جامعة الموصل
كلية التربية للبنات

الفصل الكروماتوغرافي لبعض المركبات الطبيعية لبذور نبات الكمون العراقي *Cuminum cyminum L.* ودراسة تأثيرها التثبيطي لنوعين من البكتريا

زينب نواف حماد عفين الجغيفي

رسالة ماجستير

علوم الحياة

بإشراف

الأستاذ الدكتور

أياد جاجان الداؤدي

1444هـ 2022م

الخلاصة

عمدنا في هذه الدراسة إلى التحري في كيمياء النبات عن بعض المواد الفعالة لبذور أحد نباتات الفلورا العراقية وهو نبات الكمون العراقي *Cuminum Cyminum L.*، إذ تم استعمال جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhlet) باستعمال مذيبات عضوية مختلفة وهي (الإيثر البترولي Cu_1، الكلوروفورم Cu_2، خلات الأثيل Cu_3، الإيثانول Cu_4 والماء الحار Cu_5).

كذلك تم إجراء عملية الصوبنة للمستخلصات الخامة (Cu_5 Cu_1, Cu_2, Cu_3, Cu_4,) من أجل الحصول على الأحماض الدهنية، إذ تم تشخيصها بوساطة تقنية السائل الغازي الكروماتوغرافي (GLC)، فقد ظهر لدينا خمسة أحماض دهنية، هي على النحو الاتي: (البالمتك، الستيارك، اللينوليك، اللينولينك والأوليك)، إذ ظهر حامض الأوليك في أعلى تركيز في أغلب المستخلصات المستعملة، في حين ظهر حامض الستيارك بأقل تركيز في كل المستخلصات الخامة لقلة قطبيته.

وقد وثّقت دراستنا الحالية فصل وتشخيص عدد من مركبات الزيت الطيار لبذور نبات الكمون العراقي، وذلك باستعمال جهاز التقطير المحور (كليفنجر) للزيت الخفيف وشُخِّصَت هذه المركبات بوساطة تقنية السائل الغازي الكروماتوغرافي (GLC)، وتمثلت في الآتي: (ألفا– بنين، المنثول، التربنيين، اللايمونين واللينالول) وتمثل التركيز الأعلى باللينالول (33.5%) وأقل تركيز تمثل باللايمونين (1.58%).

وتمكنا أيضاً من فصل وتشخيص مركب الكيومان الديهايد Cuminaldehyde من بذور نبات الكمون العراقي بوساطة تقنية الـ (GLC) ولكن بظروف مختلفة عن الظروف السابقة من حرارة واستعمال عمود آخر، إذ ظهر الكيومان الديهايد بتركيز (33.1%) وبزمن احتجاز (5.88) دقيقة.

تم اجراء عملية التحلل الحامضي Acid hydrolysis لثلاثة مستخلصات خامة وهي (Cu_5, Cu_4, Cu_3) من أجل تحرير المركبات الفينولية، وباستعمال تقنية السائل عالي الأداء الكروماتوغرافي (HPLC) تم تشخيص ثمانية مركبات فينولية وهي: (الأبكنين، حامض الكاليك، حامض السيرنجيك، حامض الفانيلك، الروتين، الكورسيتين، الكامفيرول وبارا – حامض الكوماريك) وقد لوحظ بأن حامض الفانيلك ظهر بأعلى تركيز mg/g 0.095184 من

المستخلصات الفينولية المفصولة، في حين ظهر الأبكنين بتركيز mg/g 0.006488 أقل من بين المستخلصات الفينولية عينة الدراسة.

كذلك فُصلت وشُخصت مركبات فينولية من خلال استعمال تقنية العمود الكروماتوغرافي (CC)، إذ تم الحصول على ثلاثة أجزاء وهي: (خلات الأثيل: الإيثانول F_1) و (الإيثانول F_2) و (الميثانول F_3) وباستعمال الـ HPLC شُخصت خمسة مركبات فينولية في الجزء (F_2) وهي كما يأتي: حامض الكافيك، حامض السيرنجيك، بارا – حامض الكوماريك، الأبكنين والروتين أما الجزء (F_3) فقد ظهرت فيه أربعة مركبات فينولية وهي: حامض السيرنجيك، بارا – حامض الكوماريك، الكامفيرول، والكورسيتين، وقد لوحظ بأن حامض الكافيك قد ظهر باستعمال العمود الكروماتوغرافي فقط، اما الروتين فقد ظهر بتركيز أعلى من البقية في الجزء (F_2).

كما بيّنت دراستنا من فصل وتشخيص عدداً من الأحماض الأمينية باستعمال تقنية Amino Acid Analyzer (A.A.A) إذ تم تشخيص ثلاثة عشر مركّباً منها وهي: (الآلانين، الاسبارجين، حامض الاسبارتيك، حامض الكلوتاميك، الكلايسين، البرولين، الميثونين، الليوسين، فنيل الانين، السيرين، الفالين، التربتوفان والآيزوليوسين) وقد تم ملاحظة التركيز الأعلى وهو Mg/g 30.46 للميثونين في حين كان الأقل تركيز هو التربتوفان Mg/g 17.44 من بقية الأحماض الأمينية الأخرى.

ولتحقيق الفائدة من تشخيص بعض هذه المواد الفعالة لبذور نبات الكمون العراقي سعينا الى دراسة تأثيرها على نوعين من البكتريا (*E. coli* و *S. aureus*) الممرضة للإنسان من خلال ملاحظتنا للتثبيط الذي حصل في الإطباق، إذ كان أعلى تثبيط هو 32.3 ملم وسبّبه مستخلص الماء الحار (Cu_5) عند تركيز 100% وأقل تثبيط هو 15.2 ملم الذي سبّبه مستخلص الماء الحار (Cu_5) عند تركيز 25% في بكتريا *S. aureus* (G^+)، في حين كان أعلى تثبيط في بكتريا *E. coli* (G^-) هو 26.1 ملم الذي سبّبه مستخلص الماء الحار (Cu_5) عند تركيز 75% ، وأقل تثبيط هو 13.6 ملم الذي سبّبه مستخلص الإيثانول (Cu_4) عند تركيز 75%.

Summary

Phytochemical screening of some active components from the seeds of Iraqi flora plants under study, Cuminum Cyminum L.Where was used a continuous extractor apparatus (soxhlet) by using different organic solvents which are [Pet. ether (Cu_1), Chloroform (cu_2), Ethyl acetate (Cu_3), Ethanol (Cu_4) and hot water (Cu_5)] in order to get fatty acids where has been identified by using (GLC) technique five fatty acids were appeared as following (Palmatic, Stearic, Linoleic, Linolenic and Oleic acids), Where Oleic acid was appeared at a highest concentration in most used extracts while Stearic acid at a lowest concentration in all crude extracts as a result of decreasing of polarity.

Our current study was confirmed that the separation and identification of many compounds of volatile oil for the seeds of Iraqi cumin plant by using converted distillation device (Clevenger) for light oil and identify these compounds by using (GLC) technique and they are as following (∝-Pinene, Menthol, Terpine, Limonene and Linalool). The highest concentration was representen in Linalool (33.5%) and the lowest concentration was represent in Limonene (1.58%).

We were also able to separate and identify cumin aldehyde from the seeds of Iraqi cumin different condition from the previous condition by heat and using other column, also the cumin aldehyde appeared with concentration (33.1%) and with retention time at 5.88 minute.

The acid hydrolysis prosses was carried out for three crude extracts and they are (Cu_3, Cu_4, Cu_5) in order to liberate Phenolic compounds. Eight Phenolic compounds were identified by using (HPLC) technique and they are as following: (Apigenin, Gallic acid, Syringic acid, Vanillic acid, Rutin, Quercetin, Kaempferol and P-Coumaric acid). It has been observed that Vanillic acid appeared at the highest concentration (0.095184 mg/g) from the separated Phenolic extracts while Apigenin appeared at the lowest concentration (0.006488 mg/g). Also Phenolic compounds were separated and identified by using column chromatography (CC) technique, and we obtained three fractions (Ethanol: Ethyl acetate F_1, Etanol F_2 and Methanol F_3). Five Phenolic compounds were identified by using (HPLC) technique in the fraction (F_2) and they are as following (Caffeic acid, Syringic acid, P-Coumaric acid, Apigenin and Rutin), while four Phenolic compounds were appeared In the fraction (F_3) and they are (Syringic acid, P-Coumaric

acid, Kaempferol and Quercetin) and it has observed that Caffeic acid was appeared only by using column chromatography (CC) technique. Also, Rutin appeared at the highest concentration from the rest compounds in the fraction (F_2).

Our study also showed from the separation and identification of many amino acid by using Amino Acid Analyzer (A.A.A) and identify thirteen compounds as following (Alanine, Asparagine, Aspartic acid, Glutamic acid, Glycine, Proline, Methionine, Lucien, Phenylalanine, Serine, Valine, Tryptophan and Isoleucine). It has observed that the highest concentration (30.46 $\mu g/g$) for Methionine, while the lowest concentration (17.44 $\mu g/g$) for Tryptophan from the rest other amino acids.

In order to get the benefit from the identification of some active compounds, from the seeds of Iraqi Cumin plant, the study included their effect on two types of bacteria that are pathogenic to humans(*E. coli* and *S. aureus*) through our observation to the inhibitory that occured in the dishes. The highest inhibition was (32.3 mm) that caused by hot water extract (Cu_5) at the concentration of 100% and the lowest inhibition was (15.2 mm) that caused by the hot water extract (Cu_5) at concentration 25% in bacteria (G^+) *S. aureus*, while the highest inhibition in bacteria (G^-) *E. coli* was (26.1 mm) that cause by hot water extract (Cu_5) at concentration 75%, and the lowest inhibition was (13.6 mm) caused by Ethanolic extract (Cu_4) at concentration 75%.

University of Mosul

Education College for Girls

Biology Department

Chromatographic Separation of some Natural compounds from the seeds of Iraqi *Cuminum cyminum L.* plant and studying its Inhibitory effect on two types of bacteria

Zainab Nawaf Hammad Ufain AlJeghaifi

M. Sc. Thesis

Biology

Supervised By

Prof. Dr. Ayad Chachan Al-Daody

2022 A.D **1444 A.H**