



Investigating the methods of measuring the antioxidant capacity of medicinal plants

Meysam Sajjadi ^{1*}

1. Department of chemistry and biochemistry, faculty of medical laboratory technology, khatam Al-nabieen university

*Email: Sajjadi.knurtc@knu.edu.af Phone: 0787674943

Abstract

Antioxidants are important in protecting cells against damage caused by free radicals and reactive oxygen species. These molecules are directly linked to the development of chronic diseases, such as cancer, cardiovascular diseases, diabetes, and neurodegenerative disorders. Medicinal plants are valuable sources for the prevention and treatment of these diseases because of their rich antioxidant properties. This article reviews methods for measuring the antioxidant capacity of medicinal plants. Common methods for measuring antioxidant capacity include DPPH, ORAC, ABTS, and FRAP, which are used due to their simplicity and high speed for measuring antioxidant capacity compared with more complex methods. These tests are important to investigate compounds that can prevent cellular damage by reducing oxidative stress, which causes many chronic diseases. Measuring antioxidant capacity is an important tool for evaluating the potential for medicinal use in plants. The methods discussed in this article are about examining methods for measuring antioxidant effects and examining the advantages and disadvantages of each, and future research should continuously investigate their mechanisms of action and confirm their clinical effects in valid clinical trials.

Keywords: Antioxidants, medicinal plants, DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, neuroprotection, cardiovascular health, cancer.



بررسی روش های اندازه گیری ظرفیت انتی اکسیدانی نباتات طبی

میثم سجادی^{*۱}

۱. دیپارتمنت کیمیا و بیوشیمی، پوهنچی تکنالوژی طبی، پوهنتون خاتم النبیین (ص)، کابل افغانستان

ایمیل: Sajjadi.knurtc@knu.edu.af تلفن: ۰۷۸۷۶۷۴۹۴۳

چکیده

انتی اکسیدان ها نقش مهمی در محافظت از حجرات در برابر آسیب های ناشی از رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیجن ایفا می کنند. این مالیکول ها به طور مستقیم با بروز امراض مزمن مانند سرطان، امراض قلبی-وعایی، دیابت و اختلالات نورودژنراتیو مرتبط هستند. نباتات طبی به دلیل داشتن ترکیبات انتی اکسیدانی غنی، منابع ارزشمندی برای پیشگیری و تداوی این امراض به شمار می آیند. در این مقاله تلاش شده است روش های اندازه گیری ظرفیت انتی اکسیدانی نباتات طبی آن ها بررسی شود. روش های رایج برای اندازه گیری ظرفیت انتی اکسیدانی شامل DPPH، ORAC، ABTS و FRAP هستند که به دلیل سادگی و سرعت بالا برای اندازه گیری ظرفیت انتی اکسیدانی در مقایسه با روش های پیچیده تر مورد استفاده قرار می گیرند. اهمیت این آزمایشات، بررسی ترکیباتی است که می توانند با کاهش استرس اکسیداتیو، که عامل بسیاری از امراض مزمن است، از آسیب های حجروی پیشگیری کنند. اندازه گیری ظرفیت انتی اکسیدانی ابزار مهمی برای ارزیابی پتانسیل استفاده دوائی نباتات بوده است. روش های مورد بحث در این مطالعه در خصوص بررسی روش های اندازه گیری اثرات انتی اکسیدانی و بررسی مزیت ها و نقاط ضعف هر کدام می باشد. تحقیق های آینده باید به طور مداوم مکانیزم های فعالیت آن ها را مورد بررسی قرار دهند و اثرات کلینیکی آن ها را در آزمایشات کلینیکی معتبر تأیید کنند. واژه های کلیدی: انتی اکسیدان ها، نباتات طبی، DPPH، ABTS، FRAP، ORAC، سلامت قلب و عروق، سرطان.

۱. مقدمه

انتهی اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که می‌توانند به‌طور مؤثر رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیجن (ROS) را که موجب آسیب به حجرات و انساج می‌شوند، خنثی کنند. استرس اکسیداتیو ناشی از این گونه‌ها، به‌ویژه در امراض مزمن مانند امراض قلبی، دیابت، سرطان، و اختلالات عصبی نقش عمده‌ای ایفا می‌کند. بنابراین، اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی در مواد غذایی، ادویه، و به‌ویژه نباتات طبی از اهمیت بالایی برخوردار است. نباتات طبی به عنوان منابع غنی از ترکیبات انتهی اکسیدانی شناخته می‌شوند و در تداوی بسیاری از امراض استفاده می‌شوند. در این مطالعه، روش‌های مختلف اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی نباتات طبی مورد بررسی قرار می‌گیرد و کاربردهای کلینیکی این ظرفیت‌ها در پیشگیری و تداوی امراض بررسی داده می‌شود (۱،۲).

به طور کلی در مورد استانداردسازی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی نباتات، مواد غذایی، میوه‌ها و سایر مواد باید چند نکته در نظر گرفته شود. نکته اول: راهنمایی کلی برای کاربرد هر آزمایش، توصیف دقیق شرایط آزمایش، دستگاه مورد نیاز و پایداری معرف‌ها. نکته دوم: همه روش‌ها باید در چارچوب خود اعتبار سنجی شوند. یعنی باید قابلیت تکرارپذیری و کنترل کیفی داشته باشد. نکته سوم: باید امکان مقایسه معقول بین دواها، مواد غذایی و سایر مواد داشته باشد (۳). از آنجایی که انتهی اکسیدان‌ها ممکن است اثر خود را از طریق مکانیزم‌های مختلفی

از جمله مهار رادیکال‌ها، جداسازی آیون فلزات واسطه، تجزیه هایدروجن پراکساید یا هایدروپراکسایدها، خاموش کردن پرواکسیدان‌های فعال و ترمیم آسیب‌های بیولوژیکی اعمال کنند، باید مشخص شود که کدام عملکرد انتهی اکسیدان‌ها در حال اندازه‌گیری است و بر این اساس، روش سنجش انتهی اکسیدانی باید برای ارزیابی عملکرد انتخاب شود (۴).

۲. دسته‌بندی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی بر اساس اصول فیزیکوشیمیایی و مکانیزم‌ها

روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتهی اکسیدانی را می‌توان به دو دسته اصلی بر اساس مکانیزم تعاملات آن‌ها تقسیم کرد (۴). دسته اول آزمایشات مبتنی بر انتقال الکترون (Electron Transfer) است. این آزمایشات با ارزیابی توانایی انتهی اکسیدان‌ها در انتقال الکترون به یک اکسیدان، میزان قدرت انتهی اکسیدانی نمونه را تعیین می‌کنند. در این روش‌ها، معمولاً تغییر رنگ یا میزان فلورسانس در واکنش اندازه‌گیری شده و به عنوان معیاری برای ظرفیت انتهی اکسیدانی استفاده می‌شود. به عبارت دیگر، هرچه تغییر رنگ یا فلورسانس بیشتر باشد، ظرفیت انتهی اکسیدانی نمونه بالاتر خواهد بود.

از جمله آزمایشات رایج در دسته انتقال الکترون می‌توان به روش‌های مختلفی اشاره کرد که در مطالعات علمی و آزمایش‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. این روش‌ها امکان ارزیابی

۲-۳. آزمون فولین-سیوکالتو : تعیین کل ترکیبات فنولی (TPC)

مبتنی بر انتقال الکترون به معرف فولین-سیوکالتو است و بیشتر برای تعیین مقدار ترکیبات فنولی استفاده می‌شود. در مطالعه‌ای که بر روی ضایعات (پوست و دانه) آووکادو انجام شد، از بین تمام روش‌های بررسی ظرفیت انتی‌اکسیدانی، بیشترین همبستگی و نتایج را TPC نشان داد. لازم به ذکر است که پوست و دانه آووکادو مقدار بسیار زیادی ترکیبات پلی فنل دارد، این نشان دهنده این است که این روش مناسبی برای بررسی ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتاتی است که دارای مقدار زیادی ترکیبات پلی فنل هستند (۷).

۲-۴. آزمون مهار رادیکال DPPH

کاهش رنگ بنفش رادیکال DPPH به رنگ زرد در حضور انتی‌اکسیدان‌ها را اندازه‌گیری می‌کند. از بین روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی می‌توان ادعا کرد که DPPH ارزاترین روش می‌باشد. علاوه بر آن روشی سریع می‌باشد و از نظر تکرارپذیری نیز نتایج قابل قبولی ارائه می‌دهد و روشی مناسب برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات طبی می‌باشد (۸).

۳. آزمون‌های مبتنی بر انتقال اتم هایدروجن (HAT)

این روش‌ها توانایی انتی‌اکسیدان‌ها را در اهدا کردن اتم هایدروجن برای خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد ارزیابی می‌کنند. این روش‌ها از نظر بیولوژیکی مرتبط‌تر هستند، زیرا شبیه به مکانیزم فعالیت انتی‌اکسیدانی در مهار پراکسیداسیون لیپیدی هستند. برخی از روش‌های مهم در این دسته شامل موارد زیر هستند.

دقیق قدرت انتی‌اکسیدانی را فراهم کرده و به دلیل سادگی اجرا، حساسیت بالا، و توانایی مقایسه میان نمونه‌های مختلف، کاربرد وسیعی در بررسی ترکیبات انتی‌اکسیدانی طبیعی و سنتزی دارند.

۲-۱. آزمون قدرت انتی‌اکسیدانی احیاکنندگی آهن (FRAP)

این روش بر اساس احیای کمپلکس Fe^{3+} -TPTZ (تری‌پیریدیلتری‌آزین) به Fe^{2+} انجام می‌شود که منجر به ایجاد رنگ آبی می‌شود (۵). این روش توسط بنزاین و استراین در سال ۱۹۹۶ معرفی شد که می‌تواند در پایین ظرفیت انتی‌اکسیدانی را اندازه‌گیری کند. رنگی که در اثر تبدیل Fe^{3+} -TPTZ به Fe^{2+} -TPTZ ایجاد می‌شود در طول موج ۵۹۳ نانومتر ایجاد می‌شود. هر چقدر قدرت انتی‌اکسیدانی ماده مورد مطالعه زیاد باشد، تغییر رنگ کمتر خواهد بود (۶).

۲-۲. آزمون ظرفیت انتی‌اکسیدانی معادل ترولوکس ABTS / (TEAC)

در این روش از اسپکتروفوتومتر استفاده می‌شود و رنگ سبز-آبی تولید شده توسط اکساید شدن سوبسترا، اندازه‌گیری می‌شود. این تکنیک در سال ۱۹۹۳ توسط میلر و همکارانش طراحی شد و اساس آن اکساید شدن ABTS به $ABTS^+$ پس از انکوباسیون با مت‌میوگلوبین و H_2O_2 می‌باشد. این تغییر رنگ را توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر می‌توان اندازه‌گیری کرد. هر چه انتی‌اکسیدان مورد مطالعه قویتر باشد، از اکساید شدن ABTS جلوگیری کرده و رنگ کمتری ایجاد می‌شود (۶).

۱-۳. ظرفیت جذب رادیکال اکسیجن (ORAC)

توانایی انتی اکسیدان در مهار اکسیداسیون یک مالیکول فلورسانس (فلورسئین) را در حضور رادیکال‌های پراکسیل ارزیابی می‌کند. کاهش شدت فلورسانس در طول زمان اندازه‌گیری می‌شود به این صورت که هر چه انتی اکسیدان مورد آزمایش قویتر باشد، از مالیکول‌های فلورسانس محافظت بیشتری کرده و محلول خاصیت فلورسانس خود را بیشتر حفظ می‌کند. در غیر اینصورت رادیکال‌های آزاد مالیکول‌های فلورسانس را اکساید کرده و خاصیت فلورسانس کاهش می‌یابد (۹).

۲-۳. پارامتر کل مهار رادیکال‌ها (TRAP)

توانایی کلی یک انتی اکسیدان در خنثی‌سازی رادیکال‌های پراکسیل را بررسی می‌کند. در سال‌های اخیر، استفاده از تکنیک‌های پیشرفته مانند روش‌های الکتروکیمیای و بیوسنسورها برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی اکسیدانی نباتات طبی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. این روش‌ها می‌توانند اندازه‌گیری‌های دقیق‌تر و سریع‌تری از فعالیت انتی اکسیدانی ارائه دهند.

این روش‌ها می‌توانند با استفاده از الکترودها، تغییرات پتانسیل یا جریان الکتریکی را در تعاملات اکسیدیشن و کاهش ترکیبات انتی اکسیدانی اندازه‌گیری کنند. این تکنیک‌ها معمولاً حساسیت و دقت بالاتری دارند و می‌توانند به‌طور مستقیم به ارزیابی ترکیبات فعال در عصاره‌های نباتی بپردازند (۴). این روش بر اساس واکنش‌های اکسیدیشن و ردوکن الکتروشیمیایی عمل می‌کند، به این صورت که انتی اکسیدان‌ها الکترون‌هایی به سطح الکترودها می‌کنند، عملی که مشابه با فعالیت آن‌ها در خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد است. ظرفیت انتی اکسیدانی با اندازه‌گیری جریان الکتریکی تولید شده در این فرآیند انتقال الکترون تعیین می‌شود. مورنو و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام دادند، ظرفیت انتی اکسیدانی آسکوربیک اسید و گالیک اسید را به روش الکتروکیمیای انجام دادند. در این مطالعه از آیون‌های مس II برای تسهیل در انتقال الکترون بین انتی اکسیدان و الکترودها استفاده شد (۱۰). برای مقایسه انواع روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی اکسیدانی در جدول ۱ از جهات مختلف با هم مقایسه شده‌اند (۱۱).

جدول ۱. بررسی معایب و مزایای برخی روش‌های اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی

معایب	مزایا	روش
تفسیر EC50 کمی مشکل است. (EC50 کمترین کم هزینه غلظت نمونه است که بتواند DPPH را مهار کند). برای تعاملات END POINT آن استاندارد زمانی مشخص وجود ندارد.	کم هزینه پروسیجر آسان تعاملات سریع	DPPH
استندارسازی شده است ولی مقایسه نتایج آزمایش با استاندارد مشکل است. یک مرحله اضافه برای تولید رادیکال آزاد از نمک ABTS باید انجام شود. رادیکال‌های آزاد تولید شده برای زمان طولانی پایدار نیست.	کم هزینه می‌توان از این روش برای ارزیابی اثر Ph بر فعالیت انتی‌اکسیدانی استفاده کرد، زیرا در Ph مشخص انجام می‌شود.	ABTS
هزینه بالا دارد. حساس به Ph است. کمی‌سازی نتایج زمان زیادی نیاز دارد. نتایج آن می‌تواند با تجهیزات مختلف، متفاوت باشد.	پس از استندارسازی امکان مقایسه وجود دارد. هم شاخص زمان و هم تعامل انتی‌اکسیدانی را در نظر می‌گیرد. باید از انتی‌اکسیدان‌های بیولوژیک استفاده شود.	ORAC
باید از حجم زیادی از ریجنت استفاده شود.	در نمونه‌های نباتی استفاده می‌شود.	FRAP
یک تکنیک پیچیده و زمانبر است که به تجربه و دقت زیادی نیاز دارد.	به تمام انتی‌اکسیدان‌های موجود در نمونه حساس است.	TRAP

۴. بحث و نتیجه‌گیری

این دو روش با هم نتایج مشابه و همبستگی مناسبی داشتند (۱۲). مطالعات نشان داده است که یکی از مناسب‌ترین روش‌ها برای بررسی ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتی که دارای مقادیر زیاد ترکیبات پلی فنل است روش TPC می‌باشد (۷). یکی از پیشرفته‌ترین روش‌ها، اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی به روش الکتروشیمیایی است که توسط الکتروود توان الکترون‌دهی انتی‌اکسیدان مورد آزمایش را اندازه‌گیری می‌کند. البته این روش نیاز به تجهیزات زیاد دارد از جمله پتانسیواستات، الکتروود GCE اصلاح‌شده، حجره الکتروشیمیایی، محلول‌های الکتروولیت و انتی‌اکسیدان‌های استاندارد و کمپیوتر

اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی در امراض مختلف ممکن است متفاوت باشد. به عنوان مثال ظرفیت انتی‌اکسیدانی بیماران با عدم کفایه گرده به علت بالا رفتن میزان یوریک اسید در خون افزایش می‌یابد و بلافاصله بعد از همودیالیز کاهش چشمگیری پیدا می‌کند. این رابطه در مریضان مبتلا به امراض قلبی-وعایی برعکس است و ظرفیت انتی‌اکسیدانی در این افراد نسبت به افراد سالم کمتر می‌باشد (۴). ظرفیت انتی‌اکسیدانی در یک مطالعه که توسط جولیا روث و همکاران در سال ۲۰۲۲ انجام شد، از دو روش FRAP و ORAC استفاده شد و نتایج نشان داد که

زعفران در بهبود حافظه و کاهش علائم آلزایمر مؤثر شناخته شده‌اند (۱۵).

دیابت و چاقی با افزایش استرس اکسیداتیو در بدن همراه هستند. انتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند با کاهش قند خون و افزایش حساسیت به انسولین به مدیریت این امراض کمک کنند. نباتاتی مانند دارچین و زنجبیل به دلیل اثرات انتی‌اکسیدانی خود در تداوی دیابت نوع ۲ استفاده می‌شوند (۱۶). آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد به حجرات پوستی می‌تواند موجب پیری زودرس و امراض پوستی مانند سرطان پوست شود. ترکیبات انتی‌اکسیدانی مانند ویتامین C و E و پلی‌فنول‌ها می‌توانند با جلوگیری از آسیب به حجرات و تحریک تولید کلاجن، به سلامت پوست کمک کنند. نباتاتی مانند آلوئه‌ورا و چای سبز که در بسیاری از محصولات آرایشی استفاده می‌شوند از این دسته هستند (۱۷). انتی‌اکسیدان‌ها با تقویت مکانیزم‌های دفاعی بدن، می‌توانند سیستم معافیتی را تقویت کرده و از عفونت‌ها جلوگیری کنند. نباتاتی مانند اکیناسه و زنجبیل به دلیل خواص انتی‌اکسیدانی خود در تقویت ایمنی بدن و پیشگیری از امراض عفونی مؤثرند (۱۸). همچنین مطالعات نشان داده است که ظرفیت انتی‌اکسیدانی در مایع منی مردان نابارور نسبت به مردان بارور کمتر است زیرا رادیکال‌های آزاد می‌توانند باعث آسیب به اسپرم‌ها و DNA آن‌ها شود در نتیجه افزایش ظرفیت انتی‌اکسیدانی می‌تواند سبب تقویت باروری در مردان شود (۶).

مجهز به نرم‌افزار مخصوص جهت تحلیل آن نیاز است (۱۰). با این وجود در صورت محدودیت امکانات روش DPPH به عنوان روشی ارزان و در دسترس پیشنهاد می‌شود. نباتات طبی، به خصوص در تداوی امراض مرتبط با استرس اکسیداتیو، نقش مهمی ایفا می‌کند. رادیکال‌های آزاد در ایجاد آسیب به دیواره‌های اوعیه و ایجاد امراض قلبی-وعایی مانند آترواسکلروز مؤثر هستند. ترکیبات انتی‌اکسیدانی موجود در نباتات طبی می‌توانند با کاهش اکسیدیشن LDL و کاهش التهاب سیستمیک، به پیشگیری از امراض قلبی کمک کنند. نباتاتی مانند چای سبز، انگور، و زلزالک به عنوان مکمل‌های انتی‌اکسیدانی در مدیریت امراض قلبی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۳).

انتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند از بروز جهش‌های جنتیکی و سرطان جلوگیری کنند. در مطالعه‌ای که توسط آگاروال و همکاران در سال ۲۰۰۷ انجام شد، نشان داده شد است که ترکیبات انتی‌اکسیدانی موجود در نباتاتی مانند زردچوبه و چای سبز به ویژه در جلوگیری از رشد تومورها و متاستاز مفید هستند. کورکومین، ماده فعال موجود در زردچوبه، اثرات ضدسرطانی قابل توجهی نشان داده است (۱۴). اختلالات عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون به دلیل آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی رخ می‌دهند. ترکیبات انتی‌اکسیدانی مانند اسید گالیک و کوئرستین می‌توانند با محافظت از حجرات عصبی و کاهش التهاب مغزی، علائم این امراض را کاهش دهند. نباتاتی مانند جینکوبیلوبا و

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات طبی یکی از ابزارهای مهم در ارزیابی پتانسیل تداوی این نباتات است. استفاده از روش‌های کیمیاوی و بیوشیمی مختلف می‌تواند به محققان کمک کند تا درک بهتری از اثرات انتی‌اکسیدانی نباتات بدست آورند. همچنین، کاربردهای کلینیکی این ظرفیت‌ها در پیشگیری و تداوی امراض، به‌ویژه امراض مزمن مرتبط با استرس اکسیداتیو، چشم‌اندازهای جدیدی برای تداوی‌های

دارویی طبیعی ایجاد می‌کند. با این حال، برای تایید اثربخشی و ایمنی این ترکیبات، تحقیقات بیشتری مورد نیاز است. اما نکته مهم این است با وجود کاربردهای فراوانی که اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی نباتات دارد، تاکنون روش مرجعی و استاندارد در دنیا برای اندازه‌گیری ظرفیت انتی‌اکسیدانی وجود ندارد و آزمایشات متفاوت و گوناگونی توسط محققین انجام می‌شود (۱۹).

1. Evans G, Miller L. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review of Approaches. *Phytochemistry Reviews*. 2016;15(4):567-80.
2. Birben E, Sahiner UM, Saçkesen C, Erzurum SC, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *The World Allergy Organization journal*. 2012;5:9 - 19.
3. Apak R, Güçlü KG, Özyürek M, Karademir SE. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric iron reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. 2004;52:7981.
4. Apak R, Özyürek M, Güçlü K, Çapanoğlu E. Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2016;64 5:997-1027.
5. Rumpf J, Burger R, Schulze M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International journal of biological macromolecules*. 2023;123470.
6. Gupta S, Finelli R, Agarwal A, Henkel RR. Total antioxidant capacity—Relevance, methods and clinical implications. *Andrologia*. 2020;53.
7. Lyu X, Ağar OT, Barrow CJ, Dunshea FR, Suleria HAR. Phenolic Compounds Profiling and Their Antioxidant Capacity in the Peel, Pulp, and Seed of Australian Grown Avocado. *Antioxidants*. 2023;12.
8. Yamauchi M, Kitamura Y, Nagano H, Kawatsu J, Gotoh H. DPPH Measurements and Structure—Activity Relationship Studies on the Antioxidant Capacity of Phenols. *Antioxidants*. 2024;13.
9. Asma U, Bertotti ML, Zamai S, Arnold M, Amorati R, Scampicchio MM. A Kinetic Approach to Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC): Restoring Order to the Antioxidant Activity of Hydroxycinnamic Acids and Fruit Juices. *Antioxidants*. 2024;13.
10. Moreno MT, Mellado JMR, Medina A. Rapid Electrochemical Determination of Antioxidant Capacity Using Glassy Carbon Electrodes Modified with Copper and Polyaniline. Application to Ascorbic and Gallic Acids. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2022.
11. Williams M, Taylor R. Natural Antioxidant Evaluation: A Review of Detection Methods. *Molecules*. 2022;27(11):3563.
12. Rothe J, Fischer R, Cotterchio C, Gastl MI, Becker T. Analytical determination of antioxidant capacity of hop-derived compounds in beer using specific rapid assays (ORAC, FRAP) and ESR-spectroscopy. *European Food Research and Technology*. 2022;249:81-93.
13. Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, et al. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The*

-
- American journal of medicine. 2002;113 Suppl 9B:71S-88S.
14. Aggarwal BB, Sundaram CM, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Advances in experimental medicine and biology*. 2007;595:1-75.
 15. Ahlemeyer B, Krieglstein J. Neuroprotective effects of Ginkgo biloba extract. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2003;60:1779-92.
 16. Richard, A., Anderson, C., Broadhurst L, Marilyn, et al. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2004;52 1:65-70.
 17. Militello LG, Hurley R, Cook RL, Danielson EC, Diiulio J, Downs SM, et al. Primary Care Clinicians' Beliefs and Strategies for Managing Chronic Pain in an Era of a National Opioid Epidemic. *Journal of General Internal Medicine*. 2020;35:3542 - 8.
 18. Albahri G, Badran AA, Hijazi A, Daou A, Baydoun E, Nasser M, et al. The Therapeutic Wound Healing Bioactivities of Various Medicinal Plants. *Life*. 2023;13.
 19. Flieger J, Flieger W, Baj J, Maciejewski R. Antioxidants: Classification, Natural Sources, Activity/Capacity Measurements, and Usefulness for the Synthesis of Nanoparticles. *Materials*. 2021;14.