دراسة الفعالية البايولوجية للزيت المعزول من بذور نبات القهوة

بشرى عبد المحسن عبد العزيز

جامعة البصرة /كلية العلوم /قسم الكيمياء

الاستلام 2005/11/17, القبول 2006/2/5

الخلاصة

تم الحصول على مستخلص دهني فعال بايولوجيا من مسحوق بذور القهوة .وقد شخص المستخلص الدهني بأعتماد طرق التشخيص المعروفة مثل تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة واستخدام طيف الاشعة تحت الحمراء.
كما قدرت الفعالية البايولوجية للمستخلص الدهني ضد نمو نوعين من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهي *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* وقد اظهرت النتائج قدرة المادة المستخلصة على تثبيط نمو كلا النوعين من الجراثيم .

المقدمة–

دخلت القهوة حياة الشعوب منذ بضعة قرون وعرفها العرب بعد ان احتك بالشرق في عصر الامبراطورية العثمانية ثم انتشر استعمالها في كل بلاد العالم حتى أصبحت حاجة قلما يخلو بيت منها ويستعمل لفظ القهوة او البن في لغات عديدة مع تحوير بسيط في اللفظ مثل كافي , كافا ,كوفي [1]
ويعتقد أن اسم القهوة (coffee) جاء من كلمة (kaffa) وهي مقاطعة في الجزء الجنوبي الشرقي من اثيوبيا التي كانت فيما مضى مملكة مستقلة اشتهرت بحدودها المغلقة ويبدو انها الموطن الاصلي للقهوة [2]. وقد عرف العرب تأثيرها في الجسم منذ زمن بعيد فهي تبعث على النشاط والحيوية واليقظة ووجدو ان هناك علاقة بين شرب القهوة وفقدان الشهية للطعام وقلة النوم وازدياد الادرار وتعد القهوة منبهة للقلب وتسبب ازالة الشعور بالتعب وحالات الاجهاد العقلي والجسدي [3]. كما تعد القهوة مادة قابضة في حين ان كثرة شرب القهوة يؤدي الى زيادة ضربات القلب والارق ورعشة الاطراف والنحول وارتفاع ضغط الدم [4].
تتميز بذور القهوة العربية (arabian coffee) بمحتواها الدهني العالي مقارنة مع القهوة غير العربية من نوع الروبستا coffee robusta لكنهما يتشابهان في المحتوى الدهني الذي يتضمن الكلسيريدات الثلاثية ,استرات كحول التربينات الثنائية diterpene alcohol ester(DTE) ستيرولات sterols (ST) ,استرات الستيرول sterol ester(STE) ومواد قطبية polar material(PM) والتي تتضمن كحول التربينات الثنائية الحرة free diterpene alcohol DTA) ودهون فوسفاتية phospholipids (PL) . [5] وكما مبين في (الجدول 1) .

جدول (1) التركيب والمحتوى الدهني لبذور القهوة المحمصة [5]

composition (% total lipid)

Cofee variety	lipid	STE	TG	DTE	ST	PM
Coffee arabic	15.5	0.1	82.8	12.5	1.5	3.1
Coffea robusta	9.8	0.1	81.7	15.1	1.3	1.9

هدف الدراسة

عزل الزيت من مسحوق بذورنبات القهوة ودراسة الفعالية البايولوجية
له ضد نمو نوعين من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام .

اولا:المواد وطرائق العمل

العزلات القياسية

1- ***Staphylococcusaureus ATCC25923***
2- ***Escherichia coli ATCC25922***

المواد الكيميائية

جهزت المواد الكيميائية من الشركات التالية
خلات الاثيل ethyl acetate ,بتروليوم ايثر petroleum ether من شركة BDH
هكسان n- hexane من شركة Merck.

ثانيا: طرائق العمل

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

1-عزل الزيت

عزل زيت القهوة بطريقة الاستخلاص المستمر soxhlet continous extraction وبأستعمال البتروليوم أيثر كمذيب وذلك بأستخدام 10 غراما من مسحوق بذور القهوة وضعت في جهاز الاستخلاص لمدة 8 ساعات بعدها عزل الزيت عن المذيب بأستخدام المبخر الدوار rotary evaporator المجهز من شركة Rotavapor RE,Buchi وكان وزن الزيت الناتج 0.899 غراما .[6]

2-تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة

استخدمت تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة على زيت القهوة بتحميل 10 مايكروليتر منه على صفائح رقيقة مطلية بهلام السليكا(20×20) سم وباستعمال خليط n-hexane:ethyl acetate كنظام تصعيد وبنسبة (17:3) وكان الزمن المستغرق 15 دقيقة جففت الصفيحة بعدها وتم اظهار البقع المفصولة باستعمال :

1-مصباح الاشعة فوق البنفسجية ultraviolet عند الطول الموجي 366 نانومتر .[6]

2-اليود

3-الدراسة الطيفية

تم قياس طيف الاشعة تحت الحمراء Infrared spectrum لعينة من الزيت المستخلص من القهوة بأستعمال البتروليوم ايثر وبأستخدام جهاز طيف الاشعة تحت الحمراء

pye-unicom Sp-300s Infrared spectrophotometer وباستخدام اقراصNaCl وطبقة رقيقة من المادة اللزجة.

4-تقدير الفعالية البايولوجية

حددت الفعالية البايولوجية لمستخلص زيت القهوة بالبتروليوم ايثر ضد نوعين من العزلات الجرثومية القياسية الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهي

Escherichia coli ATCC25922 **and** ***Staphylococcusaureus***

ATCC25923 .[7] وبتركيز مقدارة 2 ملغم /مل.

النتائج والمناقشة

1- **نتائج مستخلص زيت القهوة**

حسبت النسبة المئوية الوزنية للزيت المستخلص من مسحوق القهوة بأستعمال البتروليوم أيثر كمذيب وكانت النسبة المئوية 8.99% .

2-كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة للزيت المعزول من مسحوق القهوة

اظهرت نتائج كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography(TLC) للتعرف على العوائل الكيميائية الموجودة في الزيت المعزول من مسحوق القهوة وبأستخدام البتروليوم ايثر كمذيب حيث احتوى الزيت على ثلاث مكونات عند الاستظهار بالاشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 366 نانومتر وست مكونات عند الاستظهار باليود .والجدول (2) يوضح ذلك

اذ يلاحظ من نتائج استظهار كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة للزيت المعزول بالكواشف المبينة بالجدول (2)ظهور ثلاث بقع متقاربة بين الكاشفين تمتلك قيم **R**F(0.05 ; 0.15; 0.9) و (0.06; 0.18 ;0.9)

على التوالي كما لوحظ عند الاستظهار باليود وجود ثلاث بقع اضافيةهي (**0.8,0.56, 0.38**.) وهذا يعني وجود ست مركبات دهنية في الزيت المعزول من مسحوق القهوة باستخدام البتروليوم ايثر.

وقد أظهرت الدراسات[5] ان بذور القهوة العربية تحتوي على انواع من الدهون تتضمن الكلسيريدات الثلاثية TG استرات كحول التربينات الثنائية DTE, ستيرولات واسترات الستيرول STEو مواد قطبية PM والتي تتضمن كحولات التربينات الثنائية الحرة (DTA) Free diterpene alcoholsودهون فوسفاتية .

جدول (2) كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة لزيت القهوة.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

المادة/الكاشف	UV366	I2
الزيت المعزول من القهوة	3 Spot RF1= 0.05 RF2 = 0.15 RF3 = 0.90	6 Spot RF1=0.06 RF2=0.18 RF3=0.38 RF4=0.56 RF5 = 0.80 RF6 =0.90

RF :معدل السريان (rate of flow)

3-الدراسة الطيفية

سجل طيف الاشعة تحت الحمراء للزيت المعزول من مسحوق القهوة بأستخدام البتروليوم ايثر كمذيب ويوضح الجدول (3) والشكل (1) اهم حزم الامتصاص في الطيف والمجاميع التركيبية العائدة لها والمشخصة [8].

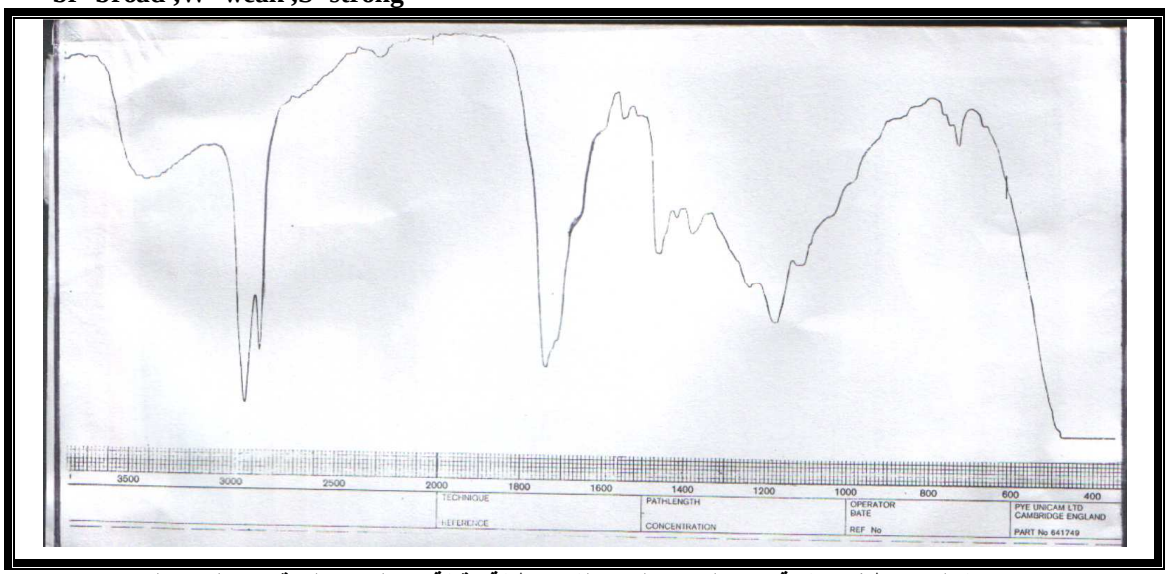
من ملاحظة طيف الاشعة تحت الحمراء شكل (1) وجدول (3) يظهر وجود مجموعة **(OH)** الكحولية عند الطول الموجي (3450) سم-1وهذة المجموعة عائدة الى الستيرولات و كحول التربينات الثنائية

حيث أشارت الدراسات الى أن التربينات الثنائية هي مركبات دهنية موجودة في مسحوق بذور القهوة والتربينات الثنائية الرئيسية الموجودة في القهوة هي cafestol , kahweol وهذة المركبات موجودة بشكل حر ومؤستر [9]. كما اظهر الطيف وجود مجموعة **(C=C)** عند الطول الموجي (1460)سم-وهذة الاصرة موجودة ضمن التركيب الكيميائي لمركب kahweol كما اظهر الطيف وجود مجموعة **(C-O-C**)عند الطول الموجي (1160)سم-1 وقد اشارت الدراسات احتواء زيت القهوة على استرات الستيرول واسترات كحول التربينات الثنائية والكلسيريدات الثلاثية [5].

جدول (3) حزم الامتصاص والمجاميع التركيبية للزيت المعزول من مسحوق القهوة

الحزمة الظاهرة (سم-1)	المجموعة الكيميائية الفعالة
3450	- OH Stretch (alcohol) (br),(H-bonding)
2920 ,2860	Asym and sym CH3 Stretching(S)
1730	-C=O Stretching (S)
1460	-C=C alkene (W)
1160	C-O-C Stretch in ester (W)

br=broad ,W=weak ,S=strong



شكل (1) طيف الاشعة تحت الحمراء لزيت القهوة(طبقة رقيقة من الزيت على قرص كلوريد الصوديوم)

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

4- تقدير الفعالية البايولوجية لمستخلص مسحوق القهوة .

اظهر المستخلص الدهني لمسحوق القهوة والمستخلص بالبترواليوم ايثر فعالية واضحة ضد نمو الجرثومتين القياسيتين الموجبة والسالبة لصبغة كرام
E. coli ATCC25922 and S.aureus ATCC25923 على التوالي وان فعالية المستخلص في تثبيط نمو الجرثومة الموجبة لصبغة كرام القياسية ***S.aureus*** كانت اعلى من العزلة السالبة لصبغة كرام **اذ** اظهر المستخلص قدرة تثبيطية اقل على العزلة السالبة لصبغة كرام وكما مبين في الجدول (4) .
وقد يعزى السبب في ذلك الى ان الطبيعة الفسلجية لجدار الجراثيم السالبة لصبغة كرام المتكون من طبقة دهون سميكة مقارنة مع نظيرتها في جدران الخلايا الجرثومية الموجبة لصبغة كرام اذ تكون اقل سمكا ولذلك تمكنت المكونات الكيميائية لمستخلص الزيت من مسحوق القهوة من اختراق طبقة جدار الجرثومة والتأثيرعليها ومن ثم تثبيط النمو ولايحدث ذلك في الجراثيم السالبة لصبغة كرام الا اذا كانت المستخلصات قد استخدمت بتراكيز عالية جدا [10].
وأظهرت الدراسات أن بذور القهوة تحتوي على التربينات الثنائية [11] ومن التربينات الثنائية الرئيسية في القهوة هي cafestolو kahweol التي توجد بشكل حر ومؤستر [9] .وبما ان هذة المركبات ذات طبيعة كحولية (مركبات كحولية)أي تحتوي على مجاميع الهيدروكسيل(OH-) والمعروف عن المركبات الكحولية انها تكون ذات فعالية بايولوجية مميزة نسبة لمجاميع الهيدروكسيل في تركيبها .اذ كلما زاد عدد هذة المجاميع في المركب زادت قدرتة السمية لتثبيط الاحياء المجهرية الدقيقة لانها سوف تكون معقدات مع البروتينات المكروبية ومن ثم تؤثر في طبيعة نمو الكائن .[12].

جدول (4) الفعالية البايولوجية لمستخلص زيت القهوة

العزلة الجرثومية	فترة الحضن (ساعة)	قطر منطقة التثبيط (ملم) المستخلص بالبترواليوم ايثر
S.aureus ATCC25923	24	2.5
E.coli ATCC25922	24-48	1

المصادر :-

1- التوني ,عبد الحميد"ألبن أوالقهوة ".الدواء العربي , السنة السادسة عشرة – العدد الاول,المملكة العربية السعودية (1997) .

2 - ألبنا ,غازي وحجازي,عبد العال"بساتين الفاكهة مستديمة الخضرة".الدار العربية للنشر والتوزيع ,القاهرة (ترجمة/من تأليف (وليام هنري تشاندلر) (1987).

3- سعد ,شكري أبراهيم والقاضي ,عبدالله وصالح ,عبد الكريم محمد وخلف ,عبدالله وعبد العزيز ,محمد ."النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي ".الخرطوم ,المنظمة العربية للتنمية الزراعية ,السودان (1988).

4-مفتاح ,رمزي "احياء التذكرة في النباتات الطبية والمفردات العطارية ".الطبعة الاولى ,شركة مكتبة ومطبعة مصطفى البابي الحلبي واولادة ,مصر. (1953).

5-Ratnayake , W.M.N ; Hollywood ,R. ; O'Grady , E. and Stavric , B. Lipid content and composition of coffee brews prepared by different methods .*Fd.Chem.Toxic.*,31(4):263-269. (1993).

6-Harborne ,J.B., "Phytochemical Methods" .2nd ed .Chapman and Hall, London ,New york ,U.S.A. (1984).

7-Joreme,J .; Berry ,J. and Staley ,T.Microbiology dynamic and diversity .Sannders College Publishing :880-881 (1997).

8- Silverstein,R.M.;Bassler,G.C.,and Morril,T.C. Spectrometric identification of organic compound.4th ed. Johnwiley and Sons;Inc, USA.(1997).

9-Urgert,R. Health effects of unfiltered coffee:Diterpenes in coffee and their effects on blood lipids and liver enzymes in man .PhD.Thesis,Wageningen Agricultural University

Publishing New york 10- Perry ,J.J. and Staley ,J.T.(1997) Microbiology Saunders College U.S.A (1997).

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

11-المياح ,عبد الرضا علوان "النباتات الطبية والتداوي بالاعشاب " ,مركز عبادي للدراسات والنشر ص.ب 662 صنعاء الجمهورية اليمنية(2001).

12-Dey, P.M and Harborne , J.B. (Plant biochemistry) academac press .London , New york . p.554.(1997).

شكر وتقدير

اتقدم بالشكر الى الدكتورة عواطف حميد عيسى مختبر ابحاث المناعة في قسم علوم الحياة بكلية العلوم لتزويدنا بالعزلات الجرثومية القياسية المستخدمة في البحث.

Study of the biological activity of oil Extract from coffee

Bushra abdul muhsin abdul aziz

University of Basrah/College of Science /Department of Chemistry

Abstract:-

Oil extract from arabian coffee was isolated and identified using several techniques such as thin layer chromatography and infrared spectroscopy.

The biological activity of oil extract was examined against two types of gram positive and gram negative bacteria (*Staphylococcus aureus and Escherichia coli)* .The result indicates that oil extract from coffee has varying degrees of inhibition against the test organisms.

Key words: Oil extract, Arabian coffee ,thin layer chromatography,infrared spectra,biological activity.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com