تعيين القدرة المضادة للأكسدة و التركيب الكيميائي لبذور اليانسون و الشمرا باستخدام تقنية التألق الكيميائي الضوئي و الكروماتوغرافيا الغازية المربوط بمطياف الكتلة

الكيميائي عدنـان عودة

Final Report on Scientific Laboratory Study entitled:

Determination of integral antioxidants capacity in Aniseed and Fennel Seeds using photochemiluminescence assay and GC-MS

اليانسون Fennel

الشمرا Aniseed

المحتويات	
الخلاصة	4
المقدمة	6
العمل التجريبي	10
المواد والطرائق	10
الكواشف والمواد الكيميائية والتجهيزات	11
جمع العينات	11
عملية الإستخلاص وتعيين المكونات	11
النتائج و المناقشة	12
المراجع	20

الخلاصة

عينت المكونات الكيميائية لبذور اليانسون والشمرا المجمعة من إدلب وحلب على الترتيب بتقنية مطيافية الكتلة المرتبطة مع الكروماتوغرافية الغازية. تم تعيين أربعين مكوناً والتي تمثل نحو 99.44% من كمية الزيت العطري لبذور اليانسون. تبين أن المكونات الرئيسية في بذور اليانسون هي: مفروق–انيسول إستراجول، ليمونين، فينجون، لينالوول، مفروق أنيسول، باراأنيس ألدهيد، بنزن–1–ميتوكسي–4–(1–بربينيل)، مقرون أنيسول.

جرى تعيين ثلاث وثلاثون مكوناً والتي تمثل نحو 99.35% من كمية الزيت العطري لبذور الشمرا . وكانت المكونات الرئيسة في بذور الشمرا هي: ألفا–بينين، ألفا–فيلاندرين، ليمونين، فينجون، متيل–جافيكول، إستراجول، بنزن–1–ميتوكسي–4–(1–بربينيل)، د–ليمونين، 1،8–سينول، أنيسول بارا أللیل، فارنسين، كارفاكرول.

قيست السعة المضادة للأكسدة الكلية للمستخلصات الزيتية العطرية ولمحاليها المائية (المحبة والكارهة للماء) لبذور كلاً من اليانسون و الشمرا بتقنية التألق الضوئي التي ساعدت على تعيين مضادات الأكسدة في المكونات المحبة و الكارهة للماء بدقة عالية حيث كانت قيمة السعة المضادة للأكسدة الكلية عند 166.69 ± 0.42 و 363.28 ± 1.11 نانومول مكافىء/ غرام مادة جافة في كل من بذور اليانسون و الشمرا على التوالي. **جرى تحديد تسع مركبات فينولية رئيسية مع تراكيزها والتي هي معروفة كمصادر مضادات أكسدة في كل من بذور اليانسون والشمرا وذلك بتقانة HPLC.**

كلمات المفتاح: مضادات أكسدة، بذور اليانسون ، بذورالشمرا، التألق الضوئي، الزيت العطري

Abstract

The chemical components of both aniseed and fennel seeds collected from Idlib and Aleppo region in syria were identified using GC-MS spectrometry. Forty fractions components representing an average of 99.44% of the essential oil from aniseed seeds were characterized. The major average components were: Trans-Anethole Estragole, Limonine, Fenchone, Linalool, *trans*-Anethole, p-Anisaldehyde, Benzene 1-methoxy-4-(1-prpenyl)-, *cis*-Anethole.

Thirty three fractions components representing an average of 99.35% of the essential oil of fennel seeds were characterized. The major components were: α-Pinene, α-Phellandrene, Limonene, Fenchone, Methyl-chavicol, Estragole, Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-, D-Limonene, 1, 8-Cineole -, Anisole-p-allyl, Farnesene, Carvacrol.

The integral antioxidant capacity, IAC of aqueous and essential oils extracts of both aniseed and fennel seeds have been determined by means of a photochemiluminescence assay (PCL). By means of a photochemiluminescence assay, it was possible to assess the IAC with high accuracy which represents the sum of the antioxidants capacity of hydrophilic and hydrophobic components existence in both aniseed and fennel seeds. The integral antioxidant capacity for both aniseed and fennel seeds have been measured which have a value as a total equivalent per gram of dry material (TE/g DM) at 166.69 ± 0.42 and 363.28 ± 1.11 nmol, respectively. **Nine major phenolic compounds known as antioxidant resources with their concentrations have been identified in both aniseed and fennel seeds by HPLC technique.**

Key words: Antioxidant, Photochemiluminescence, essential oil, aniseed, fennel, seeds

1- المقدمة

تتميز البيئة السورية بغناها و تنوعها، فهي تحوي على العديد من النباتات الطبية والعطرية وتستعمل في الطب الشعبي لمعالجة الكثير من الأمراض كما يستعمل بعضها كإضافات منكهة و توابل للأطعمة مثل اليانسون و الشمرا. ينتشر اليانسون في إدلب بينما تنتشر الشمرا في حلب. ينتمي نبات اليانسون (Aniseed أو Anise) إلى فصيلة الخيميات Apiaceae ويعرف بالاسم العلمي *Pimpinella anisum L* و هو نبات مزهر ينتشر بشكل واسع في منطقة شرق البحر الأبيض المتوسط وفي جنوب غرب آسيا ويصنف على أنه من التوابل وله نكهة مميزة أسوة ببعض التوابل الأخرى كالشمرا و العرقسوس. يمكن أن نذكر بعض أهم فوائد مغلي اليانسون: [1, 2]

1- مهدئ للأعصاب ومسكن للمغص والسعال .

2- منشط للهضم ومدر للبول .

3- يساعد اليانسون في عمليات الولادة و في إدرار الحليب .

4- يعتبر اليانسون من الأعشاب الجيدة في اخراج القشع .

5- يدخل اليانسون في كثير من الأدوية مثل شرابات السعلة، كما يفيد في معالجة بعض أنواع الصداع وضيق التنفس و هو منبه قوي للجهاز الهضمي وفاتح للشهية كما تعد بذور اليانسون مصدراً غذائياً مهماً حيث تحتوي البذور في كل 100غرام مادة جافة على المواد و الفيتامينات و العناصر المعدنية التالية المذكورة في الجدول الأول [1] وفق تحاليل وتوصيف وزارة الزراعة الأمريكية .

الجدول 1: مكونات بذور اليانسون وفق بنك وزارة الزراعة الأمريكية

Principal **المادة الأولية**	**Nutrition Values in Anise Seeds** **القيمة الغذائية في بذور اليانسون**	**Recommended Dailey Allowance** **الكميات المسموح بها يومياً**
Energy	337 Kcal	17%
Carbohydrates	50.02 g	38%
Protein	17.60 g	31%
Total Fat	79%	15.90 g
Cholesterol	0 mg	0%
Dietary Fiber	14.6 g	38%
الفيتامينات Vitamins		
Folates	10 µg	2.5%
Niacin	3.060 mg	19%
Pantothenic acid	0.797 mg	16%
Pyridoxine	0.650 mg	50%
Riboflavin	0.290 mg	22%
Thiamin	0.340 mg	28%
Vitamin A	311 IU (**وحدة دولية**)	10.5%
Vitamin C	21 mg	35%
الأملاح المنحلة Electrolyte		
Sodium	16 mg	1%
Potassium	1441 mg	31%
المعادن Minerals		
Calcium	646 mg	65%
Copper	0.910 mg	101%
Iron	36.96 mg	462%
Magnesium	170 mg	42.5%
Manganese	2.300 mg	100%
Phosphorus	440 mg	63%
Selenium	5.0 mg	9%
Zinc	5.30 mg	48%

تعد بذور اليانسون من أهم مصادر مضادات الأكسدة الطبيعية حيث يحتوي زيته العطري على نسبة عالية من الفلافونويد Flavonoids و يصل نسبة إحدى المكونات وهو مفروق –أنيسول في زيته العطري إلى حوالي 60.1% إضافة إلى إستراجول، بارا–أنيس ألدهيد، ليمونين، ألفا بينين و أسيتوفينون [5,6].

فيما يخص بذور الشمرا Fennel seed والتي لها الإسم العلمي *Foeniculum vulgare* فهي تنتمي أيضاً إلى مجموعة الخيميات Apiaceae و هو نبات عشبي وأزهاره صفراء اللون ينتشر بشكل واسع في منطقة شرق البحر الأبيض المتوسط وعلى نطاق واسع في أجزاء كثيرة من العالم، خصوصا في التربة الجافة بالقرب من ساحل البحار وعلى ضفاف الأنهار.

بذور اليانسون بذور الشمرا

وهو عشبة عطرية و منكهة و تستخدم مطحون بذورها في الطهي والمعجنات و الأجبان جنباً إلى جنب مع بذور اليانسون. يحتوي زيته العطري على الأثينول والفينشون وليمونين وهو المسؤول عن الرائحة، ويحتوي أيضاً على فيتامين أ، ب، ج ومعادن مثل الكالسيوم والبوتاسيوم والكبريت و الفسفور. من أهم إستخداماته الطبية تكمن في المعالجات الهضمية و طرد الغازات كما يستخدم للوقاية من السرطان لإرتفاع مضادات الأكسدة فيه. يستعمل أيضاً في معالجة ارتفاع ضغط الدم و تكلسات المفاصل وهو مدر للبول والحليب عند المرضعات . تعد بذور الشمرا مصدراً غذائياً مهماً أيضاً حيث تحوي هذه البذور في كل 100 غرام مادة جافة على المواد والفيتامينات و العناصر المعدنية الواردة في الجدول[2] وفق تحاليل وتوصيف وزارة الزراعة الأمريكية.

الجدول 2: مكونات بذور الشمرا وفق بنك وزارة الزراعة الأمريكية

Principal المادة الأولية	Nutrition Values in Fennel Seeds القيمة الغذائية في بذور الشمرا	Recommended Dailey Allowance الكميات المسموح بها يومياً
Energy	345 Kcal	17%
Carbohydrates	52.29 g	40%
Protein	15.80 g	28%
Total Fat	14.87 g	48%
Cholesterol	0 mg	0%
Dietary Fiber	39.8 g	104%
الفيتامينات Vitamins		
Niacin	6.050 mg	37%
Pyridoxine	0.470 mg	36%
Riboflavin	0.353 mg	28%
Thiamin	0.408 mg	34%
Vitamin A	135 IU	4.5%
Vitamin C	21 mg	35%
الأملاح المنحلة Electrolyte		
Sodium	88 mg	6%
Potassium	1694 mg	36%
المعادن Minerals		
Calcium	1196 mg	120%
Copper	1.067 mg	118%
Iron	18.54 mg	232%
Magnesium	385 mg	96%
Manganese	6.533 mg	284%
Phosphorus	487 mg	70%
Zinc	3.70 mg	33.5%

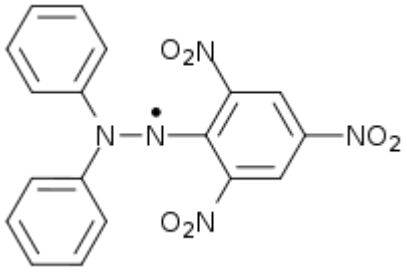
تتميز بذور الشمرا بإحتوائها على نسبة عالية من الفلافونويد على أشكال فلافون و فلافونول وهي مصدر غني بمضادات الأكسدة ومضاد للفطريات و المكروبات [7,8]. يوضح المرجع الثامن كافة المكونات الكيميائية و مضادات الأكسدة وخصوصاً لعائلة الخيميات ويشير إلى أن أهم المكونات الكيميائية في بذور الشمرا وهي مصدر الرائحة هي مفروق –أنيسول و إستراجول و فينجون.

تكتسب مضادات الأكسدة الغذائية الطبيعية أهمية قصوى في الحد من الدور التخريبي الذي تسببه الجذور الحرة بمختلف العضيات الخلوية والذي ظهر أنه السبب الأول أو المساعد في تطوير العديد من الأمراض بما فيها الأمراض التنكسية والإصابات العصيدية وربما إصابات أخرى لم تحدد آلياتها الإمراضية بعد . ويتعزز يوماً إثر يوم ونتيجة للأبحاث الكثيرة المنجزة ، التي توصي بالتناول الدائم لمضادات الأكسدة الطبيعية والتي من الممكن أن تمنع الأمراض التنكسية والإصابات العصيدية والسرطانية وتؤخر من تطورها في حالات أخرى. وهناك توصيات دائمة حول المدخول اليومي الموصى به لتناوله من قبل عموم الناس إضافة لبعض الفيتامينات مثل: الفيتامين A و الفيتامين B والفيتامين C وبعض العناصر المعدنية الهامة مثل السيلينيوم [9,10]. يلاحظ من الجدول الأول أن المصادر الهامة لمختلف العناصر المعدنية و الفيتامينات متوفرة في بذور اليانسون وهذا من أهم الأسباب التي دعت إلى الإهتمام في تلك البذور.

هناك طرائق كثيرة مستعملة لتحديد مكونات مضادات الأكسدة في النباتات الطبية والبذور وذلك على شكل كلي أو لمكونات محددة [11] ومن أهم هذه الطرائق:

1- طريقة قياس مضادات الأكسدة المكافئة للترولكسTEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) لتعيين أنيونات الجذور الحرة طويلة العمر من خلال [11].

2- طريقة DPPH لتعيين مضادات الأكسدة في مستخلصات عصائر الفواكه و الخضار بإستعمال المركب الكيميائي 2،2 ثنائي فينيل-1- بيكريلدرازيل 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl وهي مادة متبلورة عاتمة تحتوي على جذور حرة مستقرة ولها البنية التالية [12]



3- طريقة قياس معامل مضاد الأكسدة للجذور الحرة الكلية المحصورة TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) من أجل مراقبة مركبات مضادات الأكسدة نتيجة تفاعل زمر البروكسيد الحرة بشكل كامل ($ROO^{\bullet}$) مع العينة المدروسة مباشرة [12]

4- طريقة قياس شدة إمتصاص الجذور الحرة للأكسجين ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) لتعيين مضادات الأكسدة في العينات النباتية بشكل عام [13]

5- طريقة FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) و التي تحدد قوة مضادات الأكسدة نتيجة إرجاع الحديد إلى حديدي و الذي يعطي ضوء أزرق شديد عند 765 نانومتر و بوجود مادة مرجعية معلوم فيها تركيز Fe^{2+} ، فإنه بإمكان معرفة تركيز مكونات شاردة الحديدي في العينة المدروسة وبالتالي مضادات الأكسدة نسبة للمادة المرجعية . [13]

لم تستخدم تقنية التألق الضوئي الكيميائي Photochemiluminescence, PCL في تعيين مضادات الأكسدة في بذور اليانسون والشمرا من قبل الآخرين و نظراً لتوفر اليانسون والشمرا في سورية و لحساسية و دقة تقنية التألق الضوئي الكيميائي فإن العمل تركز على دراسة بذور اليانسون والشمرا المتوفرة في سورية باستعمال التقنية المذكورة و الذي يحصل لأول مرة في سورية وعلى نطاق محدود عالمياً. لقد سبق شرح كاف للطريقة المتبعة من حيث المبدأ و الدقة و كافة التفاصيل في بحث سابق ويمكن للقارئ العودة إلى تلك التقارير و إلى الورقات العلمية حيث ركزت الأبحاث والورقات المنشورة على دراسة وتعيين مضادات الأكسدة في المستخلصات النباتية والفواكه الطازجة ونبات الزعرور و الآس والزعتر السورية [14-17].

تعتمد الطريقة على قياس الفعالية المضادة للأكسدة للخلاصات النباتية بمرجعية جذور فوق أكسيد أنيونية ($O_2^{\bullet-}$) تتولد من الليمونيل عند تعرضه لضوء فوق بنفسجي. ويقترن في طريقة التألق الكيميائي الضوئي التوليد الكيميائي الضوئي للجذور الحرة بالتعيين الحساس باستخدام التألق الكيميائي. ويحدث هذا التفاعل بالتهيج الضوئي للحساس الضوئي S فينتج عن ذلك توليد الجذر الأكسيدي الفائق:

$$S + h\nu + O_2 \rightarrow \{S * O_2\} \rightarrow S^{\bullet+} + O_2^{\bullet-}$$

وتجعل الجذور الحرة مرئية بواسطة كاشف التألق الكيميائي الليمونيل، الذي يقوم بدور حساس ضوئي بالاضافة الى كونه كاشفاً لتحري جذور الأكسيجين. لقد استخدم باحثون كثر طريقة التألق لقدرتها على توفير المقارنة مع الكثير من الطرق الأخرى [18]

لا تتوافر أي معلومات علمية عن محتوى مضادات الأكسدة لكل من بذور اليانسون و الشمرا ، ولذلك كان العمل على تقدير هذه الخواص مهماً ومفيداً وبخاصة لإيجاد أحد الموارد الطبيعية لمضادات الأكسدة والذي يحدث لأول مرة في سوريا. وهكذا سيتم تقدير مضادات الأكسدة الكلية للمستخلصات الزيتية العطرية ولمحاليها المائية لبذور (المحبة والكارهة للماء) كلاً من اليانسون والشمرا بتقنية التألق الضوئي .و معرفة التركيب الكيميائي لهذه البذور أيضاً باستعمال تقانة GC-MS وربط المحتوى من مضادات الأكسدة بالتركيب الكيميائي باستعمال تقانة HPLC .

العمل التجريبي

2- المواد والطرائق

2-1 الكواشف والمواد الكيميائية و التجهيزات

جميع الكواشف والمواد الكيميائية المستعملة في عمليات الاستخلاص والتحليل(ميثانول، أسيتون، هكسان، ثنائي كلوروميتان، أسيتونتريل) ورِّدت إما من شركة ميرك أو ألدريش واستعملت كما وردت. أما الكيتات التي استعملت لتعيين القدرة المضادة للأكسدة للمواد القابلة للإنحلال في الماء والمواد المنحلة في الليبيدات فقد حصل عليها من شركة انالیتیك بينا الألمانية. أستعمل ماء رباعي التقطير و منزوع الشوارد في جميع مراحل العمل. و استعمل الأجهزة الآتية في الدراسة:

- جهاز الكروماتوغرافيا الغازية المربوط بمطياف الكتلة العضوي GC-MS- 5890 وهو من شركة Agilent الأمريكية مع برنامج تحليلي Chemstation ومكتبة البحث Willy و Nist .
- مبخر دوار مع نظام تخلية من شركة Buchi الألمانية .
- جهاز الاستخلاص البخاري للزيوت العطرية نموذج Glavenger .
- جهاز تعيين القدرة المضادة للأكسدة ®Photochem من شركة Analytik Jena الألمانية و يستغرق التحليل لكل عينة 180 ثانية .
- جهاز HPLC 1100 من Agilent .

2-2 جمع العينات

جرى جمع عينات بذور الشمرا من منطقة حلب واليانسون من منطقة إدلب وجرى التأكد من جودة البذور من حيث الصنف و النوع وخلو البذور من الشوائب و الأنواع الأخرى وذلك على ثلاث مراحل حيث جففت البذور ونظفت من أي أثر لوجود أي نوع آخر و طحنت تمهيداً لعمليات الاستخلاص. جرى تحديد المواد الفينولية كمياً في كل من بذور نباتي الشمرا و اليانسون باستعمال جهاز HPLC 1100 من Agilent

3-2 عملية استخلاص الفينولات وتعيينها بتقانة HPLC

تمت عمليتا استخلاص منفصلتين لكل من الأجزاء المنحلة في الماء وفي الليبيد لتوافر الكيتات الخاصة بتعيين مضادات الأكسدة في كل من الحالتين وللتأكد من الحصول على نتائج صحيحة. وقد اتبعت في عمليات الاسخلاص جرى أخذ 100غ من بذور الشمرا و اليانسون الجافة والمتجانسة و النظيفة كل على حدا وبعد طحنها جرى نقعها في حوالي 200 مل محلول 50/50 (ايتانول /ماء) ووضعت في حوجلة عاتمة في حمام مائي في درجة 40 درجة مئوية لمدة نصف ساعة مع التحريك بعد ذلك جرى ترشيح الرشاحة وحمضت 2N HCl و جرى استخلاصها بواسطة ايتيل أسيتات بعد ذلك بخرت العينة حتى الجفاف بواسطة المبخر الدوار ثم حلت بسائل الطور المتحرك المكون من حمض الخل و الماء و الأسيتونتريل وفق النسب:

(14%ACN/84%Water/2%Acetic Acid) وحللت بتقانة HPLC وفق الشروط التحليلية التالية:

التدفق: 0.7ml/min

العمود التحليلي: (250 mm × 4.6 mm, particle size 5 µm) Zorbax-SB-C18.

وحرارة العمود التحليلي : 30°C

الكاشف فوق البنفسجي عند طول الموجة 280 nm

يبين الجدول [3]. النسبة المئوية للزيت العطري المستخلص من بذور اليانسون و الشمرا (زمن الاستخلاص الوسطي 3 ساعات) مع بعض الخواص الفيزيائية لكل مستخلص:

النبات	المادة	النسبة المئوية للزيت العطري	اللون	قرينة الانكسار(25°C)
اليانسون	بذور	% 5.79	أصفرمخضر	1.5552
الشمرا	بذور	% 4.90	أصفر	1.5389

حللت الزيوت العطرية المستخلصة من بذور نباتي الشمرا و اليانسون و ستذكر النتائج لاحقاً باستخدام أولاً جهاز الكروماتوغرافيا الغازية Agilent GC 5890 مع كاشف التشرد بواسطة اللهب (FID) باستخدام عمود :

HP-5 MS capillary column (30 m _ 0.25 mm ID, film thickness of 0.25 µm)

والبرنامج الحراري كمايلي: الحرارة البدائية هي 60 درجة مئوية و انتظار لمدة عشر دقائق بعد ذلك 5 درجات بالدقيقة حتى تصل الحرارة إلى 225 درجة مئوية ثم الإنتظار لمدة خمس دقائق إضافية للتأكد من ثبات درجة الحرارة واستقرارية العمود و كان معدل التجزئة 1:30 والغاز الحامل هو النتروجين بمعدل تدفق 1مل/دقيقة.

من أجل الحساب الكمي النسبي المئوي للمكونات ، جرى حساب زمن الاستبقاء النسبي لـ الألكانات Alkanes حيث استعمل مزيج من تلك الألكانات، وقد تم التأكد من الحساب الكمي المئوي بحقن مزيج عياري من الألكان مؤلف من C_8-C_{26} بتركيز 40 mg/mL في الهكسان مورد من شركة Fluka .

حللت الزيوت العطرية المستخلصة من بذور نباتي الشمرا و اليانسون باستخدام جهاز الـ GC-MS 5972 MSD Agilent GC 5890 وفق شروط العمود التحليلية التالية:

Fused-silica HP-5 MS capillary column (30 m _ 0.25 mm ID, film thickness of 0.25 μm)

باستخدام الهيليوم كغاز حامل ومعدل التدفق هو 0.9 مل/الدقيقة أما البرنامج الحراري فكان مثبتاً عند 60 درجة مئوية وبعد انتظار لمدة دقيقة ترفع درجة الحرارة تدريجياً لتصل إلى 240 درجة بمعدل 3 درجات بالدقيقة و الإنتظار لمدة خمس دقائق بعد الوصول لتلك الدرجة، كانت طاقة التنشيط 70 إلكترون فولت ومجال المسح 50−350 mu ، وكانت حرارة الحاقن 220 درجة مئوية فيما كانت حرارة المدخل 240 درجة مئوية و معامل التجزئة 1:3 .

2-4- عملية الاستخلاص لقياس القدرة المضادة للأكسدة باستعمال جهاز تعيين القدرة المضادة للأكسدة

جرى تحضير المستخلص المائي لقياس القدرة المضادة للأكسدة كما يلي: استخلص 25 غرام من البذور الجافة لكل من اليانسون والشمرا المطحونة بنحو50 مل من مزيج ماء- ميثانول (70/30) باستعمال حمام فوق صوتي لمدة 30 دقيقة. رشح الناتج وأخضع مباشرة للقياس. ويجدر الذكر هنا أن كل مكون مفرد حددت هويته بمقارنة كل من طيفه الكتلي وقرينة استبقاء الكروماتوكرافيا الغازية مستخدمين مواد مرجعية قياسية مثل α- بينين و أورثو - سايمول وكارفاكرول و٧ - تيربينين و الموردة من شركة ألدريش Aldrich.

3- النتائج و المناقشة

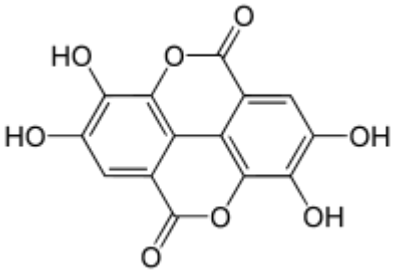
حددت المواد الفينولية الرئيسية في كل من بذور اليانسون و الشمرا نتيجة التحليل باستخدام HPLC وتم معرفة النسب المئوية للمواد الفينولية الموجودة في تلك البذور وفق الجدول [4]. :

Total Phenolics compounds % المركبات الفينولية الكلية	**بذور اليانسون %**	**بذور الشمرا %**
Ferulic acid	1.49	2.31
Carnesol	3.98	4.43
Carnosil	4.17	6.24
Ellagic acid	14.36	9.33
Gallic acid	1.24	2.49
Caffeic acid	-	3.24
Rosmarenic acid	1.33	15.44
Quercetin	3.54	14.47
Total Punicalagins	6.79	31.22

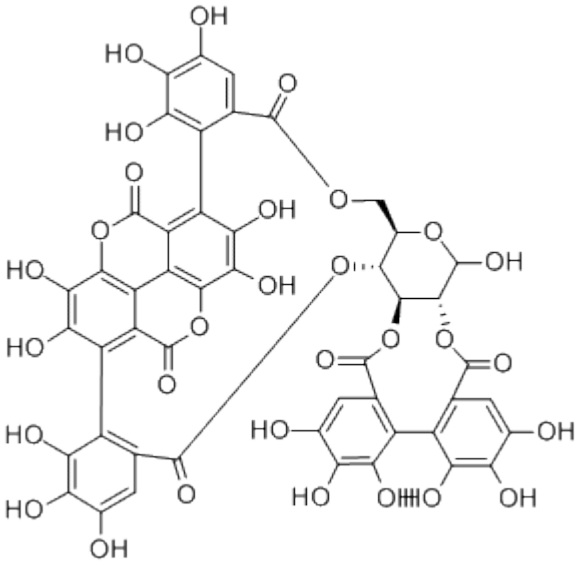
الجدول (4)

يلاحظ من الجدول [4] أن أعلى نسبة من المواد الفينولية في بذور اليانسون تعود إلى حمض الإيلاجيك حيث تبلغ النسبة 14.36% من مكونات الفينولات مع إختفاء حمض الكافيئك تماماً ويعد حمض الإيلاجيك من المصادر الطبيعية الهامة لمضادات الأكسدة وهو متوفر في كثير من الخضار و الفواكه وله البنية التالية والإسم العلمي حسب الإتحاد الدولي للكيمياء التطبيقية والبحتة IUPAC و الصيغة الجزيئية MF: $C_{14}H_6O_8$

2, 3, 7, 8-Tetrahydroxy-chromeno [5, 4, 3-cde] chromene-5, 10-dione



يلاحظ من الجدول 4 أيضا أن النسبة الأعلى من المواد الفينولية في بذور الشمرا موجودة في Punicalagins الذي له البنية التالية والصيغة الجزيئية $C_{48}H_{28}O_{30}$ و موجود في الرمان وهو مضاد أكسدة قوي و فعال جداً لكثرة الزمر الفينولية الموجودة فيه.

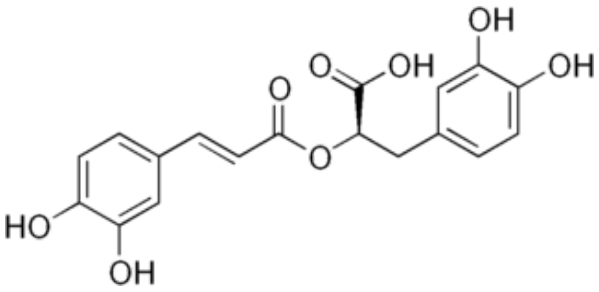


بنية الـ البنيكالاجين Punicalagins

يلاحظ أيضاً أن هناك نسبة ثانية عالية من المكونات الفينولية تعود إلى وجود حمض روزمارينك Rosmarenic acid وهو إستر حمض الكافيئك وهو مضاد أكسدة فعال لإحتوائه على زمر فينولية عديدة وله الإسم العلمي التالي لذلك حسب الإتحاد الدولي للكيمياء التطبيقية والبحتة الـ IUPAC والصيغة الجزيئية $C_{18}H_{16}O_8$:

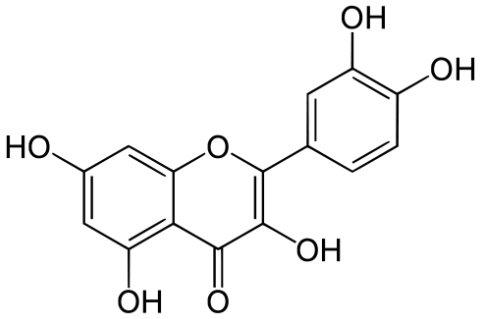
(2"R")-2-[[(2"E")-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-1-oxo-2-propenyl]] oxy]-3-(3, 4-dihydroxyphenyl) propanoic acid

وله البنية الكيميائية التالية:



بنية حمض روزمارينك

أما المكون الرئيسي الثالث في بذور الشمرا فهو الكوريستين Quercetin وهو من مصادر مضادات الأكسدة الموجودة في الأغذية و النباتات الطبية لإحتوائه على زمر فينولية عديدة. لـ الكوريستين البنية الكيميائية التالية:



بنية الكوريستين

كما أن الإسم العلمي للكوريستين وفق الإتحاد الدولي للكيمياء التطبيقية والبحتة والصيغة الجزيئية $C_{15}H_{10}O_7$:

2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-3, 5, 7-trihydroxy-4H-chromen-4 -one

بلغت النسبة المئوية للمكونات الفينولية الثلاثة من المحتوى الكلي في بذور الشمرا حوالي 61% وهي مصادر مضادات أكسدة طبيعية وبالتالي تعد بذور الشمرا مصدراً طبيعياً هاما لمضادات الأكسدة يمكن الإستفادة منه.

يبين الجدول(5) مكونات المواد المفصولة من الزيت العطري لبذور اليانسون مع تراكيزها من خلال تحليل الخلاصة بتقنية الـ GC-MS وقد أظهرت النتائج أن المحتوى الأساسي للمكونات في الزيت العطري مع نسبها:

Trance-Anethole Estragole, (4.35 %), Limonine, (6.54%), Fenchone, (2.11%), Linalool, (1.17%), Trance-Anethole, (41.2%), *p*-Anisaldehyde, (3.24%), Benzene 1-methoxy-4-(1-prpenyl) - *cis*-Anethole, (19.37%).

جرى التأكد من الحساب الكمي المئوي بحقن مزيج عياري من الألكان مؤلف من C_8-C_{26} بتركيز 40 mg/mL في الهكسان مورد من شركة Fluka. بلغت نسبة المكونات الكلية المحددة حوالي 99.44%. تجدر الإشارة أن أهم المكونات الرئيسية في بذور اليانسون من الأربعين المحددة هي: ترانس–انيسول إستراجول، ليمونين، فينجون، لينالوول، ترانس أنيسول، باراأنيس ألدهيد، بنزن–1–ميتوكسي–4–(1–بربينيل)– سيس أنيسول.

الجدول 5 التراكيز للمركبات الفعالة الموجودة في الزيت العطري لبذور اليانسون والتي جرى فصلها بتقانة الـ GC-MS

الرقم	مكونات المواد المفصولة في بذور اليانسون Separated Components Fraction in Aniseed Seeds	تركيز المكونات mg/g × 1000 = ppm
1	**α-Pinine**	**0.59**
2	**Camphene**	**0.11**
3	**Sabinene**	**0.42**
4	**Beta-Pinene**	**0.09**
5	**B-Myrcene**	**0.28**
6	**αphellandrene**	**0.07**
7	**p-Cymene**	**0.87**
8	**Limonine**	**6.54**
9	**1.8-Cineol**	**0.04**
10	**Gama-Terpenen-**	**0.74**
11	**Fenchone**	**2.11**
12	**Linalool**	**1.17**
13	**cis-Linalool oxide**	**0.06**
14	**trans-Linalool oxide**	**0.18**
15	**Estragole**	**4.35**
16	**p-Anisaldehyde**	**0.26**
17	***Trance*-Anethole**	**41.2**
18	**cis-Menthone**	**1.21**
19	**a-copaene**	**0.11**
20	**Anisalketone**	**0.04**
21	**β-Farnesene**	**0.07**
22	**Germacrene**	**0.48**
23	**Methyl-isoeugenole**	**0.14**
24	**Gama-Cadinene**	**0.42**
25	**p-Anisaldehyde**	**3.24**
26	**Camphor**	**0.28**
27	**Bycyclo[2,2,1]heptan-2-one,1,3,3- trimethyl,**	**5.11**
28	**Benzene,1-methoxy-4-(1-prpenyl)-, *cis*-Anethole**	**19.37**
29	**Benzene,1-methoxy-4-(1-prpenyl)-, *trans*-Anethole**	**1.19**
30	**Eucalyptol**	**0.33**
31	**Cyclohexane.6-ethenyl-6-methyl-1-(1-methylethyl(1H)-3-(1-methylethylidene)-(s)**	**2.92**
32	**3-Carene**	**0.21**
33	**1,8-Cineole**	**0.91**
34	**Carvone**	**0.17**
35	**Estragole**	**1.34**
36	**Eugenol**	**0.05**
37	**α-Bergamotene**	**0.07**
38	**β-Bisabolene**	**0.27**
39	**Farnesol**	**0.29**
40	**Ecalyptol**	**2.14**
	Total	**99.44**

يبين الجدول(6) مكونات المواد المفصولة من الزيت العطري لبذور الشمرا مع تراكيزها من خلال تحليل الخلاصة بتقنية GC-MS وقد أظهرت النتائج أن المحتوى الأساسي للمكونات في الزيت العطري مع نسبها:

α-pinene, (1.65%), α –phellandrene, (2.9%), limonene (5.21%), fenchone, (1.36%), (Methyl-chavicol) (1.71%), estragole, (5.75%), Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)- cis – Anethol (36.37%), D-Limonene, (5.21%), 1,8-cineole-, (2.34%), Anisole-*p*-allyl, (17.41%), Farnesene (3.29%), Carvacrol (3.17%).

جرى التأكد أيضاً من الحساب الكمي المئوي بحقن مزيج عياري من الألكان مؤلف من C_8-C_{26} بتركيز 40 mg/mL في الهكسان المورد من شركة Fluka. بلغت نسبة المكونات الكلية المحددة حوالي 99.35%. تجدر الإشارة أن أهم المكونات الرئيسية في بذور الشمرا هي: ألفا–بينين، ألفا–فيلاندرين، ليمونين، فينجون، متيل–جافيكول، إستراجول، بنزن–1–ميتوكسي–4–(1–بربينيل)– سيس أنيسول ، د–ليمونين، 1،8–سينول، أنيسول بارا أللیل، فارنسين، كارفاكرول.

أظهرت الدراسة أن هناك ترابط بين محتوى نبات الشمرا و اليانسون من مضادات الأكسدة و الفينولات و التركيب الكيميائي معبراً عنه بالنسبة المئوية الكمية للزيت العطري (الجدول 4) كما بينت أن بذور الشمرا و اليانسون يعتبران مصدراً طبيعياً هاماً لمضادات الأكسدة نظراً لمحتواهما العالي من الفينولات و مضادات الأكسدة.

هناك تطابق كبير بين محتوى بذور اليانسون و الشمرا من المركبات الفعالة وأن أعلى تركيز هو 19.37 و 36.37 mg/g على الترتيب لمكون Benzene,1-methoxy-4-(1-prpenyl)-, الذي يكون إما على شكل *cis*-Anethole أو *trans*-Anethole لكن الغالبية العظمى تكون من النوع *cis*-Anethole وهذا ماتم ملاحظته في بذور اليانسون و الشمرا.

الجدول (6) يبين التراكيز للمركبات الفعالة الموجودة في الزيت العطري لبذور نبات الشمرا والتي جرى فصلها بتقانة الـ GC-MS

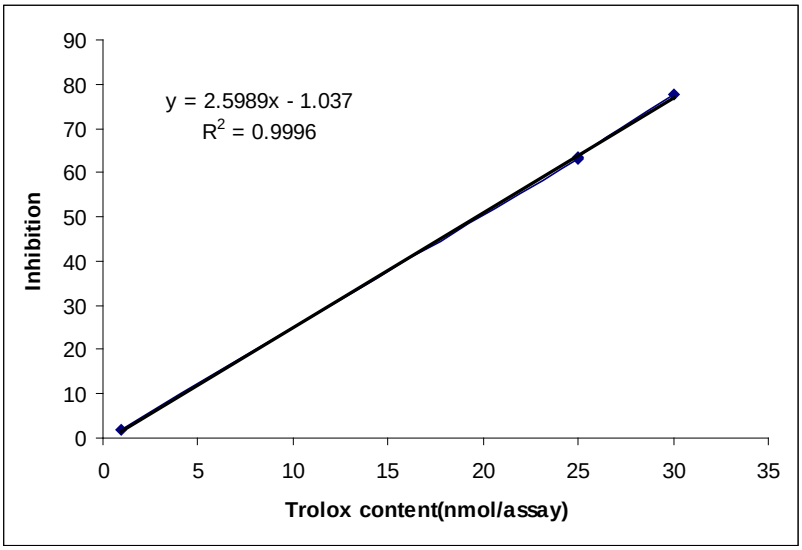
الرقم	مكونات المواد المفصولة في بذور الشمرا Separated Components Fraction in Fennel seeds	تركيز المكونات mg/g × 1000 = ppm
1	1R- α -Pinene	1.65
2	β-Phellandrene	1.39
3	β-Myrcene	0.97
4	α -Phellandrene	2.90
5	β- Pinene	1.24
6	Limonine	5.21
7	Bicyclo(2.2.1)heptan-2-one,trimethyl	3.42
8	Anisole-p-allyl	17.41
9	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)- *cis*-Anethole	36.37
10	3-Allyl-6-methoxyphenol	0.95
11	2-propanone.1-(4-methoxyphenyl)	0.25
12	Dodecanal	0.17
13	Estragole	5.75
14	1,6-cyclodecadien.1-methyl-5-methylene-8-(1 methylethyl)-(s-(E,E))	0.32
15	Methyl iso-eugenol 2	0.15
16	Apiol	1.45
17	3-Cyclohexene-1-methanol, à,à,4-trimethyl-propanoate	0.02
18	Copaene	0.11
19	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)	0.14
20	1-(3-Methyl-2-butenoxy)-4-(1-propenyl)benzene	0.16
21	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl	0.28
22	Methyl chavicol	1.71
23	Fenchone	1.36
24	Gamma-Terpinene	1.12
25	ortho-Cymene	2.13
26	Fenchyl acetate	1.42
27	1,8-cineole	2.34
28	Carvacrol	3.17
29	Anisaldehyde	0.93
30	Farnesene	3.29
31	Bergamoil	0.63
32	α-terpineol	0.26
33	9.12-Octadecadienoic acid	0.68
	Total	99.35

جرى تعيين القدرة المضادة للأكسدة لبذور اليانسون و الشمرا بتقنية التألق الضوئي للمستخلصين المائي والليبيدي الانحلال. وبالرغم من انخفاض تركيز مضادات الأكسدة المنحلة في الماء لكلا البذار من الجدير الجدير بالذكر الى هذه التعيينات، ومع ذلك فان القياسات بينت أن مضادات الأكسدة الرئيسية ناتجة في الواقع عن الزيت العطري لكلا النوعين من البذور. يبين الجدول 7 نتائج قياس مضادات الأكسدة للمستخلص المائي والليبيدي لبذور اليانسون و الشمرا بواحدة نانومول في الغرام من المادة الجافة . يمكن الاستنتاج من الجدول 7 أن التركيز الرئيسي لمضادات الأكسدة الرئيسية للمستخلص المائي و والليبيدي في بذور الشمرا أعلى من بذور اليانسون والتي كانت في المستخلص المائي 47.17 ± 0.42 وللمستخلص الليبيدي 316.11 ± 0.30 نانومول/غرام. وبالتالي يكون مضادات الأكسدة الكلية المنحلة في الماء و الشحوم 363.28 ± 1.11 مكافئ ترولكس بال نانومول لكل غرام من بذور الشمرا وهي حوالي ضعف الكمية الموجودة في بذور اليانسون.

الأنواع النباتية	Water-soluble antioxidant (ACW) مضادات الأكسدة المنحلة في الماء	Lipid-soluble antioxidant (ACL) مضادات الأكسدة المنحلة في الشحوم	integral antioxidant capacity (ACW +ACL) مضادات الأكسدة الكلية المنحلة في الماء و الشحوم
	Trolox equivalent per gram of dry matter of leaves, DM / nmol* مكافئ ترولكس بال نانومول لكل غرام من بذور الشمرا و اليانسون		
بذور الشمرا	47.17 ± 0.42	316.11 ± 0.30	363.28 ± 1.11
بذور اليانسون	11.32 ± 0.17	155.37 ± 0.32	166.69 ± 0.42

* القيم المعطاة هي قيم وسطية والانحراف المعياري ±SD لثلاثة قياسات مستقلة

يبين الشكل 1 الخط البياني لمحتوى الترولكس لقياس مضادات الأكسدة المنحلة في الشحوم ACL والذي يتم القيام به قبل إجراء التحاليل الكمية لعينات مجهولة.



بينت الدراسات العالمية أن المادة الأساسية المسئولة عن مضادات الأكسدة في بذور اليانسون هي مفروق و مقرون أنيسول والتي تصل إلى نسبة (90.1%) من محتوى الزيت العطري لبذور اليانسون بإتباع طريقة DPPH وتبدي هذه المادة خواص مضادة للأكسدة أكثر من المواد التي تضاف للأغذية لمنع تفسخها مثل: BHA, butylated hydroxyanisole و BHT, butylated hydroxytoluene [19]. بالعودة إلى مكونات بذور اليانسون في الجدول 5 فإن محتوى هذه البذور من مفروق و مقرون أنيسول يصل إلى حوالي 60.57 mg/g من محتوى الزيت العطري. ينطبق ذلك أيضاً على بذور الشمرا حيث المركبات المسئولة عن مضادات الأكسدة تعود إلى مركبات الأنيسول و مشتقاتها المختلفة.

يوصى بتناول مزيج مغلي بذور اليانسون و الشمرا للفائدة الكبيرة لأنها مصدر طبيعي متوفر في سورية كمضاد للأكسدة و لما لها من فوائد طبية تتجلى في المعالجات الهضمية و طرد الغازات كما يستعمل للوقاية من السرطان لارتفاع مضادات الأكسدة فيها. كما تستخدم أيضاً في معالجة ارتفاع ضغط الدم و تكلس في المفاصل وفي إدرار البول والحليب عند المرضعات كما تحتوي على فيتامينات أ، ب، ج، ث ومعادن مثل الكالسيوم والبوتاسيوم والكبريت و الفسفور و السيلينيوم وهو عنصر هام جداً لمعالجة السرطان.

References

[1] USDA National Nutrient Data Base, (United State Department of Agriculture) Nutrient Data Laboratory USDA-ARS, 10300 Baltimore Avenue Building, 005, BARC-West Beltsville, MD 20705-2350, USA

[2] 2001 موسوعة التداوي بالنباتات الطبية، د. محمد العودات، الأهالي للطباعة و النشر، سورية، دمشق،

[3], G Singh, I.P.S Kapoor. , P. Singh, C.S. de Heluani, C.A.N Catalan, *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, **2**, Number 3, pp. 122-130, 2008

[4] D. J. Charles, *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*, chapter 8 (Anise) 159-164, Springer, New York, 2013

[5] D. J. Charles, *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*, chapter 25 (Fennel) 287-293, Springer, New York, 2013

[6] Y. Gebhardt, S. Witte, G. Forkmann, R.Lukačin, U. Matern, S. Martens, *Phytochemistry*, 66, 1273–1284, 2005

[7] E. Besco, E. Braccioli, S. Vertuani, P. Ziosi, F. Brazzo, R. Bruni, G. Sacchetti and S. Manfredini, *Food Chemistry*, **102**,1352-1356, 2007

[8] C. Sanchez-Moreno, *Food Sci Tech. Inter*., **8**, 121-137, 2002

[9] N. J. Miller, A.T. Diplock, C. Rice-Evans, M. J. Davis, V. Gopinathan and A. Milner, *Clinical Science*, **84**, 407-412, 1993

[10] A. Romani, R. Coinu, S. Carta, P. Pinelli, C. Galardi, F. Vincieri. and F Franoconi, *Free Radical Research*; **38**: 97-103. 2004

[11] A. Ghiselli, M. Serafini, F. Natella, and C. Scacccini, *Free radical Bio and Medicine*, **29**, 1106-1114, 2000

[12] G. Cao and R. L. Prior, *Clinical Chemistry* **44**, 1309-1315, 1998

[13] I. F.F. Benzie and J. J. Strain, *Anal Biochem*, **239**, 70-76, 1996

[14] G. Zayzafoon, A. W. Allaf and A. Odeh**,** AECS-CH/FRSR, **426**, March, 2009

[15] G. Zayzafoon, A. Odeh, M. Ibrahim, and A. W. Allaf, *Herba Polonica*, **56**, 47, 2010

[16] G. Zayzafoon, A. Odeh, Y. Mahzia and A. W. Allaf, *Herba Polonica*, **57**, 5, 2011

[17] G. Zayzafoon, A. Odeh, and A. W. Allaf, *Herba Polonica*, **58**, 70, 2012

[18] I. Popov, and G. Lewin, Antioxidative homeostasis: In L. Packer, *Oxidants and Antioxidants, part B*, **300**, 96-100, Academic Press, 1999.

[19] G. Singh, I.P.S. Kapoor, P. Singh, C.S. de Heluani and C.A.N. Catalan, Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and oleoresins from anise seeds (*Pimpinella anisum* L.), *International Journal of Essential Oil Therapeutics*,**3**, 122-130, 2008.

بيانات مجلس الإدارة

تعيين القدرة المضادة للأكسدة و التركيب الكيميائي لبذور اليانسون و الشمرا باستخدام تقنية التألق الكيميائي الضوئي و الكروماتوغرافيا الغازية مع طيف الكتلة

ك: عدنان عودة

8- خلاصة العمل:

عينت المكونات الكيميائية لبذور اليانسون و الشمرا بتقنية مطيافية الكتلة المرتبطة مع الكروماتوغرافية الغازية. تم تعيين أربعون مكوناً والتي تمثل نحو 99.44% من كمية الزيت العطري لبذور اليانسون. تبين أن المكونات الرئيسية في بذور اليانسون هي: ترانس-انيسول إستراجول، ليمونين، فينجون، لينالوول، ترانس أنيسول، باراأنيس ألدهيد، بنزن-1-ميتوكسي-4-(1-بربينيل)، سيس أنيسول.

جرى تعيين ثلاث وثلاثون مكوناً والتي تمثل نحو 99.35% من كمية الزيت العطري لبذور الشمرا . وكانت المكونات الرئيسة في بذور الشمرا هي: ألفا-بينين، ألفا-فيلاندرين، ليمونين، فينجون، متيل-جافيكول، إستراجول، بنزن-1-ميتوكسي-4-(1-بربينيل)، د-ليمونين، 8،1-سينول، أنيسول بارا أليل، فارنسين، كارفاكرول.

قيست السعة المضادة للأكسدة الكلية للمستخلصات الزيتية العطرية ولمحاليها المائية (المحبة والكارهة للماء) لبذور كلاً من اليانسون و الشمرا بتقنية التألق الضوئي التي ساعدت على تعيين مضادات الأكسدة في المكونات المحبة و الكارهة للماء بدقة عالية حيث كانت قيمة السعة المضادة للأكسدة الكلية عند 166.69 ± 0.42 و 363.28 ± 1.11 نانومول مكافىء/ غرام مادة جافة في كل من بذور اليانسون و الشمرا على التوالي. جرى تحديد تسع مركبات فينولية رئيسية مع تراكيزها والتي هي معروفة كمصادر مضادات أكسدة في كل من بذور اليانسون والشمرا.

9- الجديد في العمل:

جرى تعيين أكثر من 99% من مكونات الزيت العطري لبذور اليانسون و الشمرا وقياس السعة المضادة للأكسدة الكلية للمستخلصات الزيتية العطرية ولمحاليها المائية لبذور كلاً من اليانسون و الشمرا بتقنية التألق الضوئي والذي يتم لأول مرة مع تعيين المركبات الفينولية وهي المصدر الأساسي لمضادات الأكسدة في البذور المدروسة.

10- نتائج العمل و أهمية النتائج:

كانت قيمة السعة المضادة للأكسدة الكلية عند 166.69 ± 0.42 و 363.28 ± 1.11 نانومول مكافىء/ غرام مادة جافة في كل من بذور اليانسون و الشمرا على التوالي حيث تعد هذه التراكيزعالية نسبياً. جرى تحديد تسع مركبات فينولية رئيسية مع تراكيزها والتي هي معروفة كمصادر مضادات أكسدة في كل من بذور اليانسون والشمرا وبالتالي تعد بذور اليانسون و الشمرا مصدراً طبيعياً غنياً بمضادات الأكسدة

11- علاقة النتائج بما أنجز من دراسات و بحوث عالمياً:

هناك دراسات عالمية حول البحث عن إيجاد مصادر طبيعية لمضادات الأكسدة في النباتات الطبية والنتائج المسجلة تتوافق مع ماتم ملاحظته حول بذور اليانسون والشمرا بتقنيات و طرق أخرى و نستخدم في الدراسة تقنية التألق الضوئي لأول مرة

12- علاقة النتائج بما أنجز من دراسات وطنية محلية:

لاتوجد دراسات محلية تبين المحتوى الكيميائي و مصادر مضادات الأكسدة مع قياس السعة المضادة للأكسدة الكلية للمستخلصات الزيتية العطرية والمائية بدقة عالية باستعمال تقنية التألق الضوئي لبذور اليانسون و الشمرا

14- المجال التطبيقي:

إعتماد النباتات المدروسة من بذور اليانسون و بذور الشمرا كمصادر طبيعية لمضادات الأكسدة وينصح بتناول مغلي تلك البذور لأهميتها الغذائية و الطبية

15- مكان تطبيق النتائج:

العناية و الوقاية الطبية وفي المخابر الصيدلانية و في معامل الأدوية والصناعات الغذائية

16- دور النتائج في خدمة التنمية:

جرى تسليط الضوء على أهمية بذور اليانسون والشمرا من أجل إعتمادها مصدراً من مصادر مضادات الأكسدة يخدم المجتمع ويعتبر رافداً مهماً على صعيد صحة الأفراد

18- الجهات الوطنية التي قد تستفيد من تطبيق نتائج التقرير:

الجهات المهتمة بالصناعات الدوائية والصناعات الغذائية

19- الجهات الوطنية المقترح إعلامها بملخص عن نتائج التقرير:

الجهات المهتمة بالصناعات الدوائية والصناعات الغذائية

20- الجهات الوطنية المقترح تزويدها بنسخة عن التقرير:

الهيئات العلمية والجامعات ومخابر وزارة الصحة و كلية الصيدلة و الطب ومعامل الأدوية