

دراسة طيفية وجهدية للمستخلص المائي والكحولي لزهرة الشاي الأحمر (شاي كوجورات)

إسماعيل خليل ابراهيم
صدام محمد عبد
جامعة الأنبار - كلية العلوم

الخلاصة: أوضحت أطياف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية وتحت الحمراء وجود مجاميع فعالة في المستخلصين المائي والكحولي لزهرة الشاي الأحمر ، وقد فصلت مكونات المستخلصين المائي والكحولي بكميات جغرافية الورق والطبقة الرقيقة والعمود ، وتم تشخيص ثلاث صبغات هي الجوسيتين والانثوسيانين والكويريسيتين ، كما تم تشخيص خمسة حوامض عضوية هي حامض المالك والاوكرليك والاسكوريك والتارتاريك والستريك . وقدمت تقنيًا الامتصاص والانبعاث الذري اللهي تقدير تراكيز عالية من عناصر الكالسيوم والباريوم والمغنسيوم والبوتاسيوم ، أما عناصر الصوديوم والليثيوم والحديد والمنغنيز والنحاس والخاصين والنيكل فقد وجدت بتراكيز ضئيلة بما يثبت احتواء أزهار الشاي الأحمر على عناصر معدنية ضرورية للنبات والإنسان الذي يتناول أزهار النبات كشراب أو مزيج من العصائر أو كصبغات غذائية . ونظراً للوسط الحامضي لمستخلص الشاي الأحمر فقد تم تسحيحه بمتابعة التغير في الدالة الحامضية والتغير في الجهد فلوحظ تغير واضح وكبير عند نقطة التكافؤ يمكن استثمارها في تقدير نسبة الحوامض التي تساوي (28.60%) ± 0.13 . وبعد إثبات وجود الصبغات وتغير لونها المفاجئ عند نقطة التكافؤ فقد أمكن استثمار مستخلص الشاي الأحمر كدليل حامض - قاعدة يتغير لونها في الوسط المتعادل أو القاعدي وهو يضاها في فعله دليلي المثل الأحمر والفيونولتين .

مفاتيح الكلمات : الشاي الأحمر (شاي كوجارات) ، الاستخلاص ، دليل حامض - قاعدة ، تقنية الكروماتوغرافيا ، متعددات الفينول .

المقدمة :

كما عرف عن شراب أزهار الشاي الأحمر بأنه مادة غذائية وصبغة وشراب واستعمل في كثير من الأقطار لمعالجة أمراض متنوعة من ضمنها التوتر المفرط الذي يحصل عند بعض الأشخاص ، ويعزى ذلك إلى فعاليته الامتطاطية العاملة من خلال الإندوثيليام والعضلات الوعائية للمساء (4) . وفي دراسة لتأثير مستخلص كأس زهرة الشاي الأحمر على الأذى الذي يسببه رباعي كلوريد الكاربون على الكبد ، وجد أن هذا المستخلص يعزز الشفاء من الألم والأذى الكبدي الذي يسببه رباعي كلوريد الكاربون (5) .

واستعمل مستخلص أزهار الشاي الأحمر لمعالجة الحمى والهزال والنحول في القوى الجسمية إضافة إلى معالجة سوء الهضم أو التخمة وعسر البول وإزالة وخمة السكر للمدمنين على الخمر ومعالجة وعكات القلب والتوتر العصبي وتخفيف المزاج العصبي الحاد ومعالجة مرض الإسقربوط (6) ، وأنه مضاد للالتهابات والآلام ومضاد للفعاليات الجينية المنقلبة (7) .

وأبدي المستخلص المائي لأزهار الشاي الأحمر خصائص أخرى في المختبر وفي الدراسات الحيوانية مثل

الشاي الأحمر (شاي كوجارات) واسمه العلمي *Hibiscus sabdariffa L.* نبات بلدي ينتشر في أقطار إفريقيا الاستوائية لكنه يزرع الآن في المناطق المعتدلة (1) .

ويستعمل شاي كوجارات لعمل الحمضيات وأنواع الجل والشراب والعصائر (1) .

وان أزهار هذا النبات إضافة إلى عصارة الكأس مفيدة في معالجة التهابات الصفراء وإن منقوع كؤوس هذا النبات يؤخذ في شرق تشاد (Chad) لإسعاف أعراض الاحتقان الدموي (Plethora) الذي يحصل نتيجة النزلات الشعبية والسعال بأشكاله المختلفة (1) .

وقد يعزى شراب الشاي الأحمر كمادة مدررة إلى احتواء أزهار النبات على الجوسيتين والانثوسيانين و *Glucoside hibiscin* ، كما أن وجودها يزيد من إفرازات الصفراء ويقلل من لزوجة الدم ويخفض ضغط الدم ويحفز التقلصات المعوية (2) .

وقد استثمر مستخلص أزهار هذا النبات في خفض سرعة امتصاص الكحول وخفض شدة تأثيره (3) .

لتحضير محلول من حرق زهر الشاي الاحمر مباشرة بدون استخلاص وذلك للمقارنة .

4- المحاليل المحضرة في التسحيح والمعايرة : حضر (0.1N) من محلول كاربونات الصوديوم القياسي من المادة القياسية الأولية كاربونات الصوديوم اللامائية ، كما حضر محلول (0.1N) تقريباً من حامض الهيدروكلوريك وضبطت عياريته بتسحيحه مع محلول كاربونات الصوديوم القياسي باستعمال دليل المثل البرتقالي ، وحضر (0.1N) تقريباً من محلول هيدروكسيد الصوديوم وتمت معايرته مع محلول حامض الهيدروكلوريك المعايير باستعمال دليل الفينولفثالين . كما حضر (0.1N) من محلول حامض الاوكزاليك القياسي لضبط عيارية محلول (NaOH) باستعمال دليل الفينولفثالين (للتأكد من صحة المعايرة مع حامض HCl المعايير) .

5- محاليل قياسية لتهيئة منحنيات المعايرة بطريقتي الانبعاث والامتصاص الذري اللهيبي : حضرت هذه المحاليل من أملاحها المقابلة وخففت للحصول على سلسلة المحاليل التي يقاس إما انبعاثها الذري أو امتصاصها الذري إضافة إلى المحاليل المحضرة من ازهار الشاي الاحمر .

طرائق العمل :

1- تسحيح محلول المستخلص المائي والكحولي لزهر الشاي الاحمر (متابعة التغير في pH محلول النموذج) . استخدمت خلية قطب الزجاج مقابل قطب الكالوميل (قطب الزجاج المتحد) من شركة (Mettler- TOLEDO) الصينية لتسحيح المستخلص المائي والكحولي للشاي الاحمر مع محلول كاربونات الصوديوم القياسي مرة ومحلول هيدروكسيد الصوديوم مرة أخرى بعد معايرة جهاز مقياس pH بالمحلولين المنظمين pH₄ و pH₉ في درجة حرارة الغرفة 25 م° .

2- تسحيح محلول المستخلص المائي والكحولي لزهر الشاي الاحمر (متابعة التغير في الجهد) : استخدم قطب البلاطين الحلقي مقابل قطب الكالوميل لتسحيح محلول المستخلص المائي والكحولي لزهر الشاي الاحمر مع محلول (NaOH) المعايير مرة ومحلول (Na₂CO₃) القياسي مرة أخرى في درجة حرارة الغرفة .

3- تسحيح محلول المستخلص المائي بمتابعة التغير في توصيلية المحلول :

استخدمت خلية التوصيل من شركة (Mettler- TOLEDO) الصينية لتسحيح المستخلص المائي لزهر الشاي الاحمر مع محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير في درجة حرارة الغرفة .

4- استثمار مستخلص زهر الشاي الاحمر كدليل حامض- قاعدة :

تخفيض سرطان الجلد المسبب بالأشعة فوق البنفسجية ، وأنه يمنع نمو الفايروس الأحادي ويخفض مستويات الكولسترول (8) وقد قدمت دراسات متنوعة عن الاستعمالات الكبيرة لشاي كوجارات لتنظيم تخصيب الذكر والأنثى وتم الحصول على نتائج مختلطة تعمل على تنظيم التخصيب ومعرفة القدرة التخصيبية لكل من الذكر والأنثى ولو لمستويات محدودة (9) .

يلاحظ من هذا الاستعراض ان معظم الدراسات السابقة على الشاي الاحمر ركزت على البحوث الطبية كصلاحيته الغذائية كشراب واستعماله لمعالجة امراض متنوعة داخل الجسم وخارجه . فركز البحث الحالي على تشخيص مكونات مستخلص أزهار الشاي الأحمر المائي والكحولي قبل وبعد فصلها بالاستعانة بالطرائق الكروماتوغرافية ، كما تضمن البحث دراسة جهدية لتقدير حامضية المستخلص واختبار جدواه كدليل حامض- قاعدة . وانتهت الدراسة بتقدير تراكيز بعض العناصر الفلزية في مستخلص الشاي الأحمر .

الجزء العملي :

تحضير النموذج:

1- محلول المستخلص المائي لزهر الشاي الأحمر : استخدم جهاز التصعيد (Soxhlet) لإستخلاص 000. 5غرامات من زهر الشاي الاحمر في 250 مللترأ من الماء المقطر على سخان كهربائي ذي محرك مغناطيسي بدرجة 100 م° لمدة ثلاث ساعات، وبعد اكمال عملية الاستخلاص رشح المحلول واكمل الراشح إلى العلامة بالماء المقطر واحتفظ بالراشح للحاليل الطيفية والجهدية كما احتفظ بالمتخلف لتقدير العناصر الفلزية إضافة إلى تقديرها في المستخلص المائي .

2- محلول المستخلص الكحولي لزهر الشاي الاحمر: اتبعت طريقة الاستخلاص بالماء المقطر باستعمال الايثانول الكحولي كمستخلص (Extractor) في درجة حرارة 80 م° .

3- المتخلف بعد عمليتي الاستخلاص في (1) و (2) : نقل المتخلف من عمليتي الاستخلاص بالماء المقطر والكحول إلى جفنتين موزونتين وجففا في فرن في 60 م° وبردا ووزنا لضبط المتخلف ، ادخلت الجفنتان في فرن حارق في 500 م° لمدة ساعة واحدة ، بردت الجفنتان ووزنتا لمعرفة وزن الرماد المتخلف وأذيب الرماد في 200 مللتر من حامض النتريك المخفف (0.1M) في ورق قياسي لتقدير العناصر الفلزية .

نقلت 5 غرامات من الشاي الاحمر في جفنة خزفية مقاومة للحرارة وأحرقت في الفرن الحارق بالطريقة المبينة أعلاه

بعدها طرف الورقة في مزيج المذيب المستعمل وهو مزيج بيوتانول أو بروبانول ، اسيتون ، حامض الخليك والماء المقطر بالنسب الحجمية :

(35 : 35 : 20 : 10) مللتراً ، وترك حتى انتقل المذيب والبقع المفصولة مسافات مناسبة خلال الورقة . أخرجت الورقة وجففت وحسب عامل الاعاقة R_f وشخصت البقع المفصولة بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية وتحت الحمراء .

ب- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة :

استعين بصفيحة من الزجاج مغطاة بطبقة رقيقة من السليكا وصفيحة أخرى من الالمنيوم مغطاة بطبقة رقيقة من السيليلوز نموذج D-6100 من شركة Merck السويسرية لفصل مكونات مستخلص الشاي الاحمر حيث عملت الصفيحة بالطريقة نفسها التي هيئت بها ورقة الكروماتوغرافيا ، ثم نقلت الصفيحة إلى داخل الحوض المحتوي على الطور المتحرك (مزيج المذيبات المستعمل في كروماتوغرافيا الورق أعلاه) .

غطى الحوض بإحكام وبمرور الوقت لوحظ ارتفاع المحلول إلى نهاية الطبقة الرقيقة وحسب عامل الاعاقة R_f وشخصت البقع المفصولة بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية وتحت الحمراء .

ج- كروماتوغرافيا العمود: حضر عمود الكروماتوغرافيا الزجاجي وثبت في قاعدته صوف الزجاج ومليء بالسليكا المعلقة بالماء المقطر إلى ارتفاع 25 سم على أن يكون الطور المتحرك على ارتفاع 1 - 2 سم فوق السليكا . نقل 2 مللتران من المستخلص المائي إلى العمود دفعة واحدة وترك لينزل إلى داخل العمود وتمت عملية الفصل بإضافة مزيج المذيبات (بيوتانول ، اسيتون ، حامض الخليك الثلجي والماء المقطر) . وباستمرار الاضافة ظهرت طبقتان في العمود (طبقة ارجوانية وأخرى صفراء) . أُرِجحت وجمعت الطبقة الارجوانية أولاً في كأس تلاها ازاحة وجمع الطبقة الصفراء في كأس آخر .

لوحظ ظهور طبقتين في المحلول الارجواني هما الطبقة المائية والطبقة الزيتية ، وكذلك لوحظت الطبقتان في المحلول الاصفر ، فصلت الطبقتان المائية والزيتية وبخرتا حتى الجفاف على حمام مائي وشخصت مكوناتها بمطيافية الأشعة تحت الحمراء .

النتائج والمناقشة :

فصل الصبغات الملونة : يبين الشكلان (1) و(2) فصل الصبغات الملونة لمستخلص الشاي الاحمر بكروماتوغرافيا الورق وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على التوالي :

نظراً لتغير لون محلول المستخلص المائي والكحولي لزهرة الشاي الاحمر من الارجواني أو الاحمر أو الوردى إلى الازرق أو الاخضر في نقطة التكافؤ عند تسحيح المستخلص مع محلول (Na_2CO_3) القياسي ومحلول $(NaOH)$ المعايير ، فقد تبلورت فكرة استخدام هذا المستخلص كدليل حامض - قاعدة . وقد اختبرت حوامض الهيدروكلوريك والخليك والاكزاليك لتسحيحها مع محلول (Na_2CO_3) القياسي ومحلول $(NaOH)$ المعايير بوجود 5-10 قطرات من المستخلص المائي أو الكحولي للشاي الاحمر ، ومقارنتها ببعض دلائل الحامض - القاعدة المتداوله . كما أجري تسحيح دليل البلانك (5 أو 10 قطرات من المستخلص خففت إلى 10 مللترات بالماء المقطر) لمعرفة حجم القاعدة المستهلكة من قبل المستخلص 5- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية لمحلول المستخلص المائي والكحولي للشاي الأحمر :

استعمل مطياف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية نموذج (6405 Jenway) لمتابعة امتصاص مكونات محلول المستخلص المائي والكحولي للشاي الاحمر في المدى 200-800 نانوميتر قبل فصل مكونات الشاي الاحمر وبعد فصلها .

6- مطيافية الأشعة تحت الحمراء (FTIR) استعين بمطياف الأشعة تحت الحمراء نموذج (8400 S.SHIMADZU) في المدى 600-4000 سم⁻¹ لتشخيص المجموعات الفعالة في المستخلص المائي والكحولي وذلك بعد تبخير المستخلصين المائي والكحولي حتى الجفاف واستعمال المتخلف الصلب في قياسات IR .

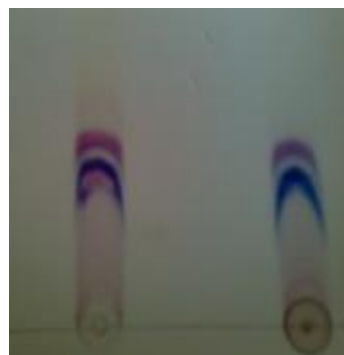
7- مطيافية الانبعاث والامتصاص الذري اللهبى : أجريت قياسات الانبعاث الذري بجهاز الانبعاث الذري اللهبى نموذج : (PFP₇ JENWAY) لتقدير بعض الفلزات القلوية وبعض فلزات القلويات الترابية ، كما أجريت قياسات الامتصاص الذري بجهاز الامتصاص الذري اللهبى نموذج (GBC 933 plus) لتقدير بعض الفلزات المتوقع كونها نزره .

8- فصل مكونات زهر الشاي الاحمر باستعمال تقنيات الكروماتوغرافيا :

أ- كروماتوغرافيا الورق : استخدم ورق الترشيح واتمان رقم 1 No. Whatman حيث قطعت الورقة بطول وعرض مناسبين لسعة حوض الكروماتوغرافيا ورسم إلى احدى نهايتها خط بقلم الرصاص يبعد 2 سم عن حافتها . ونقل محلول مستخلص الشاي الاحمر بانبوبة شعرية إلى المواقع المثبتة على الخط وتركت لتجف . غطي الحوض بإحكام وترك لفترة من الزمن لتتسبع ببخار المذيب ، غمر



شكل (2) فصل الصبغات الملونة بتقنية (TLC)



شكل(1) فصل الصبغات الملونة باستخدام كروماتوغرافيا الورق

، أما الحزم الظاهرة في المدى 810-1242 سم⁻¹ فتعزى إلى الاهتزاز الانحنائي لمجموعة O-H ومجموعة C-H بما يؤكد أنّ الصبغتين العليا والسفلى هما الكويريستين والجوسبتين على التوالي شكل (3-ا، ب) ، أما المنطقة الوسطى فظهرت الامتصاصات السابقة لكن لم تظهر حزمة امتصاص في 1720 سم⁻¹ مما يدلّ على أنّها صبغة الانثوسيانين التي لا تحمل مجموعة كربونيل (شكل 3-ج) وتمثل الصيغة التركيبية للجوسبتين الصيغة التركيبية للكويريستين إلا أنّها تزيد عنها بمجموعة OH في الموقع 8 مما جعله أكثر امتزازاً على كل من السليلوز وهلام السليكا فقدم الكويريستين على الجوسبتين والانثوسيانين في انسيابه على هلام السليكا وشفحة السليلوز .

وأظهرت كروماتوغرافيا العمود فصلاً للصبغات الثلاث حيث فصلت الطبقة الارجوانية وتبين ظهور طورين مائي والآخر زيتي ، فصل الطوران عن بعضهما وجففا وشخصا بمطيافية الأشعة تحت الحمراء فظهرت الطبقة الارجوانية طيفاً مشابهاً للكويريستين وظهرت الطبقة الزيتية طيف IR مشابهاً للجوسبتين . أما الطبقة الصفراء فظهرت طيف IR مشابهاً للأنثوسيانين حيث غاب الامتصاص الامتطاطي لمجموعة الكربونيل C=O عن هذا الطيف وهو تأكيد ثانٍ لوجود الصبغ الثلاث في مستخلص زهر الشاي الأحمر . وبعد إزالة الصبغات الملونة من محلول مستخلص الشاي الاحمر بكروماتوغرافيا

حيث تم الحصول على ثلاث بقع واضحة للمستخلصين المائي والكحولي ، وقد كان الفصل أكثر وضوحاً في كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على هلام السليكا وأكثر وضوحاً للمستخلص المائي ، قيس قيم R_f لهذه البقع وتم مقارنتها وتشخيصها .

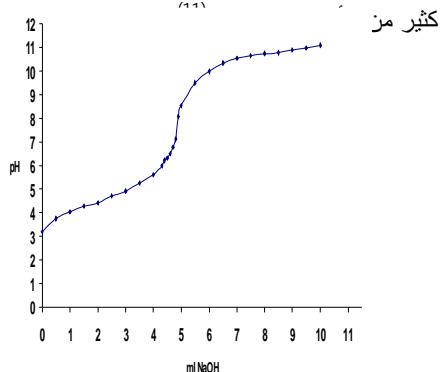
قطعت أو كشطت البقع الثلاث وأذيبت منفصلة عن بعضها في الايثانول ورشحت للتخلص من المواد العالقة . أخذت الرواشح وقيست أطرافها في المنطقة المرئية وفوق البنفسجية حيث أظهرت البقعتان الارجوانية العليا والسفلى قمة امتصاص في المدى 208-212 نانوميتر على هلام السليكا وعلى قمتي امتصاص في 218 نانوميتر على شفحة السليلوز . أما البقعة الوسطى الزرقاء فظهرت قمة امتصاص في المدى 209-214 نانوميتر وظهور قمتي امتصاص 221 ، 229 نانوميتر على شفحة السليلوز خلافاً للبقعتين العليا والسفلى .

بخر المذيب على حمام مائي وقيست أطراف IR فتم الحصول على الأطياف المدونة قياسات مجاميعها الفعالة في الجدول (1) حيث يستنتج وجود حزم امتصاص في المدى 2931-3433 سم⁻¹ تعزى إلى الاهتزاز الامتطاطي لمجموعة O-H أو C-H ، كما تلاحظ حزمة امتصاص في 1720 سم⁻¹ تعزى إلى الاهتزاز الامتطاطي لمجموعة الكربونيل C=O أما ما يلاحظ من وجود حزم في 1427 و 1442 سم⁻¹ فتعزى للاهتزاز الامتطاطي لمجموعة C-O

جدول (1) قياسات FTIR للصبغات الثلاثة المفصولة على هلام السليكا وشفحة السليلوز(سم⁻¹)

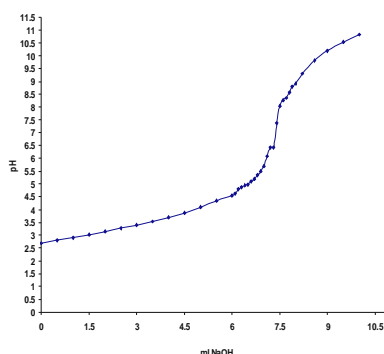
الصبغة	vO-H	vC-H	vC=O	vC-O	δO-H	δC-H
الكويريستين	3433	2931	1720	1427	1242-941	894-810
الأنثوسيانين	3433	-	-	1419	1296-1242	810
الجوسبتين	3433	2931	1720	1427	1242-941	887-848

مما ذكر أعلاه يتبين أنَّ مستخلص الشاي الاحمر غني بالحوامض العضوية منها ما تم تشخيصه وقد يحتوي على أحماض أخرى لم نشخصها وتعزها النسبة المئوية للمحتوى الحامضي الكلي التي تم تقديرها بطريقة التسحيحات الجهدية مع محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير ومحلول كاربونات الصوديوم القياسي والتي تساوي (28.60%) ± 0.13 (10) بما يعزز استعمال مستخلص الشاي الاحمر كصبغة غذائية ومادة مضافة لصنع أنواع مختلفة من الشراب أو العصائر ومادة طبية لمعالجة



شكل (4.ب) منحنى تسحيح المستخلص الكحولي لزهرة الشاي الأحمر بمتابعة التغيير

العمود جمع المتدفق غير الملون من العمود وركز بالتبخير على حمام مائي وذلك لفصل وتشخيص الحوامض العضوية في مستخلص الشاي الاحمر فتم تشخيص خمسة حوامض عضوية فصلت على صفيحة هلام السليكا وصفيحة السليلوز باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ، حسبت R_f للحوامض المفصولة وقورنت بـ R_f للحوامض العضوية القياسية ، كشتت هذه الحوامض وأذيت في الايثانول . بخر الايثانول وشخصت الحوامض بأطيافها في المنطقة فوق البنفسجية والمرئية ، كما شخصت مجاميعها الفعالة باطياف FTIR كما هي مدونة في الجدول (2) مقارنة باطياف FTIR القياس



شكل (4.أ) منحنى تسحيح المستخلص المائي لزهرة الشاي الأحمر بمتابعة

جدول (2) قياسات FTIR للحوامض العضوية المفصولة من مستخلص الشاي الأحمر (سم-¹)

الحامض	vO-H, vC-H	vO-H	vC=O	$\begin{matrix} \text{O} \\ // \\ \text{vC-O} \end{matrix}$	vC-O	$\delta\text{O-H}$	$\delta\text{C-H}$
Malic acid	3077(broad)	2399- 1890	1712	1635 -1589	1658- 1434	1265-925	864-786
Tartaric acid	3409(broad)	2360	1735	-	1442	941	794-732
Oxalic acid	3433(broad)	-	1689	-	1249	794	-
Ascorbic acid	3440(broad)	2720	1674	-	1319		1118-756
Citric acid	3640(broad)		1704		1357	1296-1141	774

المائي) ما معدله (7.40) مللترًا من محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير وما معدله (4.90) مللترًا لمحلول المستخلص الكحولي .

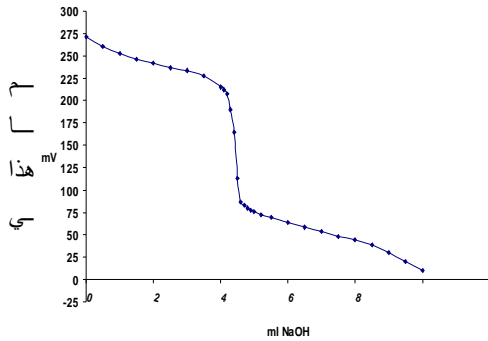
يلاحظ أنَّ نسبة الحوامض بوجود الكحول أقل منه في الماء وذلك يعزى إلى قطبية الايثانول المنخفضة التي هي أقل من قطبية الماء الذي يعمل على تأين الحوامض العضوية الضعيفة وزيادة استهلاك القاعدة المضافة. تعزى حامضية مستخلص زهر الشاي الاحمر إلى الحوامض العضوية الضعيفة (13) كما تعزى إلى المركب الفينولي حامض البروتوكاتيكويك (14) وحوامض البنزويك

تقدير المجموع الكلي للحوامض في مستخلص

زهرة الشاي الاحمر: يتبين الشكل (4) منحنى تسحيح محلول المستخلص المائي والكحولي لزهرة الشاي الأحمر مع محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير (0.119N) باستخدام خلية قطب الزجاج المتحد. حيث لوحظ تغير مفاجئ وواضح عند نقطة التكافؤ (ثلاث وحدات pH لكل مللتر واحد مضاف من محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير) .

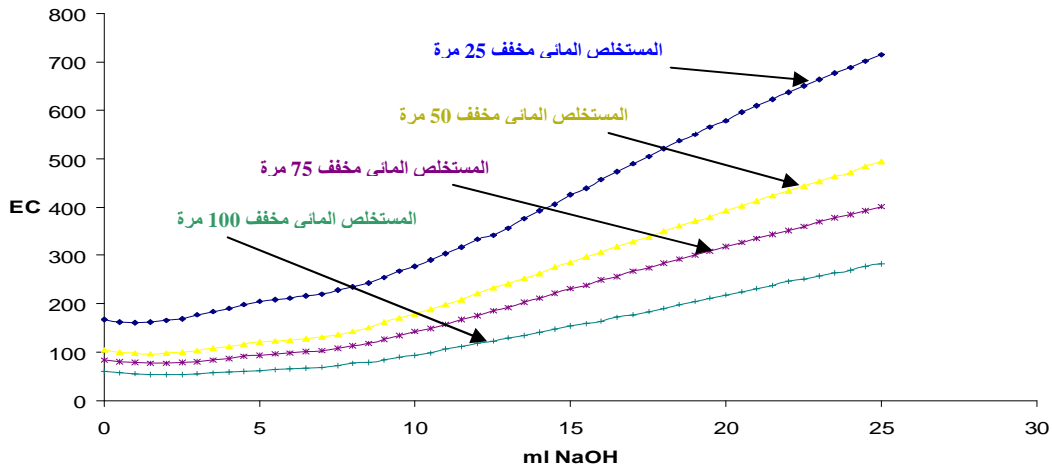
حسب المجموع الكلي للحوامض في المستخلصين المائي والكحولي بالاستعانة بالوزن المكافئ لحامض الستريك كمعدل للأوزان المكافئة للحوامض المثبت وجودها في زهر الشاي الاحمر (12) . وقد تطلبت 10 مللترات من مستخلص زهر الشاي الاحمر (المستخلص

متعددات الفينول (5)



شكل (5.ب) منحنى تسحيح المستخلص الكحولي لزهر الشاي الأحمر بمتابعة التغير في جهد المحلول.

المعايير باستخدام خلية التوصيل ، حيث لوحظ انخفاض في قيم توصيلية المحلول في بداية التسحيح ثم تزداد بعد ذلك مقابل الاضافات المتتالية من محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير (الشكل 6) .



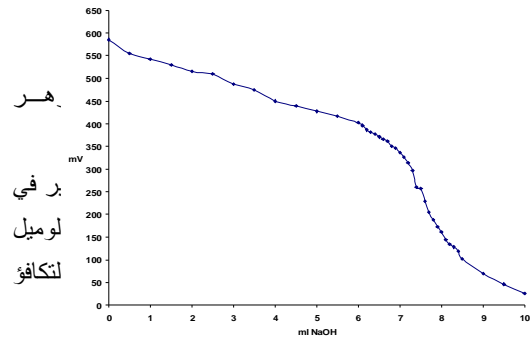
شكل (6) منحنى التسحيح التوصيلي للمستخلص المائي لزهر الشاي الأحمر.

التسحيح كما حصل عند التسحيح بمتابعة التغير في (pH) المحلول أو التغير في الجهد .

استثمار المستخلص المائي والكحولي لزهر الشاي الأحمر كدليل حامض - قاعدة :

تبلورت فكرة إمكانية استثمار مستخلص زهر الشاي الأحمر كدليل حامض - قاعدة بعد التأكد من احتوائه على المتعددات الفينولية وهي الانثوسيانين الذي هو غالباً (Cyanidin-3-Glycoside) (16) والكويريسيتين الذي هو فلافونويد (Flavoniod) أو فلافونول (Flavonol) (17) إضافة إلى الجوسبيتين الذي هو (3 ، 5 ، 7 ، 8 ، 3 ، 4 - سداسي هيدروكسي فلافون) (18) . ويتغير لون هذه المتعددات الفينولية بتغير pH المحلول حيث يتغير لون

احتوى مجموعتي OH في الموقعين 3 ، 4 إضافة إلى



شكل (5.أ) منحنى تسحيح المستخلص المائي لزهر الشاي الأحمر بمتابعة التغير في الجهد.

تسحيح محلول مستخلص زهر الشاي الأحمر المائي بمتابعة التغير في توصيلية محلول المستخلص :

تمت متابعة تسحيح محلول المستخلص المائي لزهر الشاي الأحمر مع محلول هيدروكسيد الصوديوم

يعزى الانخفاض في التوصيلية في بداية التسحيح إلى تكوين محلول منظم من الحوامض العضوية وأملاحها يؤدي إلى خفض تأين الحوامض ويقل التوصيل نتيجة تعادل أيون الهيدروجين بأيون الهيدروكسيل وتكوين الماء ، إلا أن الاستمرار في إضافة محلول القاعدة يحول معظم الحوامض إلى أملاحها المقابلة التي تتأين فتوفر أيونات ترفع أو تزيد توصيلية المحلول . وهذا التسحيح مشابه لتسحيح حامض الخليك أو حامض الاوكزاليك مع القاعدة القوية بمتابعة قياسات التوصيلية حيث يحتوي مستخلص زهر الشاي الأحمر على مجموعة من الحوامض العضوية الضعيفة (15) ، فلم تظهر نقطة التكافؤ واضحة في هذا

زهر الشاي الاحمر دليلاً حامضياً ضعيفاً يتغير لونه في الوسط القاعدي ، إلا أن استعراض الجداول (3 - 6) تبين أن هذا الدليل يتغير لونه في مدى من الـ pH يمتد من الحامضي الضعيف إلى الوسط المتعادل والقاعدي في المدى من (6-8 أو 9) من الدالة الحامضية ويؤكد ذلك ما جاء من تغيير اللون الدليل المصاحب لعمليات تسحيح المستخلص مع محلول هيدروكسيد الصوديوم (الشكلان 1 ، 2) .

أما الجدول (7) فتضمن نتائج تسحيح دليل البلاتك المحضر من 5 قطرات أو 10 قطرات من محلول مستخلص الشاي الاحمر خففت إلى 10 مللترات بالماء المقطر وسححت مع محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير ومحلول كاربونات الصوديوم القياسي وذلك لاستخراج حجم القاعدة الذي استهلكه الشاي الاحمر لكونه مزيجاً من حوامض عضوية ضعيفة ومتعددات الفينول . أجري تسحيح دليل البلاتك بعد كل تسحيح يستعمل فيه دليل مستخلص الشاي الاحمر وذلك لمعرفة حجم القاعدة المستهلكة من قبل الدليل وطرحها من حجم القاعدة المسجل أثناء التسحيح للحصول على الحجم الحقيقي من القاعدة اللازم لمعادلة الحامض المستعمل .

وقد تأكد ذلك من عكس عملية التسحيح وذلك بتسحيح 10 مللترات من محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير (0.156N) مع محلول حامض الهيدروكلوريك المعايير (0.101N) حيث يبين الجدول (8) أن حجوم الحامض المستهلك بوجود دليل الشاي الاحمر أقل من الحجوم المستهلكة بوجود دليل المثل الاحمر ودليل المثل البرتقالي ، ويعزى ذلك إلى استهلاك حجم من محلول القاعدة بتفاعله مع مكونات مستخلص الشاي الاحمر الحامضية وتكوين أملاحها المقابلة (تفاعل حامض ضعيف مع القاعدة قوية) .

تقدير العناصر الفلزية في مستخلص الشاي الاحمر :

وبيّن الجدول (9) تراكيز العناصر الفلزية المقدره بتقنية الانبعاث الذري اللهبى ، حيث يلاحظ أن العناصر المستخلصة بالايثانول أعلى من تراكيزها المستخلصة بالماء المقطر عدا الباريوم الذي يبدو أن مستخلصه المائي أعلى تركيزاً من مستخلصه الكحولي بل يكاد يكون ضعفه . وقد يعزى ذلك إلى استعمال حرارة عالية في الحرق (500 م) أدت إلى تطاير العناصر خاصة الكالسيوم والباريوم نتيجة تكوينها مركبات متطايرة مع مكونات الشاي الأحمر⁽¹⁵⁾ .

يؤيد ذلك نتائج تراكيز هذه العناصر بحرق زهر الشاي الاحمر مباشرة حيث أن جميع التراكيز المقدره أقل من التراكيز المقابلة في المستخلص المائي والكحولي .

إن وجود تراكيز عالية من البوتاسيوم والكالسيوم والباريوم ذو أهمية في العمليات الفسلجية لنبات الشاي الاحمر كما أن هذه العناصر الخمسة هي من العناصر الاساسية التي

المحلول من الارجواني أو الاحمر أو الوردى في الوسط الحامضي إلى الازرق أو الاخضر في الوسط القاعدي .

وقد اختبرت ثلاثة حوامض هي حامض الهيدروكلوريك (حامض قوي) وحامض الخليك وحامض الاوكزاليك (حامض ضعيفان) بتراكيز مختلفة وتم تسحيحها مع محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير ومحلول كاربونات الصوديوم القياسي بوجود دليل مستخلص الشاي الاحمر كدليل مقارنة ببعض الدلائل المتداولة وهي دليل المثل الاحمر ودليل المثل البرتقالي ودليل الفينولفتالين .

فبيّن الجدولان (4,3) نتائج تسحيح 10 مللترات من محلول (0.101N) ، (0.0101N) ، (0.00101N) من حامض الهيدروكلوريك مع التراكيز المقابلة لمحلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير ومحلول كاربونات الصوديوم القياسي (المدونة تراكيزها في الجدولين) بوجود (5-10) قطرات من دليل مستخلص زهر الشاي الاحمر و (3) قطرات من دليل المثل الاحمر والمثل البرتقالي .

وبيّن من نتائج التسحيح مع دليل زهر الشاي الاحمر أن الحجوم التي تم الحصول عليها مقارنة لنتائج التسحيح مع دليل المثل الاحمر وحتى مع دليل المثل البرتقالي ، بما يثبت أن محتوى مستخلص الشاي الاحمر دليل حامضي يتغير لونه في الوسط الحامضي الضعيف أو المتعادل أو القاعدي الضعيف في مدى من الـ pH (6-8 أو 9) نتيجة لوجود متعددات الفينول العضوية الحامضية الضعيفة وهي أنثوسيانين وكويريسيتين وجوسبتين . كما أن تخفيف الحوامض والقواعد المستعملة عشر مرات أو مائة مرة لم يؤثر على تشخيص نقطة انتهاء التفاعل باستعمال الدلائل الاعتيادية ودليل الشاي الاحمر . بل إن التخفيف عزز من تأين هذه الحوامض العضوية الضعيفة (متعددات الفينول) وأظهرت نقطة انتهاء التفاعل بصورة اوضح في تغير اللون المفاجئ . وكانت النسبة المئوية للخطأ ضمن الخطأ التجريبي .

وبيّن الجدولان (5 ، 6) نتائج تسحيح محاليل حامض الخليك وحامض الاوكزاليك بتراكيز مختلفة مع تراكيز مقابلة من محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير بوجود دليلي الشاي الاحمر ودليل الفينولفتالين .

فيلحظ أن نتائج التسحيح بوجود دليل الشاي الاحمر مقارنة لنتائج التسحيح بوجود دليل الفينولفتالين . وقد اختير هذان الحامضان الضعيفان لأن سلوكهما يشابه سلوك الحوامض الضعيفة التي وجدت في مستخلص الشاي الاحمر اضافة إلى تقارب صبغة دليل الفينولفتالين مع صبغ متعددات الفينول الكائنة في مستخلص الشاي الاحمر ، وكانت النسبة المئوية للخطأ ضمن الخطأ التجريبي ، لذا يعتبر مستخلص

والباريوم والمغنسيوم يليها المنغنيز والحديد والصوديوم ، أما بقية العناصر فتشكل نسبة ضئيلة وهي نتائج تتناسب مع نتائج دراسات سابقة لباحثين (21) . كما بينت دراسة أخرى للعناصر المعدنية (22) في الأوراق الكأسية للنبات لاحتوائها على العناصر السابقة إضافة إلى عنصري الفسفور والكبريت . وأشار باحثون آخرون (23) أيضاً إلى احتواء أزهار الشاي الأحمر على نسب عالية من عناصر الفسفور والحديد والكالسيوم . كما بينت دراسة قريبة (24) إلى أن شاي كوجارات غني بعنصر الحديد إضافة إلى عنصري المغنسيوم والكالسيوم .

يستنتج من دراستنا لتقدير العناصر المعدنية مقارنة بالدراسات السابقة أن هناك توافق في كثير من العناصر المقدره وأنها ذات أهمية كبيرة في حياة النبات وأن هذا النبات مصدر مهم للعناصر المعدنية في غذاء الإنسان أو عند تناوله كشراب لمستخلص مائي لأزهاره إضافة إلى الاستعمالات الطبية المختلفة (27) .

يحتاجها جسم الإنسان لأهميتها في فعالية الانزيمات والهرمونات وكذلك العمليات الأيضية التي تحصل داخل الجسم (19) .

ويقدم الجدول (10) تراكيز العناصر الفلزية المقدره بتقنية الامتصاص الذري اللهبى حيث يلاحظ بصورة عامة تقارب نتائج الاستخلاص لعناصر الحديد والمنغنيز والنحاس والخاصين والنيكل بالطرائق الثلاث ضمن الخطأ التجريبي ويشذ عن ذلك عنصر المغنسيوم حيث كان الاستخلاص بالماء المقطر أكثر من ضعف الاستخلاص بالايثانول ، إلا أن تراكيز المغنسيوم المستخرج بالحرق المباشر ضئيل جداً ويعزى أيضاً إلى تطاير هذا العنصر كالسيوم والباريوم نتيجة تكوينه مركبات متطايرة مع مكونات الشاي الأحمر بالحرق في درجات حرارة عالية (500 م) (20) .

يستنتج من كشف وتقدير العناصر المعدنية بتقنيتي الانبعاث والامتصاص الذري اللهبى احتواء مستخلص زهر الشاي الأحمر على نسب عالية من عناصر البوتاسيوم والكالسيوم

جدول (3) نتائج تسحيح 10 مللترات من محلول حامض HCl بالتراكيز (0.101) ، (0.0101) ، (0.00101) عياري مع محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير :

حجم محلول NaOH (مللتر)*			لونه عند نقطة التكافؤ	لونه في المحلول	الدليل المستعمل
0.00156N	0.01156N	0.156N	اخضر	وردي	مستخلص الشاي الأحمر
6.57 ± 0.12	6.7 ± 0.1	6.7 ± 0.1	اصفر	وردي	المثيل الأحمر
6.63 ± 0.06	6.9 ± 0.1	6.67 ± 0.23	اصفر	وردي	المثيل البرتقالي
6.03 ± 0.06	6.5 ± 0.1	6.33 ± 0.06	اصفر	وردي	
6.50	6.50	6.50	حجم محلول القاعدة المحسوب نظرياً		

*لاتوجد فروق معنوية بين نتائج الدلائل المستعملة

جدول (4) نتائج تسحيح 10 مللترات من محلول حامض HCl بالتراكيز (0.101) ، (0.0101) ، (0.00101) عياري مع محلول كاربونات الصوديوم القياسي :

حجم محلول Na ₂ CO ₃ (مللتر)*			لونه عند نقطة التكافؤ	لونه في المحلول	الدليل المستعمل
0.0014N	0.014N	0.14N	اخضر	وردي	مستخلص الشاي الأحمر
7.27 ± 0.06	7.1 ± 0.1	7.1 ± 0.1	اصفر	وردي	المثيل الأحمر
7.43 ± 0.06	7.43 ± 0.06	7.2 ± 0.1	اصفر	وردي	المثيل البرتقالي
7.23 ± 0.06	7.1 ± 0.1	7.13 ± 0.06	اصفر	وردي	
7.22	7.22	7.22	حجم محلول كاربونات الصوديوم المحسوب نظرياً		

*لاتوجد فروق معنوية بين نتائج الدلائل المستعملة

جدول (5) نتائج تسحيح 10 مللترات من محلول حامض الخليك بالتركيز (0.21N) ، (0.019N) ، (0.0017N) مع محلول

محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير :

حجم محلول NaOH *			لونه عند نقطة التكافؤ	لونه في المحلول	الدليل المستعمل
0.00156	0.0156	0.156			
10.60 ±0.10	12.03 ±0.15	13.50 ± 0.1	اخضر	وردي	الشاي الاحمر
10.63 ±0.15	12.03 ±0.06	13.57 ±0.12	وردي	عديم اللون	الفينولفتالين
10.90	13.18	13.46	حجم محلول القاعدة المحسوب نظرياً		

*لا توجد فروق معنوية بين نتائج الدلائل المستعملة

جدول (6) نتائج تسحيح 10 مللترات من محلول حامض الاوكزاليك بالتركيز (0.08N) ، (0.0175N) ، (0.00175N) مع

محلول محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير :

حجم محلول NaOH *			لونه عند نقطة التكافؤ	لونه في المحلول	الدليل المستعمل
0.00156N	0.0156N	0.156N			
11.27 ±0.06	11.23 ±0.06	5.0 ± 0.2	اخضر فاتح	وردي فاتح	الشاي الاحمر
11.37 ±0.06	11.23 ±0.06	4.93 ±0.15	وردي	عديم اللون	الفينولفتالين
11.22	11.22	5.13	حجم محلول القاعدة المحسوب نظرياً		

*لا توجد فروق معنوية بين نتائج الدلائل المستعملة

جدول (7) نتائج تسحيح محلول دليل البلاتنك مع محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير ومحلول كاربونات الصوديوم القياسي :

حجم محلول (Na ₂ CO ₃) مللتر *	حجم محلول (NaOH) مللتر	لون المحلول في نقطة التكافؤ	لون المحلول بوجود الدليل	الدليل المستعمل
V ₁ =0.08	V ₁ =0.09	أخضر	وردي	5 قطرات من مستخلص الشاي الأحمر مخففة 10 مللترات
V ₂ =0.09	V ₂ =0.08			
V ₃ =0.07	V ₃ =0.10			
V _{av} =0.08 ml±0.01	V _{av} =0.09 ml±0.01			
V ₁ =0.23	V ₁ =0.22	أخضر	وردي	10 قطرات من مستخلص الشاي الأحمر
V ₂ =0.21	V ₂ =0.21			
V ₃ =0.20	V ₃ =0.23			
V _{av} =0.21 ml±0.01	V _{av} =0.22 ml±0.01			

*لا يوجد فرق معنوي عند تكرار استعمال 5 أو 10 قطرات من مستخلص زهر الشاي الأحمر لكن يوجد فرق معنوي أكثر من 0.001 عند زيادة

القطرات أكثر من 5 قطرات من مستخلص زهر الشاي الأحمر

جدول (8) نتائج تسحيح محلول هيدروكسيد الصوديوم المعايير (0.156N) مع محلول حامض الهيدروكلوريك (0.101) :

حجم محلول (NaOH) مللتر	لونه في نقطة التكافؤ	لونه في المحلول	الدليل المستعمل
V1=14.0	وردي	أخضر فاتح	الشاي الأحمر
V2=14.6			
V3=14.7			
Vav= 14.43 ± 0.38			
V1=15.5	وردي فاتح	أصفر	المثيل الأحمر
V2= 15.7			

V3= 15.5			
Vav=15.57 ± 0.12			
V1=15.6	وردي فاتح	أصفر فاتح	المثيل البرتقالي
V2= 15.6			
V3= 15.7			
Vav=15.63 ± 0.06			
15.45 مللتراً	حجم محلول الحامض المحسوب نظرياً		

*يوجد فرق معنوي أكثر من 0.001 وقد عدل ذلك باستهلاك كمية من القاعدة بتفاعلها مع مكونات مستخلص زهر الشاي الأحمر الحامضية

جدول (9) تراكيز العناصر المعدنية المستخرجة في نماذج زهر الشاي الاحمر بتقنية الانبعاث الذري اللهبى (PPm) :

العنصر	التركيز في المستخلص المائي + المتبقي بعد الاستخلاص والحرق	التركيز في المستخلص الكحولي + المتبقي بعد الاستخلاص والحرق	التركيز في المتبقي بعد الحرق مباشرة
الصوديوم	18.5	18.5	3.5
البوتاسيوم	396	445	390
الكالسيوم	152.5	125.0	65.5
الليثيوم	1.05	1.40	0.95
الباريوم	727.5	345	34.5

جدول (10) تراكيز العناصر المعدنية المستخرجة في نماذج زهر الشاي الاحمر بتقنية الامتصاص الذري اللهبى (PPm) :

العنصر	التركيز في المستخلص المائي + المتبقي بعد الاستخلاص والحرق	التركيز في المستخلص الكحولي + المتبقي بعد الاستخلاص والحرق	التركيز في المتبقي بعد الحرق مباشرة
المغنسيوم	281.5	125.9	8.5
الحديد	5.0	2.6	3.6
المنغنيز	5.7	5.6	7.3
النحاس	0.18	0.24	0.14
الزركون	1.4	1.3	1.2
النيكل	0.31	0.36	0.22

Hibiscus and Thocyanins, Food Chem. Toxicol, 38, 411.

6. Watt, J. M. and Breyer- Brand Wijk, M. G. (1962) The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa, 2nd ed., E and S Living Stone Ltd., Edinburgh and London .
7. Rapee Porn, T.(2000), Biosci. Biotechnol. Biochemi. 64 (5) 1041-3.
8. Dahiru, D., Obi, O. J. and Umaru, H. (2003), Biochemistry, 15 (1) pp 27-33 .
9. Duke, J. A. (1985), Handbook of Medicinal Herbs, 7th ed., Livingstone Group Ltd., Edinburgh, 228 .
10. Chewonanim, T., Knouchi, T., Kataoka, K. and Arimochi, H. (1999) Food Chem.Toxicol, 37, 591-601.

المصادر

1. Duke, J. A. and Atchley, A. A (1984) Proximetri Analysis, In: Christie, B. R (ed). The Handbook of Plant Science in Agriculture, CRC Press, Inc, Boca Raton, FL.
2. قطب ، حسين ، فوزي ، طه (1975) النباتات الطبية ، شركة كيمفتكو ، 339، شارع السودان - الجيزة - مصر .
3. Duke,J.A.(1979)Ecosystematic Data on Economic Plants, Quart, J. Crude Drug Res, 17 (3-4), 91-110.
4. Morton, J. F. (1975) Is there a Safer Tea ? Morris Arb. Bul, 26 (2), 24-30.
5. Wang, C. J., Wang, J. M., Lin, W. L., Chu, C.Y, Chau, F. P. and Tseng, T. H. (2000) Protective Effect of

20. Sari, H. Hakkinen (1999) J. Agric. Food Chem. , 47, (6) 2274-2279 .
21. Wada, L. and Ou, B. (2002) J. Agric. Food Chem. , 50(12),3495-500 .
22. Irwin, P. (1982) " Plant Physiology ", Addison-Wesely Publishing Company .
23. Wrolst,R,EandErlandson,J.A ,(1973),J.ofFoodScience,38,460
24. قدرى ، زهراء حسين محمد (2002) (بعض التأثيرات المناعية لأوراق الكأسية لشاي كوجارات في الفئران البيض) رسالة ماجستير مقدمة إلى مجلس كلية التربية (ابن الهيثم) ، جامعة بغداد .
25. موسى ، طارق ناصر (1999) دراسة مقارنة كيميائية بين شاي كوجارات والشاي الاعتيادي ، مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية م (12) ع (3) 1-7 .
26. Morton, J. and Miami, F. L. (1987) Fruits of Warm Climate, (Internet), pp 281-286 .
27. Hayashi, M. and Sequchi, M. (1998), Iron-Enriched Bread with Karkade and Wheat flour, Cereal Chem., 75, pp 686-689 .
28. Faraji, M. H. and Haji Tarkhani, A. H. (1999), J. Ethano Pharmacology, 7, pp 231-236 .
11. Sharma, S. and Sultan, S. (2004) Basic Clin. Pharmacol. Toxicol, 95, 220 .
12. Pal, A. K., Bhattacharya, K., Kabir, S. N., and Pakrashi, A. (1985) Contraception, 32, 517-29 .
13. Chapra, R. N. Nayar, S. L. and Chapra, I.C. (1986) Glossary of Indian Medical Plants Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi.
14. Bown, D. (1995) Encyclopedia of Herbs and Their Uses, Dorling Kindersley, London, ISB No. 7513-020-31 .
15. دلالي ، باسل كامل والحكيم ، صادق حسن (1987) ، تحليل الاغذية ، مطبعة دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل ، ص 479 .
16. Bruneton, J. (1999) Pharmacognocny Phytochemistry Medicinal Plants, 2nd ed., London, Intercep, p. 24
17. Perry, L. M. (1980), Medicinal Plants of East and Southeast Asia, MIT Press, Cambridge.
18. الهيتي ، إسماعيل خليل ، (2008) التطبيقات العملية في التحاليل الكيميائية الآلية وطرائق الفصل ، دار دجلة ، عمان ، شارع الملك حسين ، مجمع الفحیصة التجاري ، الطبعة الأولى ، ص 147 .
19. Kong , J. M. , Chia , L. S. Goh, N. K. Chia, T. F. and Brouilard, R. (2003), Phyto Chemistry, 64(5), 923-933 .

SPECTROPHOTOMETRIC & POTENTIOMETRIC STUDY OF AQUEOUS & ETHANOLIC EXTRACTS OF HIBISCUS SABDARIFFA L. FLOWERS (KUJARAT TEA) .

ISMAEAL KH. IBRAHIM SADDAM M. ABED

E.mail: scianb@yahoo.com

ABSTRACT : The spectrophotometric spectra in UV, Visible and IR regions have revealed the presence of many functional groups in the aqueous and ethanolic extracts of Hibiscus sabdariffa L. flowers. Paper, thin-layer and column chromatographic techniques have shown the presence of three pigments in both extracts ; Gossypetin, Anthocynin, and Querectin. Five organic acids were also separated and identified in both extracts .All these compounds were identified by UV, Visible and IR spectrophotometry of electromagnetic radiation .Flame atomic absorption and emission technique have offered high levels of determination of calcium, barium, potassium and magnesium, while sodium, lithium, iron, manganese, copper, zinc and nickel were found in traces .pH and potential titrations of the extracts with standardized NaOH have shown high inflections at equivalence points which were exploited in the determination of total acids in the extract which was more than 28% .The sudden colour change from violet, red or pinkish of the extract into green has led us to exploit the extracts as an acid-base indicator . The data and results obtained have clarified that the extracts of Hibiscus sabdariffa L. flowers are matching the action of other indicators used in acid-base titrations.

