Tanabe, M, Chen, Y, Saito K, and **Kano, Y** (1993) Comparison of the antioxidant activities of 22 commonly used culinary herbs and spices on the lipid oxidation of pork meat. *Chem. Pharm. Bull.* **41**: 710-713.

Umemura, T, Ueda, K, Nishioka, K, Hidaka, T, Takemoto, H, Nakamura, S, Jitsuik, D, Soga, J, Goto, C, Chayama, K, Yoshizumi, M, and **Higashi, Y** (2006) Effect of acute administration of caffeine on vascular function. *Am. J. Cardiol.* **98**:1538-1541.

Williams, S (1984) *Nitrated and Nitrites in Meat, in Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists*. AOAC, Arlington, Virginia, USA.

Ref. No. (2451)
Rec. 23/08/2007
In-revised form: 10/01/2009

inflammatory protein production and cancer cell proliferation accompanied by apoptosis the alpha, beta-unsaturate carbonyl group is a prerequisite. *Carcinogenesis*. **23**: 795-802.

Nassar, MI (2005) Flavonoid triglycoside from the seeds of *Syzygium Aromaticum*. *Carbohydr. Res*. **341**: 160-163.

Olak-Bialon, B, Marciz, C, Jonderko, G, Olak, Z, Szymszal, J, and **Orzel, A** (2004) Dose coffee drinking influence serum uric acid concentration? *Wiad. Lek*. **1**: 233-237.

Prashar, A, Lock, IC, and **Evans, CS** (2006) Cytoxicity of clove (*Syzgium Aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell. Prolif*. **39**: 241-248.

Premkumar, K, Thirunavukkarasu, C, Abraham, SK, Santhiya, ST, and **Ramesh, A** (2006) Protective effect of saffron (*Crocus Sativus* L.) aqueous extract against genetic damage induced by anti-tumor agents in mice. *Hum. Exp. Toxicol*. **25**: 79-84.

Price, CP, and **Koller, PU** (1988) Determination of Plasma Urea. *J. Clin. Chem.Clin.Biochem*. **26**: 233-250.

Raddy, AC, and **Lokesh, BR,** (1992) Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver mcrosomes. *Mol. Cell. Biochem*. **111**: 24-117.

Sharma, SS, and **Gupta, YK (1998)** Reversal of cisplatin induced delay in gastric emptying in rats by giger (*Zingiber officinals*). *J. Ethnopharmacol*. **62**: 49-55.

Shimoda, H, Seki, E, and **Aitani, M** (2006) Inhibitory effect of green coffee extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC. Complement. Altern. Med*. **17**: 6-9.

Singh, UP, Singh, DP, Maurya, S, Maheshwari, R, Singh, MS, Dubey, RS, and **Singh, RB** (2004) Investigation on the phenolics of some spices, having pharmacotherapeuthic properties. *J. Herb. Pharmacother*. **4**: 27-42.

Suzuki, A, Fujii, A, Yamamoto, N, Ohminami, H, Kameyama, A, Shibuya, Y, Nishizawa ,Y, Tokimitsu, I, and **Saito, I** (2006) Improvement of hypertension and vascular dysfunction by hydroxyhydroquinone-free coffee in agenetic model of hypertension. *FEBS. Lett*. **580**: 2317-2322.

المراجع

Aeschbacher, HU, and **Jacc, E** (1990) Inhibition by coffee of nitrosourea-mediated DNA damage in mice. *Food. Chem. Toxicol.* **9**: 633-637.

Afzal, M, Al-Hadidi, D, Menon, M, Pesek, J and **Dhami, MS** (2001) Ginger: an ethnomedical, chemical and pharmacological review. *Drug. Metabol. Intract.* **18**: 159-190.

Al-Bataina, BA, Maslat, AO, and **Al-Kofahil, MM** (2003) Element analysis and biological studies on ten oriental spices using XRF and Ames test. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* **17:**85-90.

Azam, SN, Khan, NU, and **Hadi, SM** (2003) Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Med. Sci. Monit.* **9**: 325-330.

Bancroft, JD, and **Stevens, A** (1996) *Theory and Practice of Histological Technique*. Churchill and Livingston press, Edinburgh, London, Melbourne and New York.

Becalski, A, Lau, BP, Lewis, D, Seaman, SW, and **Sun, WF** (2005) Determination of acryl amide in various food matrics: evaluation of LC and GC mass spectrometric methods. *Adv. Exp. Med. Biol.* **561**: 271-284.

Bergmeyer, HU (1974) *Methods of Enzymatic Analysis Bergmeyer (ed), Verlag Chemie Weinheim*. Academic press, New York.

Birkett, DJ, Miners, JO, Valenete, L, Lillywhite, KJ, and **Day, RO** (1997) 1- Methylxanthine derived from caffeine as a pharmacodynamic prob of oxypurinol effect. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **43**: 197-200.

Buege, JA, and **Aust, SD** (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods.Enzymol.* **52**: 302-315.

Carmona, M, Zalacain, A Sanchez, AM, Novella, JL and **Alonso, GL** (2006) Crocetin esters, picrocrocin and its related compounds present in *crocus sativus* stigmas and gardenia jasminoides fruits. Tentative identification of seven new compounds by LC-ESI-MS. *J. Agric. Food. Chem.* **54**: 973-979.

Clifford, M.N, Marks, S, Knight, S, and **Kuhnert, NJ** (2006) Characterization by LC-MS(n) of four new classes of P- Coumaric acid containing diacyl chlorogenic acids in green coffee beans. *Agric. Food. Chem.* **54**: 4095- 4101.

Dehagan, A, Yamini, Y, Shemirani, F and **Assadi, Y** (2006) Solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry: a very methods for identification of volatile organic compound emitted by carum copticum. *Nat. Prod. Res.* **20**: 850-859.

Delgado-Andrade, C, Rufiau-Henares, JA, and **Morales, FJ** (2005*)* Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *J. Agric. Food. Chem.* **53**: 7832-7836.

El Daly, ES (1998). Protective effect of cysteine and vitamin E, *Crocus Sativus and Nigella Sativa* extracts on cisplatin-induced toxicity in rats. *J. Pharm. Belg.* **53**: 87-95.

Escribano, J, Rios, I, and **Fernandez, JA** (1999) Isolation and cytotoxic properties of anovel glycoconjugate from corms of saffron plants (*crocus sativos* L.). *Biochem. Biophys. Acta.* **1426**:217-222.

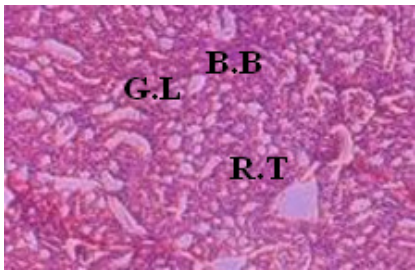
Keum, YS, Kim, J, Lee, KH, Park, KK, Surh, YJ, Lee, SS, Yoon, JH, Joo, SY, Cha, I H, and **Yook, JI** (2002) Induction of apoptosis and caspase-3- activation by chemopreventive 6]]-Paradol and structurally related compound in KB cells. *Cancer Lett.* **177:** 41-47.

Kiyohara, C, Kono, S, Honjo, S, Todoroki, I, Sakurai, Y, Nishiwaki, M, Hamad, H, Nishikawa, H, Koga, H, Ogawa, S. and **Nakagawa, K** (1999) Inverse association between coffee drinking and serum uric acid concentrations in middle-aged Japanese males. *Br. J. Nutr.* **82**: 125-130.

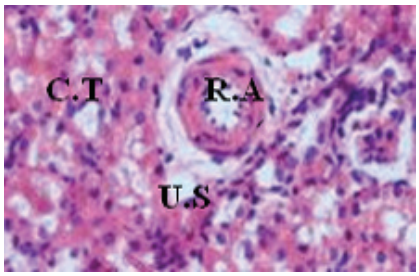
Lucchesi, ME, Chemat, F, and **Smadja, J** (2004). Solvent-free microwave extraction: an in novative tool for rapid extraction of essential oil from aromatic herbs and spices. *J. Microw. Power. Electromagn. Energy* **39**:135-139 .

Minamisawa, M, Yoshida, S, and **Takai, N** (2004) Determination of biologically active substances in roasted coffees using a diode-array HPC system. *Anal. Sci.* **20**: 325-328.

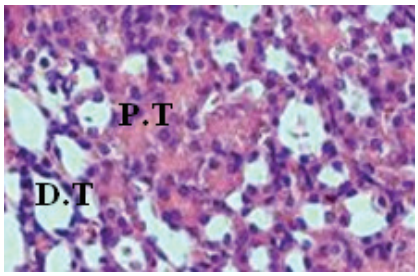
Murakami, A, Takahash, D, Kinoshita, T, Koshimizu, K, Kim, H, W, Yoshihiro, A, Nakamura, Y, Jiwajinda, S, Terao, J and Ohigashi, H (2002) Zerumbone, a southeast asian ginger sequiterpene, markedly suppresses free radical generation, pro-



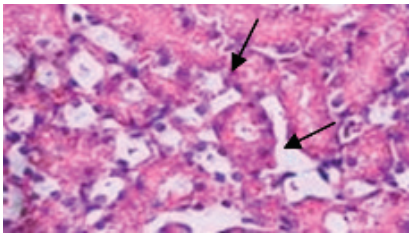
شكل 7-أ. وجود الحافة الفرجونية (B.B) والكبيبة (G.L) والأنيبيبات البولية (R.T). صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X400) في كلى العينة الضابطة.



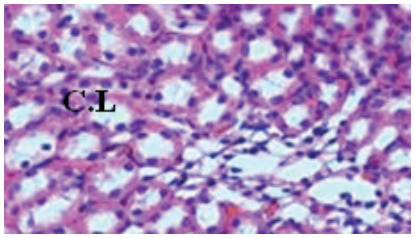
شكل 7-ب. وجود الفراغ البولي (U.S) والشريان الكلوي (R.A) والأنيبيبات الجامعة (C.T).صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة الضابطة.



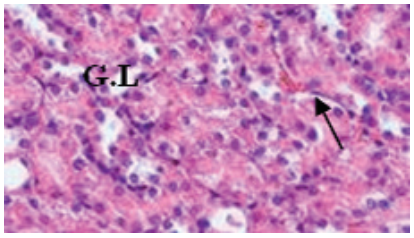
شكل 7-ج. وجود الأنيبة الملتفة القريبة (P.T) والبعيدة (D.T). صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة الضابطة.



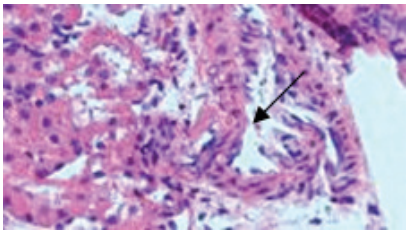
شكل 8-أ. موت للحافة الفرجونية (B.B) وأنوية الأنابيب الملتفة البعيدة (D.T) (السهم)، وتحلل أنبوبي (السهم). صبغة الهيماتوكسلين والأيوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل.



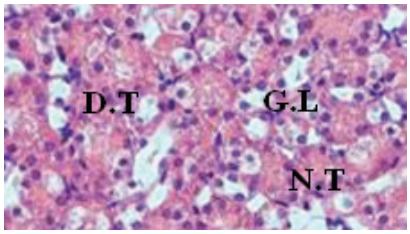
شكل 8-ب. وجود رشح خلوي (C.L) وتحلل أنبوبي (L). صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل.



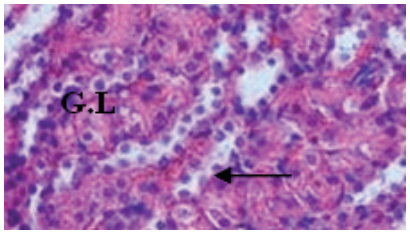
شكل 8-ج. وجود االكبيبات (G.L) والأنابيب الكلوية (R.T) (السهم). صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل.



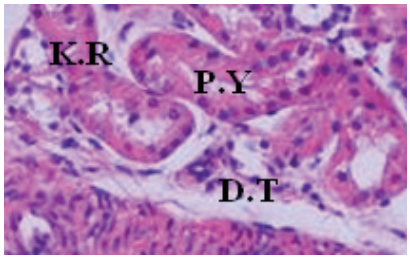
شكل 9-أ. وجود بؤرة نزيفية (السهم) وتحلل للأنوية (K.R). صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل والزعفران.



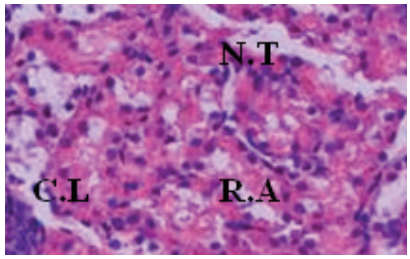
شكل 9-ب. وجود الكبيبة (G.L) والغلاف النووي (N.T) مع وجود أنوية متحللة (K.R) وانيبة ملتفة بعيدة (D.T) وتفتت نووي. صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل والزعفران.



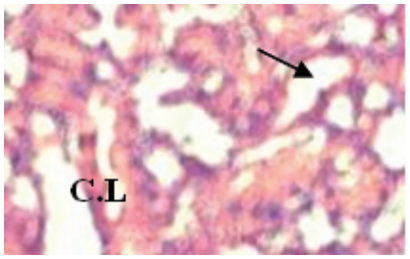
شكل 9-ج. وجود الكبيبة (G.L) وأنيبيبات (R.T) (السهم). صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل والزعفران.



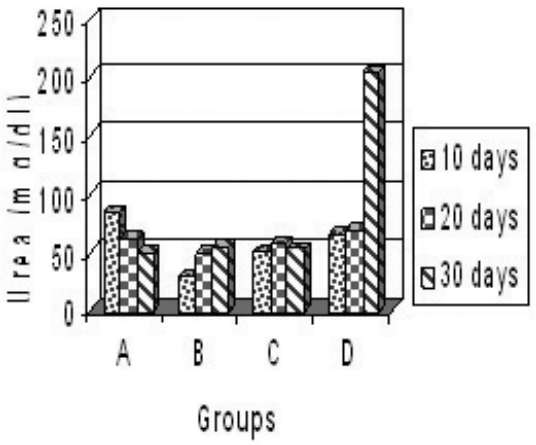
شكل 10-أ. تجطم الطلائية المبطنة للأنيبيبات البعيدة (D.T) مع ضمور للعديد من أنوية الخلايا (P.Y) وتضخم وتحلل البعض الآخر (K.R) واندفاع بعض الأنوية إلى تجويف الأنيبيبات. صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل والزعفران والزنجبيل والنانخة والقرنفل.



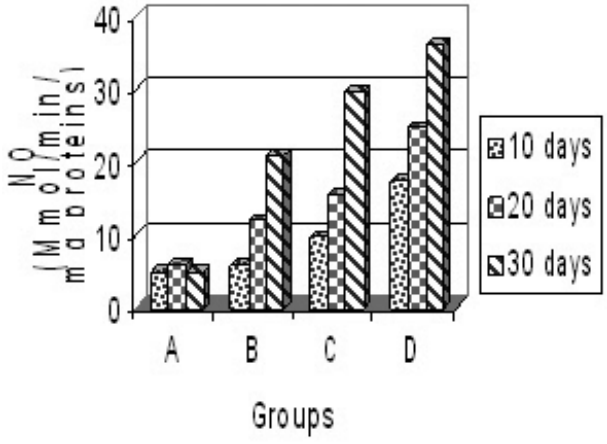
شكل 10-ب. اضطرابات في الأوعية الدموية (B.V) مع تمدد واحتقان للشريان الكلوي (R.A) ورشح خلوي (C.L) مع وجود الغلاف النووي (N.T). صبغة الهيماتوكسلين والأيوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل والزعفران والزنجبيل والنانخة والقرنفل.



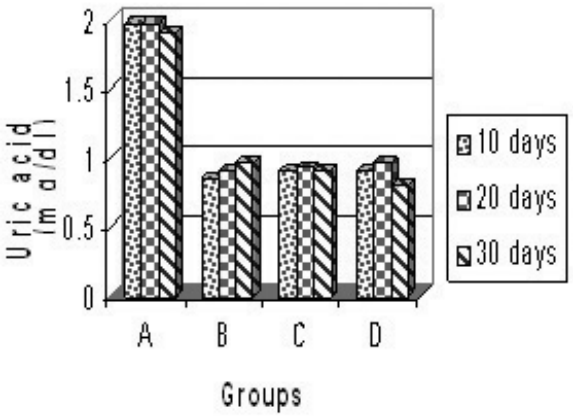
شكل 10-ج. وجود رشح خلوي (C.L) وتحلل أنبوبي (L) (السهم). صبغة الهيماتوكسلين والأ يوسين (X460) في كلى العينة المعطاة القهوة العربية مضافا إليها الهيل والزعفران والزنجبيل والنانخة والقرنفل.



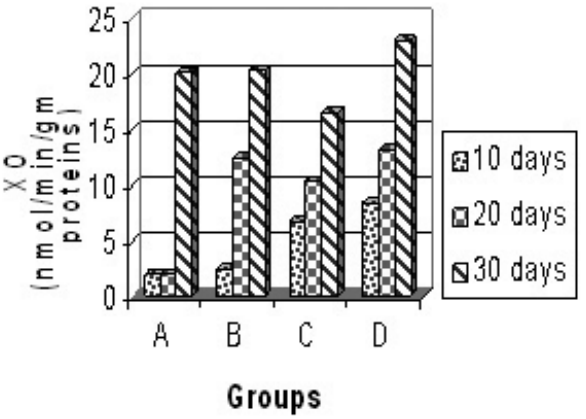
شكل 1. البولينا.



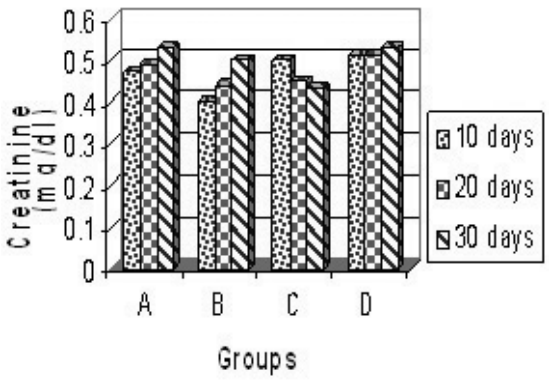
شكل 4. أكسيد النيتريك.



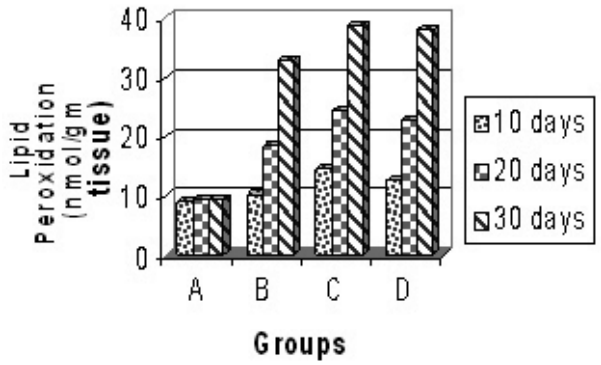
شكل 2. حمض البوليك.



شكل 5. الزانثين أوكسيديز.



شكل 3. الكرياتينين.



شكل 6. فوق أكاسيد الدهون.

شكل 1، 2، 3. التأثيرات المختلفة لطرق تحضير القهوة العربية على بعض المؤشرات البيوكيميائية في مصل الدم.

شكل 4، 5، 6. التأثيرات المختلفة لطرق تحضير القهوة العربية على على بعض المؤشرات البيوكيميائية في نسيج الكلى الفئران.

جدول 2. معامل الارتباط ومستوى المعنوية بين الفئران السليمة (A) والفئران التي تم إعطاؤها القهوة العربية مضافاً إليها الهيل (B)، والقهوة العربية مضافاً إليها الهيل والزعفران (C)، والقهوة العربية مضافاً إليها بالهيل، والزعفران، والزنجبيل، والقرنفل، والنانخة (D)، كلاً على حده، والتي شملت (Urea. Uric acid & Creatinine) في مصل الدم.

Groups	Parameters																	
	Urea (mg/dl)						Uric acid (mg/dl)						Creatinine (mg/dl)					
	10 days		20 days		30 days		10 days		20 days		30 days		10 days		20 days		30 days	
A(B)	0.000	***	0.161	N.S	0.087	N.S	0.000	***	0.000	***	0.008	**	0.183	N.S	0.372	N.S	0.375	N.S
A(C)	0.242	N.S	0.639	N.S	0.212	N.S	0.000	***	0.000	***	0.010	*	0.936	N.S	0.550	N.S	0.006	**
A(D)	0556	N.S	0.482	N.S	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.010	*	0.420	N.S	0.782	N.S	0.953	N.S
B(C)	0.000	***	0.385	N.S	0.684	N.S	0.615	N.S	0.767	N.S	0.827	N.S	0.165	N.S	0.826	N.S	0.021	*
B(D)	0.000	***	0.072	N.S	0.000	***	0.619	N.S	0.953	N.S	0.827	N.S	0.074	N.S	0.283	N.S	0.458	N.S
C(D)	0.610	N.S	0.299	N.S	0.000	***	0.966	N.S	0.746	N.S	1	N.S	0.459	N.S	0.420	N.S	0.011	*

*N.S Non significant; * significant P < 0.05; *** very highly significant P < 0.000.*

جدول 3. معامل الارتباط ومستوى المعنوية بين الفئران السليمة (A) والفئران التي تم إعطاؤها القهوة العربية مضافاً إليها الهيل (B)، والقهوة العربية مضافاً إليها الهيل والزعفران (C)، والقهوة العربية مضافاً إليها بالهيلن والزعفران، والزنجبيل، والقرنفل، والنانخة (D)، كلاً على حدة، والتي شملت (Lipid peroxidation, Xanthin Oxidase, Nitric Oxide) في الكلى.

Groups	Parameters																	
	Nitric Oxide (μmol/min/mg protein)						Xanthin Oxidase (mmol/min/mg protein)						Lipid Peroxidation (nmol/gm tissue)					
	10 days		20 days		30 days		10 days		20 days		30 days		10 days		20 days		30 days	
A(B)	0.462	N.S	0.000	***	0.000	***	0.585	N.S	0.000	***	0.000	***	0.277	N.S	0.000	***	0.000	***
A(C)	0.008	*	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.005	*	0.000	***	0.000	***
A(D)	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.079	N.S	0.000	***	0.000	***
B(C)	0.025	*	0.012	*	0.002	*	0.000	***	0.033	*	0.055	*	0.277	N.S	0.006	*	0.035	*
B(D)	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.000	***	0.374	N.S	0.161	N.S	0.005	*	0.022	*	0.116	N.S
C(D)	0.000	***	0.000	***	0.010	*	0.025	*	0.008	*	0.005	*	0.107	N.S	0.406	N.S	0.460	N.S

*N.S Non significant; * significant P < 0.05; *** very highly significant P < 0.000.*

يتضح من نتائج هذا البحث أن تناول القهوة العربية والمواد المضافة إليها بشكل يومي وبكميات كبيرة كما في المجموعات B وC وخاصة D تؤثر بشكل سلبي على وظائف الكلى وأنسجتها، وتكون خطورتها في تسببها في انتاج كميات كبيرة من الشقوق الحرة والأكاسيد النشطة وفوق أكاسيد الدهون مما يسبب الأضرار البالغة للخلايا والأنسجة. هذا، بالرغم من أن القهوة العربية والمواد المضافة إليها تحتوي على مكونات هامة وفعالة، كما تعمل كمضادات للأكسدة ومزيلة للشقوق الحرة الضارة وذلك في حالة تناولها بشكل منفرد وبكميات بسيطة وعلى فترات قصيرة، كما يثبت ذلك نتائج هذا البحث الذي وضح الأضرار البالغة في الأنسجة الكلوية والاضطرابات الواضحة في تحاليل الدم.

جدول 1. متوسط قيم الدلائل البيوكيميائية والانحراف المعياري للفئران السليمة (A) والفئران التي تم إعطاؤها القهوة العربية مضافاً إليها الهيل (B)، والقهوة العربية مضافاً إليها الهيل والزعفران (C)، والقهوة العربية مضافاً إليها الهيل، والزعفران، والزنجبيل، والقرنفل، والنانخة (D)، كلاً على حده، والتي شملت نشاط الإنزيمات في مصل الدم (Urea، Uric acid and Creatinine)، وفي الكلى (Nitric Oxide، Xanthin Oxidase،Lipid Peroxidation).

Parameters	Groups	A	B	C	D
	Days	Mean±S.D	Mean±S.D	Mean±S.D	Mean±S.D
Urea (mg/dl)	10 days	84±53.8	295.5±0.7***	51.3±0.91	66.7±12.3
	20 days	62±6.1*	99.5±1.7***	57.7±13.4	68.6±17.1
	30 days	50.3±2.4	55.1±1.7	54±3.9	204±4.2
Uric acid (mg/dl)	10 days	1.96±0.2	0.85±0.07	0.9±0.06	0.91±0.07
	20 days	1.96±0.15	0.91±0.07	0.92±0.3	0.96±0.07
	30 days	1.9±0.1	0.96±0.5	0.91±0.07	0.80±0.07
Creatinine (mg/dl)	10 days	0.47±0.6	0.4±0.00	0.5±0.6	0.51±0.07
	20 days	0.49±0.8	0.44±06*	0.45±0.7	0.51±0.07
	30 days	0.53±0.2	0.5±0.06*	0.43±0.5	0.53±0.07
Nitric Oxide (μmol/ min/mg protein)	10 days	4.9±0.4	5.9±0.84***	9.6±1.4*	17.4±2.6***
	20 days	5.8±1.2	12.1±1.1***	15.5±1.5***	24.6±1.2***
	30 days	4.98±0.56	20.8±2.1***	29.6±2.6***	36.1±3.4***
Xanthin Oxidase (mmol/min/mg protein)	10 days	2.03±0.92	2.4±0.22***	6.8±1.4*	8.53±0.5***
	20 days	1.9±0.2	12.5±1.4***	10.3±1.1***	13.3±0.99***
	30 days	2.1±0.14	20.3±2.7***	16.5±1.7***	22.9±2.6***
Lipid Peroxidation (nmol/gm tissue)	10 days	9.2±0.97	10.4±0.98***	14.5±1.4***	12.6±1.6***
	20 days	9.3±1.1	18.4±1.97***	24.4±1.9***	22.9±2.6***
	30 days	9.3±0.98	32.8±1.7***	38.9±3.5***	38.1±2.8***

*Data are presented as mean ± SD; SD =Standard deviation; * significant P < 0.05; *** very highly significant P < 0.000.*

تم استخدام برنامج الإكسيل للرسم البياني Excel.

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج الممثلة في الجدول (1) والأشكال من (1) إلى (6)، عدم وجود فروق معنوية واضحة لدى مستوى كلاً من البولينا وحمض البوليك والكرياتينين عدا المجموعة (B)، فقد ظهرت فروق معنوية في مستوى البولينا بعد 10، 20 يوماً، وكذلك بالنسبة لمستوى الكرياتينين بعد 20، 30 يوماً. وكانت النتائج متقاربة بشكل كبير مع المجموعة الضابطة (A). كما أظهرت الجداول فروق معنوية واضحة لدى المجموعات B و C و D وذلك في مستوى NO ونشاط إنزيمي XO وفوق أكاسيد الدهون، وحدثت زيادة واضحة في مستوى NO، ونشاط إنزيم XO، ومستوى فوق أكاسيد الدهون بعد 10 و20 و30 يوماً مقارنة بالمجموعة الضابطة (A). وربما يعود التذبذب والاقتراب من الثبات لدى مستوى كلاً من البولينا وحمض البوليك والكرياتينين وغير المتوقع قياساً بارتفاع معدل الشقوق الحرة وأكسيد النيتريك وفوق أكاسيد الدهون وتأثيرها السيئ على نسيج الكلى إلى المواد المضافة للقهوة فبعضها مثل الزعفران يسبب انخفاض لمستوى البولينا كما أثبت ذلك El Daly (1998)، وأكد Kiyohara, *et al.* (1999) أن القهوة بها مكونات تخفض مستوى حمض البوليك في مصل الدم. وأضاف Olak-Bialon (2004) أن تناول كميات كبيرة من القهوة تؤدي إلى انخفاض مستوى كلاً من حمض البوليك والكرياتينين في مصل الدم. كما أن تناول كميات كبيرة من القهوة التي تحتوي على الكافيين ترفع نشاط إنزيم XO الذي يعمل على تحويل الهيبوزانثين إلى زانثين ثم إلى حامض البوليك (Birkett, *et al.* 1997).

كما تأكد أن الكميات الكبيرة من الكافيين الموجودة في القهوة تزيد من إنتاج الشقوق الحرة وترفع من مستوى NO وذلك بزيادة تحويل الحمض الأميني الأرجنين إلى سيترولين (Umemura, *et al.* 2006)، وربما لأن حامض الكلوروجينيك الموجود في القهوة يعتبر من المركبات عديدة الفينولات التي تعمل على رفع مستوى NO في الأوعية الدموية، وبالتالي يؤدي ذلك إلى رفع ضغط الدم إضافة إلى أنه يعمل على تثبيط امتصاص الحديد من الأمعاء (Suzuki, *et al.* 2006). كما أن هذا الحامض يعمل على رفع نسبة الدهون في مصل الدم بسبب تثبيطه لامتصاص وأيض الدهون التي تتم في الكبد وبالمقابل يزداد مستوى فوق أكاسيد الدهون والشقوق الحرة (Shimoda, *et al.* 1999). ويعمل مركب بروتيوجليكان Proteoglycan المستخلص من جذور الزعفران على زيادة تكوين النيتريك أوكسيد Nitric oxide عن طريق زيادة نشاط بروتوكينيز Protokinase (Escribano, *et al.* 1999). وأثبتت الدراسات وجود مادة في القرنفل هي اليوجينول وبيتا كاريوفيلين Beta-caryophyllene تتسبب في إتلاف الأنسجة وحدوث سمية في الكبد إذا تم تعاطيه بكميات كبيرة وعلى فترات طويلة (Prashar, *et al.* 2006). ويزداد الأمر خطورة في حال تعاطيه من قبل شخص يعاني أصلا من مشكلات في وظائف الكبد.

ويتضح من الجدول (2) والأشكال (1) و(2) و(3) وجود فروق معنوية بين المجموعات مع بعضها البعض، ويظهر ذلك في مستوى البولينا بين المجموعات A(B) بعد 10 أيام وA(D) بعد 30 يوماً، وB(C) بعد 10 أيام وبين B(D) بعد 10 و30 يوماً وبين C(D) بعد 30 يوماً. وقد ظهرت فروق معنوية في مستوى حمض البوليك بين المجموعات A(B) وA(C) وA(D) عند 10 و20 و30 يوما، وحدثت فروق معنوية في مستوى الكرياتينين بين جميع المجموعات A(B) وA(C) وB(C) وC(D) بعد 30 يوماً. ويؤكد الجدول (3) والأشكال (4) و(5) و(6) أيضا النتائج السابقة، حيث يوضح الفروق المعنوية في مستوى NO بين المجموعات A(C) وA(D) وB(C) وB(D) وC(D) بعد 10 و20 و30 يوماً، فيما عدا المجموعة A(B) حيث لم تظهر فروق معنوية بعد 10 أيام. أما بالنسبة لنشاط إنزيم XO فقد وجدت فروق معنوية بين المجموعات A(C) وA(D) وB(C) بعد 10 و20 و30 يوماً وعند B(D) بعد 10 أيام وA(B) وB(D) بعد 30 يوماً. أما مستوى فوق أكاسيد الدهون فقد أظهرت فروق معنوية بين المجموعتين B(C) وA(C) بعد 10 و20 و30 يوماً، عدا المجموعات A(B) وA(D) و B(C) بعد 20 و30 يوماً وبين B(D) بعد 10 و20 يوماً ولا توجد أي فروق معنوية بين المجموعتين C(D).

توضح الأشكال (7) و(8) و(9) و(10أ، ب، ج) الفحص النسيجي لقطاعات الكلى في جميع المجموعات (A, B, C, D)، وقد أظهرت تطورات واضحة في أنسجة الكلى كلما زادت فترة التجربة، ويتضح بشكل كبير في المجموعة (D) بوجود ضمور وتحلل لبعض الأنوية بعد 10 أيام واحتقان للشريان الكلوي بعد 20 يوماً ورشح خلوي وتحلل أنبوبي بعد 30 يوماً مقارنة بالمجموعات الأخرى وبالمجموعة (A) الضابطة، كما ظهرت تغيرات لشكل الأنسجة الكلوية تشير إلى حدوث بعض الضرر خاصة بعد 30 يوماً في المجموعات (B, C) مقارنة بالمجموعة الضابطة الضابطة (A).

هو موضح في معادلة (4).

$$\text{Nitrate Concentraton (Mmol/gm tissue)} = \frac{\text{absorbance(Sample)}}{\text{absorbance(standard)}} * \text{Conc of St} * \frac{X}{\text{gm tissuein essay}} \quad (4)$$

ب- التقدير الكمي للزانثين أوكسيديز Xanthine Oxidase (XO) باستخدام طريقة (Bergmeyer,1974)، يحفز إنزيم (XO) عملية أكسدة الهيبوزانثين إلى زانثين وكذلك تحويل الزانثين إلى حامض البوليك، كما هو موضح في معادلة (5).

$$\text{Hypoxanthine} \xrightarrow{(XO)} \text{Xanthine} \xrightarrow{(XO)} \text{Uric Acid} \quad (5)$$

وتتم طريقة التقدير بأخذ 1 جرام من نسيج الكلي وطحنه مع 10 مل من ماء مقطر ومثلج ثم وضعه في أنابيب لعمل الطرد المركزي. المحلول الرائق يحتوي على إنزيم الزانثين أوكسيديز الذي يمزج مع خليط من محلول الفوسفيت المنظم (100مل/مول) (أس هيدروجيني 7.8) + حامض رباعي خليك إيثيلين ثنائي الأمين (0.86) (EDTA مل/مول) + محلول فينازين ميثوسلفيت (5.7) (PMS ميللجرام/مل) + ملح نيترو بلوتترازوليم (0.342) (NBT ميللجرام/مل) + الزانثين (0.14 مل/مول) بحيث تكون نسبة العينة إلى الخليط (18:2)، ثم تقاس درجة امتصاص اللون عند 540 نانوميتر بعد دقيقتين من الخلط ثم تقاس مرة ثانية بعد 10 دقائق وتسجل القراءات ويحسب نشاط الإنزيم، كما هو موضح في المعادلة (6).

$$\text{The activity of Enzyme (n mol/min/mg protein)} = \frac{\Delta E / \text{min}}{7.2} \times A \times \frac{1}{B} \quad (6)$$

حيث

ΔE = The difference betweenabsorbance;
A = Volume of incubation mixture;
B = gram tissue in assay mixture;
7.2= Coefficient of reduced NBT at 540 nm (7.2Cm2/ m mol).

ج- التقدير الكمي لفوق أكاسيد الدهون Lipid peroxidation باستخدام طريقة (Buege and Aust, 1978) ويتم استخلاص فوق أكاسيد الدهون من نسيج الكلى وتقديرها بواسطة قياس المالونيدألدهيد Malonedaldehyde (MDA)، بحيث يتم أخذ 1 جرام من نسيج الكلى ويطحن مع 1 مل من محلول مثلج من حامض ثلاثي كلوريد الخليك (PCA) تركيز 20% ثم يوضع في الأنابيب لعمل الطرد المركزي، ويؤخذ من المحلول الرائق المحتوي على المالونيدألدهيد 0.5 مل ويضاف إليه 4.5 مل من كاشف العمل (Working TBA reagent) والذي تم تحضيره بخلط 100 مل من (كاشف A)، وهو محلول مشبع من حامض ثيوباربيتوريك في حامض بيركلوريك 10% مع (كاشف B) وهو حامض ثلاثي كلوريد الخليك بتركيز 2%، ويحتفظ بالخليط لمدة 20 دقيقة في حمام مائي يغلي ويترك بعدها ليبرد في درجة حرارة الغرفة ويتم بعدها قراءة اللون الوردي الناتج عن 532 نانوميتر ويمكن حساب تركيز المالونيد ألدهيد، كما هو موضح في المعادلة (7):

$$\text{MDA Concentration (Mmol/gm tissue)} = \frac{\text{absorbance(sample)}}{1.56\times10^{5}} \times 10^{4} \times \frac{1}{\text{gm tissue in essay}} \quad (7)$$

تم قياس التقديرات الثلاث السابقة باستخدام جهاز قياس الطيف في مجال الأشعة فوق البنفسجية Spectrophotometer/ Visible Spectrophotometer وهو من نموذج UV mini-1240/UVmini-1240 V من شركة Shimadzu Corporation، بكيوتو، اليابان.

تم فحص عينات أخرى من الكلى نسيجياً باستخدام طريق (Bancroft. and Stevens, 1996)، وتم ذلك بأخذ جزء من نسيج الكلى من كل المجاميع ووضعها في محلول الفورمالين بتركيز 10%. بعد ذلك تم قطع وتجهيز جزء منها بسمك 4 ميكرون للصبغ بصبغة الهيموتاتوكسيلين (Hematoxylin) (H) والإيوسين (Eosin) (E)، ثم تم فحصها بالمجهر الضوئي للتصوير ثم نسخ الصور عن طريق جهاز الحاسب الآلي.

وتم عمل التحاليل الإحصائية باستخدام المتوسط الحسابي (X)، و t Test في تحليل البيانات الإحصائية، كماهو موضح في معادلة (8).

$$t = \frac{X_1 - X_2}{\sqrt{(SE)_1^2 + (SE)_2^2}} \quad (8)$$

حيث X متوسط القيم، وSE الخطأ المعياري، وحساب الانحراف المعياري (SD) كما هو موضح في معادلة (9).

$$SD = \pm\sqrt{\frac{\sum X^2 - (\sum X)^2 / n}{n-1}} \quad (9)$$

وتم حساب الخطأ المعياري (SE) كما هو موضح في المعادلة (10).

$$SE = \frac{SD}{\sqrt{n}} \quad (10)$$

وتم إجراء تحاليل المقارنات المتعددة (Multiple Comparisons (MC، وتم الفحص المعنوي بحسب قيمة الاحتمالية P كالتالي:

P value < 0.000 very highly significant
P value < 0.001 highly significant
P value < 0.05 significant

جميع البيانات تم جمعها بحساب ANOVA عن طريق جهاز الحاسب الآلي باستخدام التحليل الإحصائي. تم عمل التحاليل الإحصائية السابقة للعينات بالاستعانة بالنظام الإحصائي للعلوم الاجتماعية Statistical Package for Social Sciences for windows. version (SPSS) النسخة 11، كما

وكمية عالية من المركبات الأكسيجينية، وكمية أقل من التربينات أحادية الهيدروكربون (Lucches, *et al.* 2004). تهدف هذه الدراسة إلى معرفة التأثيرات المختلفة لطرق تحضير القهوة العربية على بعض الدلائل البيوكيميائية والنسيجية للكلى.

المواد والطرق المستخدمة

أستخدم في البحث 36 من ذكور فئران التجارب (Male Wister Albino Rats) تتراوح أوزانهم من 70-100 جرام وكانت سليمة وخالية من الأمراض وأمكن الحصول عليها من مركز الملك فهد للبحوث بجدة، وُقسمت إلى أربعة مجموعات بالتساوي، كالتالي:

1. المجموعة الأولى (A): فئران سليمة وتركت حتى نهاية التجربة (المجموعة الضابطة).
2. المجموعة الثانية (B): فئران تعطى يومياً عن طريق الفم جرعة واحدة من القهوة العربية مضافاً إليها الهيل طوال فترة التجربة.
3. المجموعة الثالثة (C): فئران تعطى يومياً عن طريق الفم جرعة واحدة من القهوة العربية مضافاً إليها الهيل، والزعفران طوال فترة التجربة.
4. المجموعة الرابعة (D): فئران تعطى يومياً عن طريق الفم جرعة واحدة من القهوة العربية مضافاً إليها الهيل، والزعفران، والزنجبيل، والقرنفل، والنانخة طوال فترة التجربة.

وتم تحضير القهوة العربية بثلاثة طرق، كالتالي:

1. القهوة العربية للمجموعة (B) وتمت بتسخين 100 مل من الماء عند درجة 100 درجة مئوية، ثم وضع 27 جم من البن العربي لمدة 30 دقيقة ثم أضيف إليها 7 جم من الهيل، واستمر في الغلي لمدة 5 دقائق أخرى، ثم رشح وتم أخذ الرائق منه والتخلص من الراسب وتمت تعبئته في زجاجات داكنة اللون.
2. القهوة العربية للمجموعة (C) كررت نفس طريقة التحضير كما في المجموعة (B) ولكن أضيف إليها 0.2 جم من الزعفران.
3. القهوة العربية للمجموعة (D) كررت نفس طريقة التحضير كما في المجموعة (B) ولكن أضيف إليها 0.2 جم من الزعفران و1.2 جم من الزنجبيل و0.2 جم من القرنفل و1.2 جم من النانخة.

وتم إعطاء جميع التحضيرات السابقة عن طريق الفم بحسب وزن الفأر بحوالي 1.5 مل/100 جم، وذلك بشكل يومي طوال مدة التجربة (Aeschbcher and Jaccaud, 1990).

تم ذبح ثلاثة فئران من كل مجموعة بعد عشرة، عشرون، وثلاثون يوماً، لإجراء الفحص النسيجي والتقديرات البيوكيميائية التالية:

أولاً: في مصل الدم

يفصل المصل من الدم بالطرد المركزي عند 1000 دورة لمدة عشرة دقائق ثم باستخدام أطقم خاصة وتقاس باستخدام جهاز الرفلترون Reflotron Type II Manual من شركة Boehringer–Mannheim GmbH, West Germany. وتم عمل التحاليل التالية:

أ- التقدير الكمي للبولينا Urea باستخدام طريقة (Price and Koller, 1988)، حيث يحلل إنزيم اليوريز البولينا وينتج عن ذلك الأمونيا، كما هو مبين في المعادلة (1). ويتغير لون الكاشف المستخدم تبعاً لذلك من اللون الأصفر إلى اللون الأخضر ثم إلى اللون الأزرق وتركيز الكاشف المتغير يتناسب مع تركيز البولينا وتقدر طيفياً عند 642 نانوميتر.

$$(NH_2)_2CO + H_2O \xrightarrow{Urease} 2NH_3 + CO_2 \quad (1)$$

ب- التقدير الكمي لحامض البوليك Uric acid باستخدام طريقة (Bulgar and Johns. 1941) حيث يتم امتصاص حمض البوليك عند 293 نانوميتر الذي يتحول بواسطة إنزيم اليوريكيز (Uricase) إلى ألانتوين (Alantoin) كما هو مبين في المعادلة (2).

$$\text{Creatinine} + \text{Picrate} \xrightarrow{NaOH} \text{Red chromophor e} \quad (2)$$

ج- التقدير الكمي للكرياتينين Creatinine باستخدام طريقة (Larsen,1972) حيث يتفاعل البيكرات (Picrate) مع الكرياتينين (Creatinine) في وجود هيدروكسيد الصوديوم NaOH ويتم قياس الناتج عند درجة امتصاص 510 نانوميتر كما هو مبين في المعادلة (3).

$$\text{Creatinine} + \text{Picrate} \xrightarrow{NaOH} \text{Red chromophor e} \quad (3)$$

ثانياً: في الكلى

استخدمت عينات من الكلى للتقديرات الآتية:

أ- التقدير الكمي للنيتريك أوكسيد (Nitric Oxide (NO باستخدام طريقة (William. 1984)، ويتم ذلك بواسطة قياس تركيز النيتريت بتطبيق تفاعل جريس Griess reaction، وذلك بطحن 1 جرام من نسيج الكلى مع 10 مل من محلول مثلج من حامض ثلاثي كلوروخليك، ثم يوضع الناتج في أنابيب لعمل الطرد المركزي. يؤخذ من المحلول الرائق المحتوي على أكسيد النيتريك 0.2 مل ويضاف إليه 2.5 مل من محلول السلفانيلاميد وتخلط جيداً، ثم بعد 5 دقائق يضاف 2.5 مل من كاشف ن-1 نافثيل إثيلين ثنائي أمين ثنائي هيدروكلوريد (NED) بتركيز 0.1% حيث يستقر اللون ثم يقاس عند 540 نانوميتر ويحسب تركيز النيتريت في العينات باستخدام نيتريت الصوديوم، كما

المقدمة

ينتشر شرب القهوة العربية في مناطق المملكة العربية السعودية المختلفة، بحيث يضاف إليها بعض الإضافات لإكسابها الطعم والنكهة الخاصة. تختلف تلك المضافات باختلاف المنطقة، فسكان المنطقة الغربية يضيفون الهيل فقط إلى القهوة، بينما سكان المنطقة الوسطى والشمالية يضيفون إليها الهيل والزعفران، أما سكان المنطقة الجنوبية فتتميز القهوة لديهم بعمل خليط من البن، والهيل، والزعفران، والزنجبيل، والقرنفل، والنانخة. جميع الإضافات السابقة تحتوي على عدد كبير من المركبات الهامة التي لها تأثيرات علاجية واضحة.

البن (Coffee) ينتمي إلى العائلة الفوية *Rubiaceae*، والجزء المستخدم منه هو البذور، وهذه البذور تحتوي على العديد من المركبات الهامة، منها حمض النيكوتينيك Nicotinic acid، وتريجونيلين Trigonelline، وأحماض التانيك Tannic acid، والكونولينيك Qunolinic acid، والبروجاليك Progallic acid، والكافيين Caffeine (Minamisawa, *et al.* 2004). كما يحتوي البن على السكاكر المتعددة Polysaccharid مثل جالاكتومانان Galactomannans، وأرابينو جالاكتان Arabinogalactan، وأكريلاميد Acrylamid، والجليسريدات الثلاثية Triacylglycerol، وألكيل بيازين Alkyl pyazine، وهيدروكربونات حلقية متعددة Polycyclic aromatic hydrocarbon (Clifford, *et al.* 2006; Becalski, *et al.* 2005). يحتوي البن كذلك على العديد من العناصر وتشمل Mg, Ca, Na, Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, S, Cd, Pb, P. (Azam. *et al.* 2003). ويدخل في تركيب القهوة أيضاً مواد ثنائية التربينات مثل الكاهوول Kahweol، والكافيستول Cafestol، وميلانودينات Melanoidins، ومركبات عديدة الفينولات مثل حمض الكلوروجينيك Chlorogenic acid، وحمض الفيروليك Ferulic acid (Delgado-Andrade, *et al.* 2005).

أما الهيل (Cardamom; Elaci) *Elettaria Cardamomum*، فهو ينتمي إلى العائلة الزنجبيرية *Zingiberaceae*، ويستخدم منه البذور التي تتكون من 20% ماء، و10% بروتينات، و2% دهون، و42% من السكريات، و20% من الألياف، والباقي رماد. وتكتسب بذوره الرائحه، والنكهة، والطعم نتيجة إحتواءه على زيوت ثابتة وطيارة أهمها هي التيربينول Terpineol، والتيربينين Terpinene، والليمونين Limonene، والسابينين Sabinene، والسينول Cineole، واللينالول Linalool (Marongiu, *et al.* 2004) كما تحتوي بذوره على عدد من العناصر وتشمل K, Mg, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn, Al, Si, Cl, S, P (Al-Bataina, *et al.* 2003).

ويصنف الزعفران (Saffron) *Crocus Sativus*، بأنه نبات بصلي من العائلة السوسنية *Iridaceae*، والجزء المستخدم منه هو أعضاء التلقيح وتسمى (السّمات). هذه المادة لونها أحمر برتقالي وذات رائحة نفاذة وطعم مميز (Carmona, *et al.* 2006). من مكونات الزعفران الهامة الكامفرول Kaemferol وهو من الفلافونيدات، وكذلك مادة الكروكتين إستر Crocetin ester التي تكسبه اللون الأحمر البرتقالي المميز (Carmona, *et al.* 2006). كما يحتوي الزعفران على الكروكين Crocin، والزعفرنال Safranal، وعلى الكاروتينويدات (Premkumar, *et al.* 2006).

أما بالنسبة للزنجبيل (Ginger) *Zingiber Officinale* والذي ورد ذكره في القرآن الكريم، حيث قال تعالى: (وَيُسْقَوْنَ فِيهَا كَأْسًا كَانَ مِزَاجُهَا زَنجَبِيلا) فينتمي إلى العائلة المركبة *Zingiberaceae*، والجزء المستخدم منه الجذمورات. ويحتوي الزنجبيل على مادتي الجنجرول Gingerol والزنجيبرين Zingiberene (Raddy and Lokesh, 1992)، وفصل Tanabe, *et al.* (1993) مادة 8-beta، 17-epoxylabd-12 ene15، 16-dial. كما يحتوي على الأسيتون Acetone، وحمض الإيثانوليك Ethanolic acid، وعلى مواد مخاطية، ومادة 6- شوجول 6-Shogol، وعلى مواد طيارة، وبعض المعادن (Sharma, and Gupta, 1998; Afzal, *et al.* 2001). كما يوجد به مادة 6- بارادول 6-Paradol والتي تعتبر من الفينولات، ومادة الزرمبون Zerumbone ومشتقاتها (Keum, *et al.* 2002; Murakami, *et al.* 2002).

القرنفل (Girofle; Clove) *Syzgium Caryophyllus*، ينتمي إلى العائلة الآسية *Caryophyllacaea*، والجزء المستخدم منه هو البراعم الزهرية قبل تفتحها وكذلك الزيت الطيار. من أهم مركبات القرنفل اليوجينول Eugenol، واسيتل اليوجينول Acetyl eugenol، وحمض الأولينوليك Oleanolic acid، وحمض كراتيجوليك Crategolic acid، وكذلك التربينات الثلاثية أوليانان Oleananes، ودامااران Dammaranes، ويورسان Ursanes، وفلافونيدات مثل ثلاثيجليكوسيد Triglycosides، وأبيجيمين Apigemin، ومشتقاتهم (Nassar, 2005) وعدداً من الأحماض الفينولية، وهي حمض التانيك، وحمض الجاليك Gallic acid، وحمض الفانيليك Vanillic acid، وحمض الفيوروليك Ferulic acid، وحمض كلوروجينيك Chlorogenic acid (Singh. *et al.* 2004).

النانخة (Ajowan) *Carum Copticum*، عبارة عن نبات عشبي حولي من الفصيلة الخيمية *Umbellifrae*، والجزء المستخدم منه هو البذور، وهي تحتوي على زيوت طيارة، من أهمها مركب الثيمول Thymol، وجاما تيربينين Gamma-terpinene، وب-سيمين P-Cymene، وميرسين Myrcene، وبيتا-بينين Beta-pinene (Dehagan, *et al.* 2006)، كما تحتوي على عدد من الزيوت الأساسية الأروماتية،

Research Paper Ref. No 2451

التأثيرات المختلفة لطرق تحضير القهوة العربية على بعض الدلائل البيوكيميائية والنسيجية للكلى

The Effect of Different Methods of Arabic Coffee Preparation on some Biochemical and Histological Parameters of the Kidney

نادية أمين عبدالمجيد

Nadia A. Abdel-Magied

قسم الكيمياء، كلية التربية للبنات، جامعة الملك عبد العزيز

ص. ب. 55002، جدة 21534، المملكة العربية السعودية

المستخلص: ينتشر شرب القهوة العربية في المناطق المختلفة للمملكة العربية السعودية، بحيث يضاف إليها بعض الإضافات لإكسابها الطعم والنكهة. ولكن قد يكون لبعض هذه الإضافات آثار بيولوجية. تهدف هذه الدراسة إلى معرفة التأثيرات المختلفة لطرق تحضير القهوة العربية على بعض الدلائل البيوكيميائية والنسيجية للكلى. أجريت التجربة على ذكور الفئران البيضاء لمدة ثلاثون يوماً، حيث قسمت الفئران إلى أربعة مجموعات، تركت إحداهما طبيعية (ضابطة)، بينما أعطيت الثلاثة الأخرى عن طريق الفم أحد تحضيرات القهوة المشار إليها طوال فترة التجربة. تم ذبح ثلاثة فئران من كل مجموعة بعد 10، 20، 30 يوماً للحصول على عينات الدم والكلى لتقدير مستوى كلاً من البولينا Urea، حمض البوليك Uric acid، الكرياتينين Creatinine، كما تم أخذ جزء من عينات الكلى وتم تقدير مستوى أكسيد النيتريك Nitric oxide، ونشاط إنزيم زانثين أوكسيديز Xanthine oxidase ، ومستوى فوق أكاسيد الدهون Lipid peroxidation، كما تم عمل فحص نسيجي لجزء من كلى الفئران. أثبتت هذه الدراسة أن مجموعة الفئران التي أعطيت القهوة المحضرة مع الهيل فقط أعطت أفضل النتائج مقارنة ببقية المجموعات.

كلمات مدخلية: *القهوة، الهيل، الزعفران، الزنجبيل، القرنفل، النانخة، البولينا، حمض البوليك، الكرياتينين، أكسيد النيتريك، الزانثين أكسيديز، فوق أكاسيد الدهون.*

Abstract: Drinking of Arabic coffee in the Kingdom of Saudi Arabia is widespread, with many additives used to change its flavor and taste. However, some of these additives may have biological effects. The aim of this study is to compare the effect of different Arabic coffee preparation methods on some biochemical and histological parameters of the kidney. The experiment was made on Wister Albino male rats for a period of 30 days. The rats were divided into four groups, one of these groups is normal (control), while the other three groups were given coffee orally from the first day to the end of the experiment according to regional difference in coffee preparation. Three animal from each group were killed at 10, 20, 30 days and blood was tested for some biochemical parameters, including urea, uric acid, and creatinine. Parts of kidney samples were taken to determine the level of Nitric oxide, Xanthin Oxidase, Lipid Peroxidation, and the other parts of the kidney were used for histological examination. The results indicated that coffee with only cardamom gave the best results in comparison with other groups.

Keywords: *Coffee, Cardamom, Saffron, Ginger, Girofle, Ajowan, Urea, Uric Acid, Creatinine, Nitric Oxide, Xanthine Oxidase, Lipid Peroxidation.*