

## تأثير طريقة تلميم ثمار القبار على محتواها من الروتين

إشراف : د. عامر محمود الشيخ ، مشاركة : د. محمد صفا زودة

تقديم الطالبة : زهراء المحمد عيد

### الملخص

يُعد الروتين Rutin أحد أبرز الفلافونويدات ذات الأهمية البيولوجية والطبية نظراً لخصائصه المضادة للأكسدة والالتهابات، إضافةً إلى إمكاناته الصيدلانية. في هذا البحث جرى استخلاص الروتين من نبات القبار *Capparis spinosa L* باستخدام جهاز سوكسليه Soxhlet مع الإيثانول كمذيب أساسي. شملت الدراسة نوعين من العينات: عينات طازجة وأخرى محفوظة بالملح، وذلك لتقييم تأثير المعالجة المسبقة على كفاءة الاستخلاص. بعد عملية الاستخلاص والتركيز، تم تحديد محتوى الفلافونويدات الكلية، مع التركيز على الروتين كمركب رئيسي باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). أظهرت النتائج وجود فروق ملحوظة في كمية الروتين في العينات الطازجة والمحفوظة بالملح، حيث تبين أن محتوى الروتين في العينات الطازجة  $97.64 \mu g/kg$  وهو أعلى بكثير من محتواه في العينات المحفوظة بالتلميح والتي كانت  $3.71 \mu g/kg$ . تشير النتائج إلى أن طبيعة العينة وظروف حفظها تلعب دوراً هاماً في كفاءة استخلاص المركبات الفعالة، مما يعزز أهمية اختيار الظروف المثلى عند إجراء الدراسات الصيدلانية والدوائية.

### الكلمات المفتاحية

الروتين، الفلافونويدات، القبار، سوكسليه، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء.

## **The Effect of Caper Buds Salting Method on their Rutin Content**

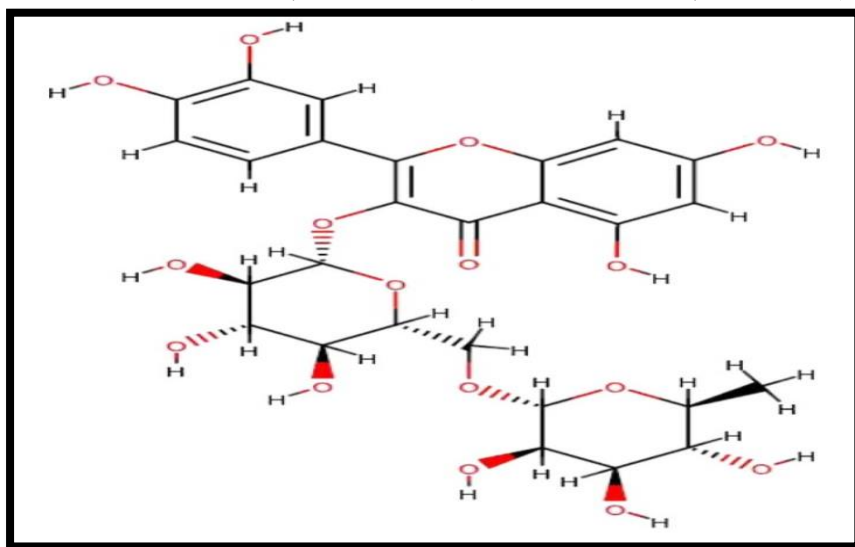
### **Abstract**

Rutin is one of the most important flavonoids due to its remarkable antioxidant, ante-inflammatory, and pharmaceutical properties. In this study, rutin was extracted from *Capparis spinosa* L. using Soxhlet extraction with ethanol as the primary solvent. Two types of samples were investigated: fresh material and salt-preserved samples, in order to evaluate the effect of preservation on extraction efficiency. Following extraction and concentration, the total flavonoid content was determined, with a particular focus on rutin as the major active compound, identified and confirmed by High-Performance Liquid Chromatography technique (HPLC). The results revealed significant differences in rutin content between the two sample types, with fresh samples containing considerably higher amounts of rutin compared to the salt-preserved ones. These findings highlight the critical role of sample type and preservation conditions in the efficiency of bioactive compound extraction, underlining their importance in selecting optimal conditions when conducting pharmaceutical and biomedical studies.

**Key words:** Rutin, flavonoids, *Capparis spinosa L*, Soxhlet, High-Performance Liquid Chromatography

### المقدمة

تُعد الفلافونويدات مجموعة من المواد الطبيعية ذات التركيب الفينولية المتنوعة المنتشرة في النباتات، وتلعب الفلافونويدات دوراً هاماً في الأنشطة البيولوجية في النباتات والحيوانات. ففي النباتات تُعد الفلافونويدات المسؤولة عن لون ورائحة الأزهار. وتعتبر الفلافونويدات الآن عنصراً أساسياً في عدد من التطبيقات الغذائية والصيدلانية والطبية، ويُعزى ذلك إلى خصائصها المضادة للأكسدة والالتهابات والطفيليات والفيروسات، بالإضافة إلى قدرتها على تعديل وظائف الإنزيمات الخلوية الرئيسية [1]. ويُعد الروتين من أبرز مركبات الفلافونيدات، حيث أظهرت العديد من الدراسات أهميته في دعم الجهاز الدوري وتعزيز مقاومة الجسم للإجهاد التأكسدي [2].



الشكل (1) البنية الكيميائية للروتين [3]

يُعد نبات القبار من النباتات البرية التي تنتمي إلى فصيلة القباريات، وينمو بشكل رئيسي في المناطق الجافة والصحراوية. يعتبر الموطن الأصلي لهذا النبات مناطق البحر الأبيض المتوسط وآسيا الصغرى، كما أن القبار يُزرع في بعض الأماكن لأغراض تجارية، خاصةً لاستخلاص مركباته الكيميائية الفعالة التي تُستخدم في الصناعات الدوائية والتجميلية، وهو ما يزيد من أهميته الاقتصادية في العديد من الدول التي تُزرع فيها هذه النبتة [4].

يُعد نبات القبار مصدراً غنياً بالعديد من المركبات الكيميائية الفعالة بيولوجياً، والتي تُسهم في خصائصه العلاجية والتطبيقية المتعددة. فقد أظهرت دراسة المواد الكيميائية النباتية أن أجزاء مختلفة من هذا النبات مثل الجذور، الأوراق، الأزهار، والثمار، تحتوي على مركبات ذات نشاط بيولوجي مميز [5].

في هذا البحث، تمّ التركيز على مقارنة محتوى الروتين بين عينات من نبات القبار الطازجة وأخرى محفوظة بالملح بتركيز 40% وذلك بهدف دراسة تأثير طريقة الحفظ على تراكيز المركبات الفعالة. ولتحقيق ذلك، تم اعتماد تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء كأداة تحليلية دقيقة لقياس تركيز الروتين ومقارنته بين العينات المختلفة، نظراً لما تمتاز به هذه التقنية من دقة وحساسية عالية في الفصل والتقدير الكمي للمركبات الطبيعية.

وقد أُجريت العديد من الدراسات لتقييم تأثير طريقة التخزين بالملح على المكونات الفعالة في نبات القبار، وبشكل خاص مركب الروتين. فقد أوضح Özcan و Akgün عام (1999) أن حفظ براعم القبار في محاليل ملحية بتركيزات تتراوح بين 10 - 20% من كلوريد الصوديوم يُعد من أكثر الطرق شيوعاً لتخزين القبار لفترات طويلة، إذ ساهمت هذه الطريقة في الحفاظ على الخصائص الفيزيائية للمنتج، مما يجعلها

وسيلة فعالة للحفاظ. إلا أن الدراسة لم تتطرق إلى التغييرات الكيميائية التي قد تطرأ على المركبات الفينولية أو الفلافونويدية أثناء التخزين [6].

في المقابل تناولت دراسة Cincotta وآخرون عام (2022) تطوير عمليات تمليح وتجفيف مبتكرة لثمار القبار، وأشارت النتائج إلى أن المعالجة بالملح أدت إلى انخفاض نسبي في بعض المركبات الفينولية مقارنةً بالعينات الطازجة، مما يدل على أن الملوحة العالية قد تؤثر على ثبات المركبات الحيوية [7].

كما أظهرت دراسة Fotiadou وآخرون عام (2023) مقارنة شاملة لعينات من نبات *Capparis spinosa L* من جزر Cyclades اليونانية خضعت لثلاث طرق حفظ مختلفة: التجفيف الهوائي، التخزين في محلول ملحي، وإزالة الملح بعد التمليح. وأوضحت النتائج باستخدام تقنية الكروماتوغرافية الطبقيّة عالية الأداء (HPTLC) أن محتوى الروتين في العينات المملحة كان أقل بكثير ( $11.51 - 19.53 \text{ mg/g}$ ) مقارنةً بالعينات المجففة أو المزالة الملح ( $23.84 - 44.19 \text{ mg/g}$ ). وقد فسّر الباحثون هذا الانخفاض بإمكانية حدوث تحلل جزئي لمركبات الفلافونويد أو تأثر الوزن الجاف بوجود الملح خلال التخزين [8].

ومن خلال هذه النتائج يتضح أن طريقة الحفظ بالملح، رغم فعاليتها في إطالة مدة التخزين، قد تحدث تغييرات كيميائية تؤثر سلباً في تراكيز المركبات الفينولية والفلافونويدية، وعلى رأسها الروتين، مما يبرر أهمية دراسة تأثيرها كميّاً في ظروف مختلفة من التركيز ومدة التخزين.

#### هدف البحث

يهدف البحث إلى استخلاص وتحديد كمية مركب الروتين في براعم نبات القبار باستخدام جهاز الاستخلاص سوكسليه والإيتانول كمذيب، ومن ثم تحليل العينات باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء. كما يهدف إلى مقارنة محتوى الروتين بين العينات الطازجة والعينات المحفوظة بالملح، وتوضيح تأثير عملية الحفظ على ثبات وفعالية الروتين.

### المواد وطرائق البحث

#### 1. جمع العينات وتحضيرها

تم جمع نبات القبار من مناطق محددة في مدينة حماة خلال موسم الصيف. قُسمت العينات إلى نوعين:

- **عينات طازجة:** تم تنظيف البراعم الزهرية بعناية من الشوائب، وغُسلت بالماء المقطر قبل الاستخدام مباشرة.
- **عينات محفوظة بالملح:** تمّ تغطية البراعم الزهرية بنسبة 40% ملح حسب طريقة حفظ تقليدية، وثُرّكت لمدة شهر قبل الاستخدام، ثمّ أُزيل الملح عن طريق الغسل بالماء المقطر.



## 2. المواد الكيميائية والكواشف

- المذيب: إيثانول  $\leq 99.5\%$  من إنتاج شركة Sigma Aldrich
- المواد القياسية: الروتين.
- ملح كلوريد الصوديوم NaCl عالي النقاوة من إنتاج شركة Merck
- ماء مقطر لتحضير المحاليل.
- جميع المواد الكيميائية الأخرى كانت من درجة التحليل (Analytical grade).

## 3. طريقة الاستخلاص [9]

- تم وزن 100g من كل عينة (طازجة أو مملحة بعد الغسل).
- وُضعت العينات في جهاز ساكسولييه (Soxhlet apparatus) مع 80 ml من الإيثانول كـمذيب.

- مدة الاستخلاص:
  - ✓ العينات الطازجة: 6 ساعات عند درجة غليان المذيب.
  - ✓ العينات المملحة: 9 ساعات عند درجة غليان المذيب.
- بعد الاستخلاص، ركز المستخلص تحت ضغط منخفض باستخدام جهاز Rotary Evaporator عند 40°C للحصول على مستخلص مركز.



الشكل (3) عملية الاستخلاص باستخدام ساكسوليه

4. التحليل الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء [10]

- العمود:  $C 18, 150 \times 4.6 \text{ mm}, 5\mu\text{m}$ .

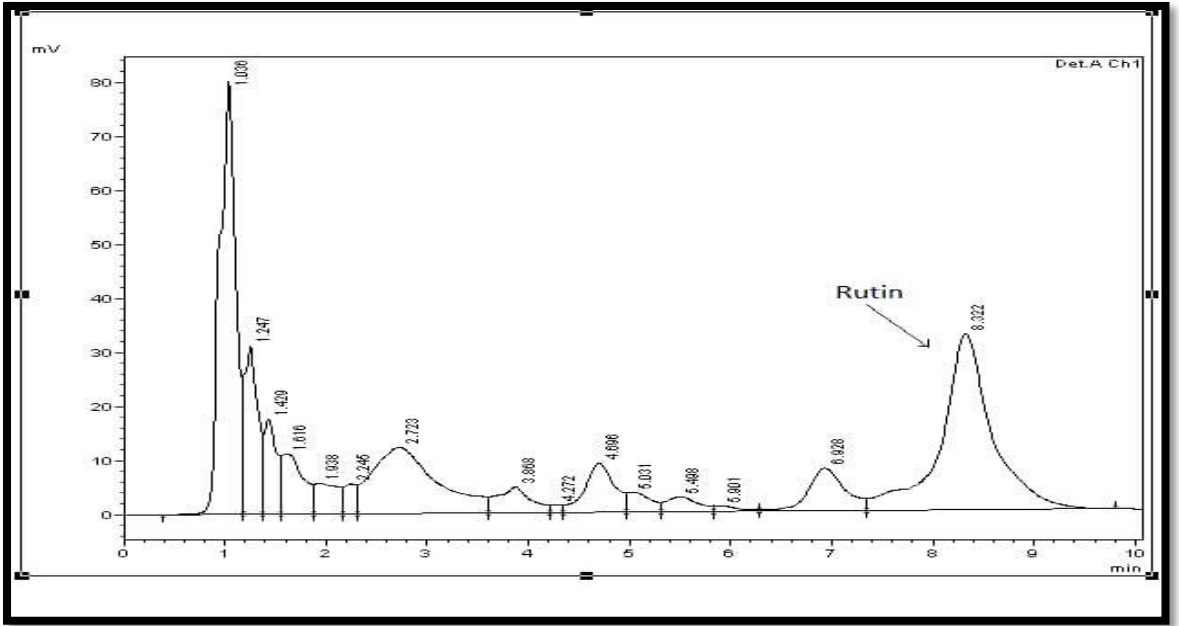
- الطور المتحرك: محلول مائي (حمض الفوسفوريك 0.1%) وميتانول (30 V/V: 70).
- تدفق الطور المتحرك: 1.0 ml/min.
- درجة الحرارة: 25°C.
- الكشف: الطيف عند طول الموجة 250 nm.
- العينة: المستخلصات المذابة في الإيثانول مرشحة بواسطة فلتر 0.45 µm قبل الحقن.
- كمية الحقن: 20 µL لكل تحليل [10].
- 5. المعايرة والتحليل الكمي
- تم إعداد منحنى معايرة للروتين باستخدام محاليل قياسية بتركيزات مختلفة (5 – 100 µg/ml).
- تم حساب تركيز الروتين في كل مستخلص باستخدام المعادلة الخطية لمنحنى المعايرة.
- أجري كل تحليل ثلاث مرات لضمان الدقة والتكرارية.

#### النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التحليل الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء (HPLC) وجود فروق واضحة في محتوى الروتين بين العينات الطازجة والعيّنات المحفوظة بالملح.

#### • العينات الطازجة

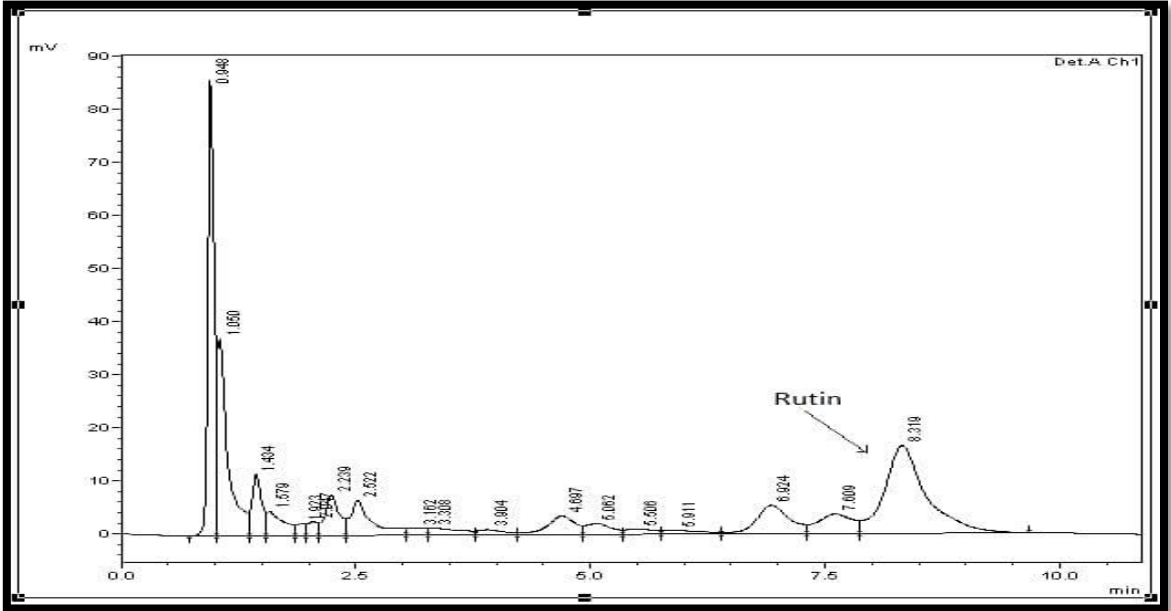
تميزت بقمة واضحة للروتين عند زمن احتجاز يقارب 7.0 min مع مساحة قمة مرتفعة كما هو موضح بالشكل (4)، مما يعكس وفرة المركب في البراعم الزهرية الطازجة. كما ظهرت قمم ثانوية أخرى تشير إلى وجود مركبات فينولية وفلافونويدية إضافية.



الشكل (4) يوضح قمة الروتين في العينات الطازجة باستخدام HPLC

• العينات المملحة

أظهرت انخفاضاً ملحوظاً في ارتفاع قمة الروتين، مع انزياح بسيط في زمن الاحتجاز (8.2 min) كما هو موضح في الشكل (5) ويُعزى هذا الانخفاض إلى التأثيرات الناتجة عن عملية الحفظ بالملح، والتي قد تؤدي إلى تفكك أو تحلل جزئي للروتين، أو إلى استخلاص بعض مكوناته بفعل التفاعلات الأسموزية أثناء التحليل.



الشكل (5) يوضح قمة الروتين في العينات المملحة باستخدام HPLC

• المقارنة بين العينات

يتضح من الجدول (1) أدناه أن تركيز الروتين في العينات الطازجة أعلى بكثير من العينات المملحة، وهو ما يشير إلى أن عملية الحفظ بالملح تؤثر سلباً على ثباتية الفلافونيدات، مما يقلل من فعاليتها البيولوجية.

الجدول (1) تركيز الروتين في عينات القبار

تركيز الروتين ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	نوع العينة
97.64	الطازجة
3.71	المملحة

أظهرت نتائج التحليل الكروماتوغرافي باستخدام HPLC أن براعم نبات القبار الطازجة تحتوي على تركيز مرتفع من الروتين ( $97.64 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) بينما انخفض تركيزه بشكل ملحوظ في العينات المملحة ليصل إلى ( $3.71 \mu\text{g}/\text{kg}$ ).

يمكن تفسير هذا التباين الكبير بين العينتين بعدة عوامل:

1. **تأثير عمليات الحفظ بالملح:** المعالجة بالملح تؤدي إلى حدوث تغيرات كيميائية في المركبات الفينولية، بما في ذلك الفلافونويدات مثل الروتين. هذه العملية قد تسبب أكسدة أو تحلل إنزيمي للمركبات الفعالة، مما يقلل من كميتها بالمنتج النهائي [6].

2. **ذوبان الروتين في محلول الملح:** تشير بعض الدراسات إلى أن الفلافونويدات قد تكون عرضة للذوبان في محاليل الحفظ، مما يفسر فقدان جزء كبير منها عند نقع البراعم في محلول ملحي عالي التركيز 40% [11].

3. **فترة التخزين:** طول فترة بقاء البراعم المملحة في ظروف غير مثالية (مثل التعرض للحرارة أو الضوء) قد يسرع من عملية التحلل، وهو ما ينسجم مع دراسات سابقة أوضحت أن تخزين النباتات الطيبة في ظروف غير محكمة يقلل من محتواها من المركبات الفعالة [11].

تشير النتائج المستخلصة من الدراسات العملية المختلفة إلى جانب النتائج العملية لهذه الدراسة، إلى أن عملية الحفظ بالملح (pickling) تُعد من أكثر طرق الحفظ شيوعاً لبراعم نبات القبار، إلا أنها تُحدث تغيرات ملحوظة في التركيب الكيميائي للمركبات الفعالة، وعلى وجه الخصوص مركب الروتين الذي يُعتبر من أبرز الفلافونويدات ذات الأهمية الدوائية.

لقد بينت معظم الأبحاث أن محتوى الروتين في براعم القبار الطازجة يكون أعلى مقارنةً بنظيراتها المحفوظة بالملح، حيث أظهرت دراسة باستخدام أن الحفظ بالملح يؤدي إلى انخفاض كبير في الفينولات الكلية ومركب الروتين تحديداً مقارنةً مع العينات الطازجة. كما أوضحت دراسة أخرى على القبار التجاري المخلل أن محتوى الروتين قد انخفض بنسبة تقارب 33% بعد التمليح، ويرتبط ذلك جزئياً بحدوث تحولات إنزيمية وميكروبية خلال عملية التخليل، مما يؤدي إلى تحول جزء من الروتين إلى مركبات أخرى مثل الكيرسيتين الذي يمتلك بدوره نشاطاً بيولوجياً مهماً [7,8,9].

من الناحية التطبيقية، ورغم أن عملية الحفظ بالملح تساهم بشكل فعال في إطالة فترة صلاحية براعم القبار وإتاحتها للاستهلاك على مدار العام، إلا أن هذا يأتي على حساب انخفاض تركيز الروتين وفعاليتيه الحيوية. وعليه، فإن نتائج هذه الدراسة مدعومة بالأدبيات العلمية السابقة، تؤكد أن الاختيار بين الاختيار بين استهلاك القبار الطازج أو المحفوظ يجب أن يُبنى على التوازن بين الفوائد الغذائية والقيمة الدوائية من جهة، والحاجة إلى الإطالة التخزينية وضمان التوفر التجاري من جهة أخرى.

وعليه يمكن القول إن الروتين، رغم انخفاض نسبته في القبار المملح، يبقى حاضراً بكمية معتبرة تتيح للقبار المحفوظ الاستمرار كمصدر طبيعي مهم للفلافونويدات ذات النشاط الحيوي. غير أن الطازج يظل الخيار الأمثل للحصول على أقصى فائدة غذائية ودوائية [8,12].

### الاستنتاجات والتوصيات

نورد فيما يلي مجموعة من الاستنتاجات والتوصيات المتعلقة بالبحث وهي:

- أظهرت نتائج التحليل الكروماتوغرافي أن براعم القبار الطازجة تحتوي على أعلى تركيز من مركب الروتين مقارنةً بالعينات المحفوظة بالملح.
- عملية الحفظ بالملح تؤثر سلباً على استقرار المركبات الفعالة. مما يؤدي إلى انخفاض كميتها وقيمتها البيولوجية الفعالة.
- رغم الانخفاض الملحوظ، إلا أن الروتين مازال حاضراً في القبار المملح بتركيز يمكن اعتباره ذات أهمية غذائية ودوائية.
- يوصى باستهلاك القبار الطازج قدر الإمكان للاستفادة المثلى من محتواه الفلافونويدات، وعلى رأسها الروتين.
- هناك حاجة لتطوير طرق حفظ بديلة (مثل التجفيف) تساهم في الحفاظ على فعالية الروتين في العينات النباتية.
- يُقترح إجراء دراسات مستقبلية تشمل تقييم مركبات أخرى ذات نشاط بيولوجي في القبار وربطها بالطرق المختلفة للحفظ والمعالجة.
- يمكن توظيف القبار كمصدر طبيعي للفلافونويدات في الصناعات الصيدلانية لإنتاج مستحضرات دوائية مضادة للأكسدة، وكذلك في الصناعات الغذائية لإنتاج منتجات ذات قيمة صحية مضافة.

## المراجع

1. Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. 2021. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26(17), 5377.
2. Zheng, H. & Ma, Z. F. 2018. Phytochemical and Pharmacological Properties of *Capparis spinosa* as a Medicinal Plant. *Nutrients*, 10(2), 116.
3. Ganeshpurkar, A. & Saluja, A. K. 2017. The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi pharmaceutical journal* 25(2), 149-164.
4. Pendyala, V. Suryadevara, V. Jasti, T. & Krothapalli, L. 2016. Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Capparis Zeylanica* stem extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 5(6), 85.
5. Olas, A. 2023. The Current State of Knowledge about the Biological Activity of Different Parts of Capers. *Nutrients* 15(3),623.
6. Özcan, M. & Akgül, A. 1999. Storage quality in different brines of pickled capers (*Capparis spp.*). *Grasas y Aceites*, 50(1), 51-54.
7. Cincotta, F. Merlino, M. Verzera, A. Gugliandolo, E. & Condurso, C. 2022. Innovative process for dried Caper (*Capparis*

*spinosa* L.): Technological and quality aspects. Foods, 11(21), 3387.

8. Fotiadou, E. Cheilari, A. Graikou, K. & Chinou, I. 2025. Comparative Study by *HPTLC* of Selected *Capparis spinosa* Samples (Buds and Leaves) from the Cycladic Islands in Greece. Food 14(10), 1827.

9. Redfern, J. Kinninmonth, M. Burdass, D. & Verran, J. 2014. Using Soxhlet Ethanol Extraction to Produce and Test Plant Material (Essential Oils) for Their Antimicrobial Properties. Journal of Microbiology & Biology Education, 15(1), 45-46.

10. Bhati, C. Minocha, N. Purohit, D. Kumar, S. Makhija, M. Saini, S. Kaushik, D. & Pandey, P. 2022. High Performance Liquid Chromatography: Recent Patents and Advancement. Biomedical and Pharmacology Journal, 15(2), 729-746.

11. Gião, M. S. Pereira, C. I. Pintado, M. E. & Malcata, F. X. 2013. Effect of technological Processing upon the antioxidant capacity of aromatic and medicinal plant infusions: From harvest to Packaging. LWT-Food Science and Technology 50(1), 320-325.

12. Kaşıkçı, M. B. & Bağdatlıoğlu, N. 2024. Bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity in raw and pickled capers. Journal of Food Science and Technology 61(1), 106-116.