQUET, I.; FRI´GOLA, A. *Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain*. Food Chemistry, Nº. 103, 2007, 1365–1374.