مجلة جامعة الملك عبدالعزيز: العـــــلوم، م١٤، ص ص ١-١٧ (١٤٢٢هـ/ ٢٠٠٢م)

سلسلة الدراسات التصنيفية على النباتات البرية في المملكة العربية السعودية
١- دراسة كيموتصنيفية مقارنة لنبات السنامكي النامي بريًا في مكة المكرمة
(١- د) دراسة كيميائية تحليلية لبعض مكونات بذور نبات السنامكي النامي بريًا في أودية وجبال مكة المكرمة

محمد محمد حسن سليمان ميلاد

قسم الأحياء، كلية العلوم التطبيقية، جامعة أم القرى

مـــكة المكرمـــة - المملكة العربية السعودية

المستخلص. استهدفت هذه الدراسة متابعة المقارنة ببعض التحاليل الكيميائية الشائعة للبذور وكذلك المركبات النيتروجينية والصبغات النباتية الموجودة في بذور نبات السنامكي النامي بريًا في أودية وجبال مكة المكرمة.

وقد انسجمت نتائج هذه الدراسة مع ماسبق التوصل إليه، حيث أظهرت تبايناً في نتائج التحليل الكيميائي لبذور كلا النباتين وكذلك المركبات النيتروجينية، وأيضاً الصبغات النباتية المستخلصة من بذور هذين النباتين، مما يرجح أن النباتين تحت الدراسة نوعان مختلفان.

المقدمـــة

عندما قسم Bentham عام ١٨٧١م جنس الـ Cassia إلى ثلاثة تحت أجناس ، أشار إلى أن تحت جنس Senna ينقسم الى عدة قطاعات Sections ، وكل قطاع يضم عدة سلاسل Series تختلف عادة في شكل القرن أو الأسدية وأحياناً في البذور أو الغدد ، وأن هناك تداخلا كبيراً في هذا الجنس[١]. وأن حوالي ٣٦٠ نوع قد صنف . في حين يوجد حوالي ٣٣٨ نوع لم يتم تصنيفها[٢] ومنذ عام ١٨٧١م والتسجيلات تتوالى في إضافة المزيد من الأنواع حيث سجل Brenan عام ١٩٥٨م نباتين هما *C. abbreviata* و *C. italica* وقد فصل Shrestha *C. abbreviata* عن *C. tora* في حين أن Bentham يرى أنها مرادفة لـ *C. acatifolia* و *C. angustifolia* والتي فصلها إلى نوعين منفصلين على أساس شكل القرن والتقارب الشديد في الصفات التي تميزها ووضعها تحت إسم *Cassia senna* [٢].

وتستهدف الدراسة الحالية متابعة المقارنة ببعض التحاليل الكيميائية الشائعة للبذور وكذلك المركبات النيتروجينية ، وبعض الصبغات النباتية الموجودة في بذور نبات السنامكي النامي برياً في أودية وجبال مكة المكرمة بغية تعزيز التباين بين النبات النامي في الوادي وذلك النامي في الشقوق الجبلية .

المـواد والطرق المستخـدمـة

أولاً : المـــواد المستخدمـــة

١ – البـــذور

استخدمت البذور الجديدة الخالية من الإصابات الحشرية لنبات السنامكي *Cassia senna* النامي في كل من أودية وجبال مكة المكرمة .

٢ – الأجهـــزة

أ – جهاز قياس الكثافة الضوئية (Milton Roy Company spectronic 20) .

ب – جهاز الحمل الكهربي (SHANDON UNIKIT No.1) قوته ٣٥٠ فولت .

٣- الصبغـــات

أ - صبغة الأحماض الأمينية والبروتينات :

٥ , ٠ جم ٪ ننهيدرين في الأسيتون[٣].

ب - كاشف دام :

- (محلول ٠ , ٥ عياري بيريدين داي بروماید) :

يضاف ٢ , ٦٠ مل بيريدين في ٥ مل حمض خليك ثلجي إلى حمض كبريتيك مركز في ٥ مل حمض خليك ثلجي. يبرد ويضاف ٠ , ٦٣ مل من البرومين ويخفف المحلول إلى ٥٠٠ مل بحمض الخليك الثلجي .

- (محلول يوديد البوتاسيوم ١٠٪) :

يضاف ١٠جم من يوديد البوتاسيوم الى ١٠٠مل ماء مقطر .

- (دليل النشا ١٪) :

يذاب ١جم من النشا في ١٠٠مل كلوريد البوتاسيوم (١٣٪) يغلى ويبرد .

- (المحلول القياسي ثيوسلفيت ٠ , ٢ عياري)[٤].

٤- المـــذيبـــات :

أ - خلات الإيثايل : بيريدين : ماء مقطر (١٠ : ٤ : ٣) .

ب - فوريستل: حمض هيدروكلوريك مركز : ماء مطر (١٠ : ٣ : ٣٠) .

جـ - بيوتانول متعادل : حمض خليك ثلجي : ماء مقطر (٤ : ١ : ٥).

٥- المحاليـــل المنظمـــة :

المحلول المنظم ١ :

درجة الحموضة = ٦ , ١

١٠ مل بيريدين + ٠ , ٨ مل حمض خليك ثلجي ثم يكمل إلى ٢٥٠ مل بالماء المقطر.

المحلول المنظم ٢ :

درجة الحموضة = ٨ , ٦

٥ , ٢ جرام صوديوم باربيتون + ١ , ٦٢ جرام خلات الصوديوم + ١٦ , ١ مل حمض هيدروكلوريك ٠ , ١ عياري ثم يكمل إلى ٥٠٠ مل بالماء المقطر .

المحلول المنظم ٣ :
ويتكون من ٣٪ بوراكس في ماء مقطر[٣].

ثانياً : الطـــرق المستخـــدمـة

١- تحديد النسبة المئوية للرطوبة في البذور (وزن/ وزن)
تطرد الرطوبة من البذور باستخدام فرن تجفيف درجة حرارته ١١٠ْم[٥].

٢- تقدير النسبة المئوية للزيوت في البذور (وزن/ وزن)
أخذ ٥ جرام من مسحوق البذور لكل من النبات النامي في الوادي والنامي في الجبل وأضيف إليها ١٠٠ مل بترواليم إيثر درجة غليانه ٦٠-٨٠ْم ويتم الاستخلاص لمدة ٢٠ ساعة في وحدة سوكسلت ثم بخر المذيب ثم التجفيف في الفرن عند ١٠٥ْم لمدة ٤٠ دقيقة ، وتم حساب النسبة المئوية للزيت في بذور كلٍّ من العينتين[٣]. وأجري على هذه الزيوت التحاليل الكيميائية الآتية :

أ - تقدير رقم اليود :
تم تقدير رقم اليود للزيت المستخلص من بذور النبات النامي في الوادي والآخر النامي في البيئة الجبلية بالطريقة الواردة في[٤].

ب - تقدير رقم التصبن
استخدمت طريقة Plummer عام ١٩٧٨م[٤] في تقدير الزيوت المستخلصة من بذور العينة الوديانية والجبلية.

٣- تقدير النسبة المئوية (وزن/ وزن) للبروتينات الكلية
أخذت ٥ جرامات من مسحوق بذور العينتين الوديانية والجبلية وجرى استخلاص الزيت منها باستخدام البترواليم إيثر ثم استخلص البروتين الخام منها باستخدام طريقة Joshi & Nigam[٦]، حيث أضيف إلى الراسب ٢٥ مل NaOH تركيز ١٠٪ وجرى التحريك لمدة ٦ ساعات ثم رشح وأعيد الاستخلاص باضافة ٤٠ مل من NaOH على الراسب وترك طوال ١٨ ساعة مع استمرار التقليب ، ثم رشح وغسل الراسب للمرة الثالثة بـ ٢٥ مل أخرى ، وجمع الراشح وأكمل إلى ١٠٠ مل NaOH ، وتم ترسيب البروتينات بواسطة حمض الخليك الثلجي تركيزه ١٠٪ وحسبت النسبة المئوية للبروتين

الخام حسب المعادلة الآتية :

$$\text{النسبة المئوية للبروتين الخام} = \frac{\text{وزن الراسب الناتج من عملية الترسيب بحمض الخليك}}{\text{وزن عينة البذور المستخدمة في التجربة}} \times ١٠٠$$

٤- تقدير الأحماض الأمينية الحرة في البذور بالنسبة للجلايسين(وزن/ وزن)

تم تقدير الأحماض الأمينية الحرة في بذور النبات الوديانى وكذلك الجبلي باستخدام طريقة Meelad[٣]. والمعتمدة على الكثافة الضوئية للون الناتج من تفاعل الأحماض الأمينية الحرة مع النينهيدرين واستخدام التراكيز المختلفة (المحاليل القياسية) من الجلايسين كمرجع في عملية التقدير .

٥- تحضير عينات البذور للفصل الكروماتوجرافي والحمل الكهربي الورقي

أخذ ٠,٠٠١ جم من مسحوق بذور النبات الوديانى وكذلك الجبلي ، ثم أضيف إليها ١٠ مل من المحلول المنظم ، ورجت ثم تركت لمدة ساعة ، ثم الحصول على المستخلص الرائق بالطرد المركزي والذي استخدم في الفصل الكروماتوجرافي الورقي للأصباغ النباتية وكذلك في الفصل بالحمل الكهربي للمركبات النيتروجينية والأصباغ النباتية[٣].

النتائج والمناقشة

يوضح الجدول رقم (١) نتائج التحاليل الكيميائية لبذور كل من نبات السنامكي النامي برياً في وديان مكة المكرمة ونبات السنامكي النامي برياً في شقوق جبال مكة المكرمة .

جدول رقم (١) نتائج التحاليل الكيميائية للبذور

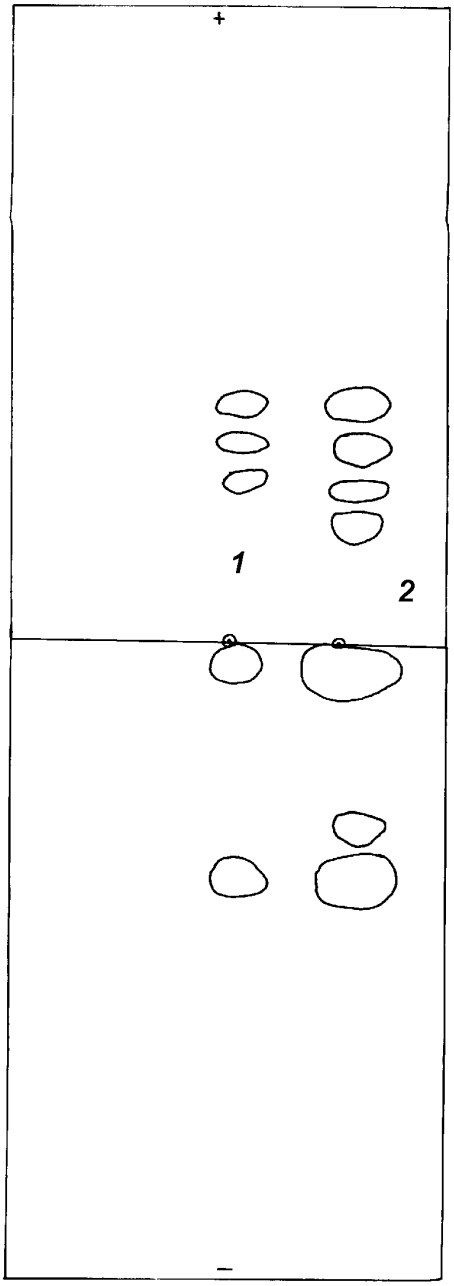
الأحماض الأمينية الحرة ملجم/ جم بالنسبة للجلايسين	النسبة المئوية للبروتين الكلي وزن/ وزن	رقم الحامضية	رقم التصبين	رقم اليود	النسبة المئوية للزيوت وزن/ وزن	النسبة المئوية للرطوبة وزن/ وزن	العينة
١,٧٣	٤,٣٤	٠,٠٢٩٥	٨١٠,٤٨	٨٠,٠٦	٤,٦	٤,١٩	من الوادي
١,٠٢	٣,٨٠	٠,٠١٩٠	٧٠٠,٠	٧٥,٠	٣,٨	٣,١٥	من الجبل

ويتضح من هذه النتائج التباين في التركيب الكيميائي لمحتويات بذور النباتين حيث ينخفض المحتوى المائي لبذور النبات *Cassia senna* النامى في البيئة الجبلية عن الانخفاض في كل من النسبة المئوية للزيوت والبروتين الكلى و الأحماض الأمينية الحرة . ومن ناحية أخرى نجد أن خواص الزيت المستخلص من بذور نبات *C. senna* الجبلي يختلف عن خواص الزيت المستخلص من بذور نبات *C. senna* الوديانى ، وإن كان هذا الاختلاف محدود المدى إلا أنه يشير إلى التباين بين النباتين ، مما يساعد في القول بأن النباتين متقاربان ولكنهما غير متطابقين ، أي أنهما نوعان أو فردان مختلفان من نبات السنامكي *C. Senna* .

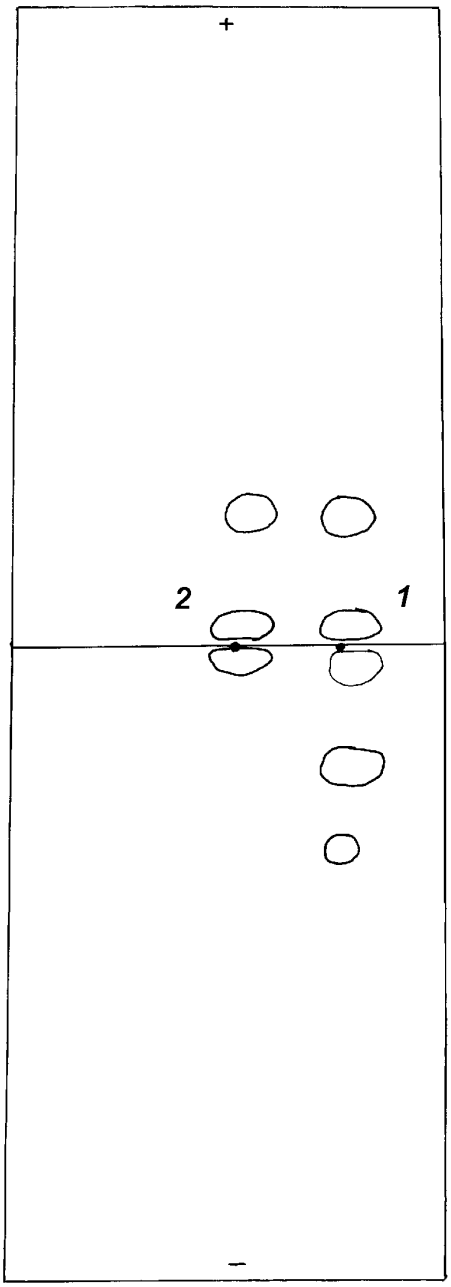
وعند استخدام الفصل بالحمل الكهربي للمركبات النيتروجينية الموجودة في البذور ، باستخدام محلولين منظمين مختلفين في درجة الحموضة ، أوضحت النتائج أن هناك اختلافا ظاهرا في هذه المركبات النيتروجينية ، فعند استخدام المحلول المنظم رقم ١ الذي درجة حموضته = ٦ , ١ ، و كان الفصل لمدة ساعتين ظهر لنا فرق واضح في مركبين أحدهما سالب والآخر موجب الشحنة موجودين في النبات الوديانى و غائبين في النبات الجبلي شكل (١) .

كذلك عند استخدام المحلول المنظم رقم ٢ الذي درجة حموضته = ٦ , ٨ ، وكان الفصل لمدة ساعتين نجد أن الاختلاف لا زال قائما في وجود مركبين نيتروجينيين ، إلا أن كليهما موجب الشحنة موجودين في النبات الوديانى وغائبين في النبات الجبلي (شكل ٢) . ولعل الاختلاف في الشحنة لهذين المركبين عائد إلى الطبيعة الترددية للبروتينات حيث إنها عندما توجد في وسط ليس عند نقطة توازنها الكهربي isoelectric point تنشأ على سطحها شحنة تتوقف على الرقم الهيدروجيني للوسط الموجود فيه[٧،٨].

ومن جهة أخرى فإن استخدام المحلول المنظم رقم ٢ في الفصل بالحمل الكهربي أظهر لنا صبغة صفراء اللون بعد التعريض لأبخرة الأمونيا ، ولم يظهرها المحلول المنظم رقم ١ ، ولعل هذا راجع إلى الاختلاف في درجة الحموضة أي أن هذه الصبغة تظهر في الأوساط القلوية (شكل رقم ٣) . ويوضح شكل رقم (٤) اتجاه الصبغة عند استخدام

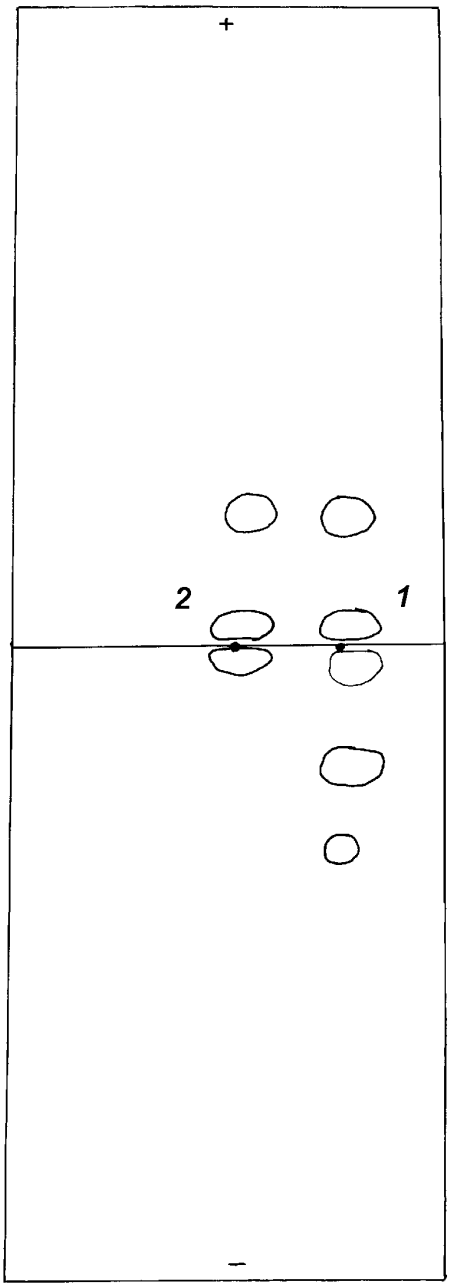


شكل (١) : يوضح نتيجة الفصل بالحمل الكهربي للمركبات النيتروجينية باستخدام : المحلول المنظم رقم ١ واستمرار الفصل لمدة ساعتين . وتعريضها لأبخرة الأمونيا .
النبات الوديانى = ١ النبات الجبلي = ٢.



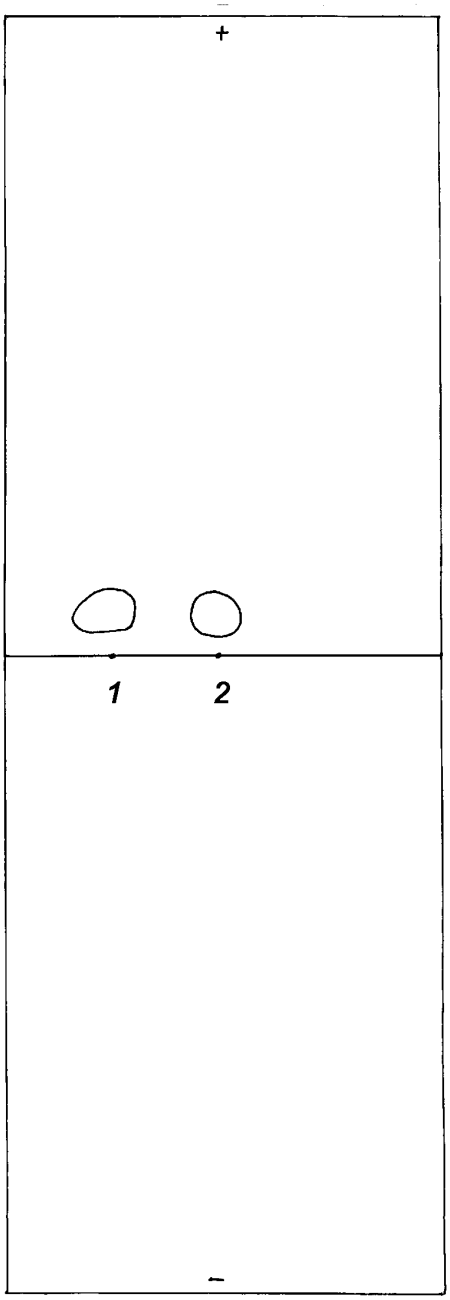
شكل (٢) : يوضح نتيجة الفصل بالحمل الكهربي للمركبات النيتروجينية باستخدام : المحلول المنظم رقم ٢ واستمرار الفصل لمدة ساعتين . وتعريضها لأبخرة الأمونيا .

النبات الوديانى = ١ النبات الجبلي = ٢.



شكل (٣) : يوضح نتيجة الفصل بالحمل الكهربي للصبغة المستخلصة من البذور واستمرار الفصل لمدة ساعتين باستخدام المحلول المنظم رقم ٢ وتعريضها لأبخرة الأمونيا .

النبات الوديانى = ١ النبات الجبلي = ٢.



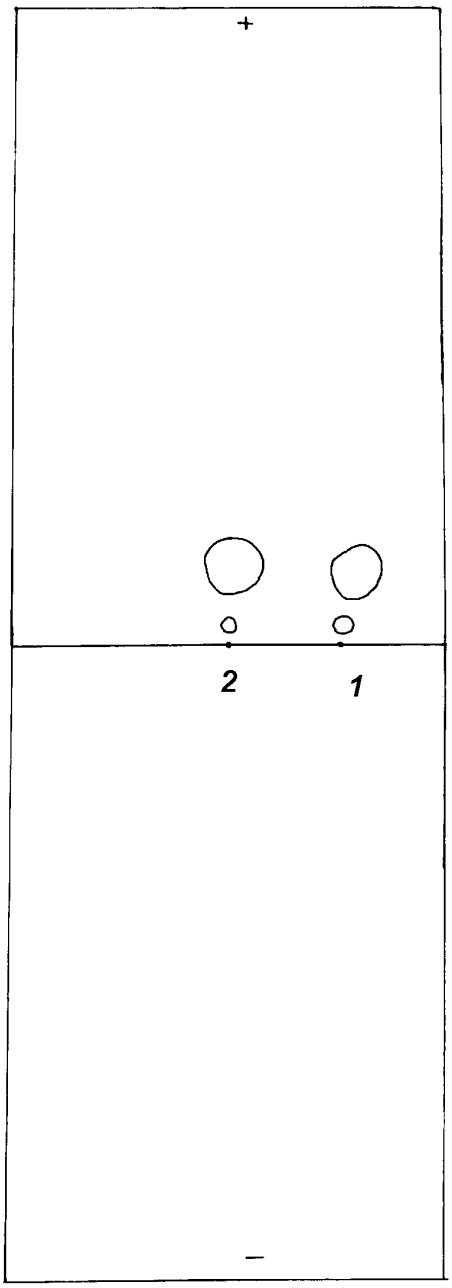
شكل (٤) : يوضح نتيجة الفصل بالحمل الكهربي للصبغة المستخلصة من البذور واستمرار الفصل لمدة ٣ ساعات باستخدام المحلول المنظم رقم ٢ وتعريضها لأبخرة الأمونيا .

النبات الوديانى = ١ النبات الجبلي = ٢.

المحلول المنظم رقم ٢ والفصل بالحمل الكهربي لمدة ٣ ساعات ، حيث نجد أن الصبغة تتجه إلى القطب الموجب ، وهذا يعني أنها ذات شحنة سالبة ، وأن زيادة مدة الفصل لم يكن لها أي تأثير على الفصل ، ومن ناحية أخرى نجد أن الصبغة ثابتة في كلتا العينتين ، أي أنه لايوجد أي اختلاف في هذه الصبغة بين النبات النامي في الوادي والنامي في الجبل . وعند استخدام المحلول المنظم رقم ٣ والذي درجة حموضته = ٩ , ١ ، واستمر الفصل لمدة ساعتين ظهر لنا الفصل بصورة أفضل حيث تميزت الصبغة إلى صبغتين سالبتي الشحنة (شكل ٥). ولكن التماثل بين النباتين لازال قائماً . إلا أن هذه التجربة تشير إلى أن المحلول المنظم رقم ٣ له قدرة أفضل في استخلاص الصبغة من مسحوق البذور ، لذا عمد إليه في الاستخلاص والفصل بطريقة الفصل الكروماتوجرافي الورقي في اتجاه واحد بالمذيبات المختلفة . حيث وجد أن المذيب المكون من خلات الإيثايل والبيريدين والماء المقطر لم يعط أي نتيجة في فصل هذه الصبغات في حين تمكن مذيب فوريستل من فصل مركب واحدَ بالنسبة لمستخلص بذور النبات الوديانى ، وفصل ثلاث مركبات بالنسبة لمستخلص بذور النبات الجبلي (جدول رقم ٢ وشكل رقم ٦). ومن مقارنة معامل السريان (Rf) يتضح التقارب بين المركب رقم (١) المفصول من بذور النبات الوديانى مع المركب رقم (٣) المفصول من بذور النبات الجبلي ، ولعل هذا يشير إلى صلة القرابة بين النباتين ، ولكن وجود المركبين رقم (٢ ، ٣) في مستخلص بذور النبات الجبلي فقط يدل على التباين بين النباتين ، ولعل هذا دليل آخر يؤكد وجوب فصل النباتين عن بعضهما.

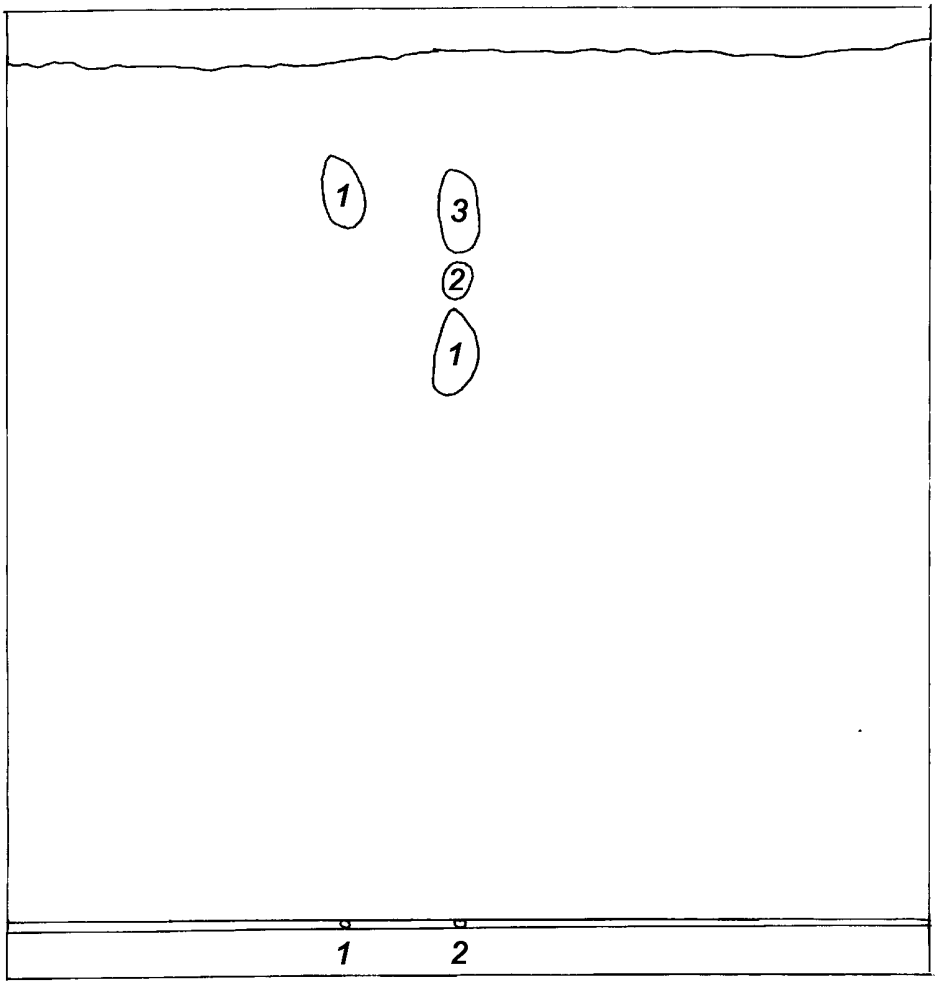
جدول رقم (٢) : يوضح نتائج فصل الصبغة المستخلصة من البذور بالمحلول المنظم رقم ٣ والفصل بمذيب فوريستل .

لون المركب بعد التعريض لأبخرة الأمونيا	معامل السريان (HRf)	المركب	العينة
أصفر داكن	٨٤,٨٦	١	من الوادي
أصفر مائل للبني	٦٥,٢٤	١	من الجبل
بني فاتح	٧٣,٧٩	٢	
أصفر داكن	٨٢,٨٨	٣	



شكل (٥) : يوضح نتيجة الفصل بالحمل الكهربي للصبغة المستخلصة من البذور واستمرار الفصل لمدة ساعتين باستخدام المحلول المنظم رقم ٢ وتعريضها لأبخرة الأمونيا .

النبات الوديانى = ١ النبات الجبلي = ٢ .



شكل (٦) : يوضح نتيجة الاستخلاص بالمحلول المنظم رقم ٣ والفصل الكروماتوجرافي الورقي بمذيب فوريسيل . وتعريضها لأبخرة الأمونيا .
النبات الوديانى = ١ النبات الجبلي = ٢ .

وعندما تم الفصل بالمذيب المكون من البيوتانول المتعادل وحمض الخليك الثلجي والماء المقطر ظهر أن هذه الصبغة بعد التعريض لأبخرة الأمونيا تتكون من مركبين بالنسبة لمستخلص بذور النبات الوديانى ، وأربع مركبات بالنسبة للنبات الجبلي (جدول رقم ٣ وشكل رقم ٧) .

جدول رقم (٣) : يوضح نتائج فصل الصبغة المستخلصة من البذور بالمحلول المنظم رقم ٣ والفصل بمذيب البيوتانول المتعادل وحمض الخليك الثلجي والماء المقطر .

العينة	المركب	معامل السريان (HRf)	لون المركب بعد التعريض لأبخرة الأمونيا
من الوادي	١	٨,٤٢	أصفر
	٢	٣٥,٣٩	أصفر
من الجبل	١	٨,٤٢	أصفر
	٢	٢١,٣٤	أصفر داكن
	٣	٢٨,٦٥	أصفر داكن
	٤	٣٧,٦٤	أصفر

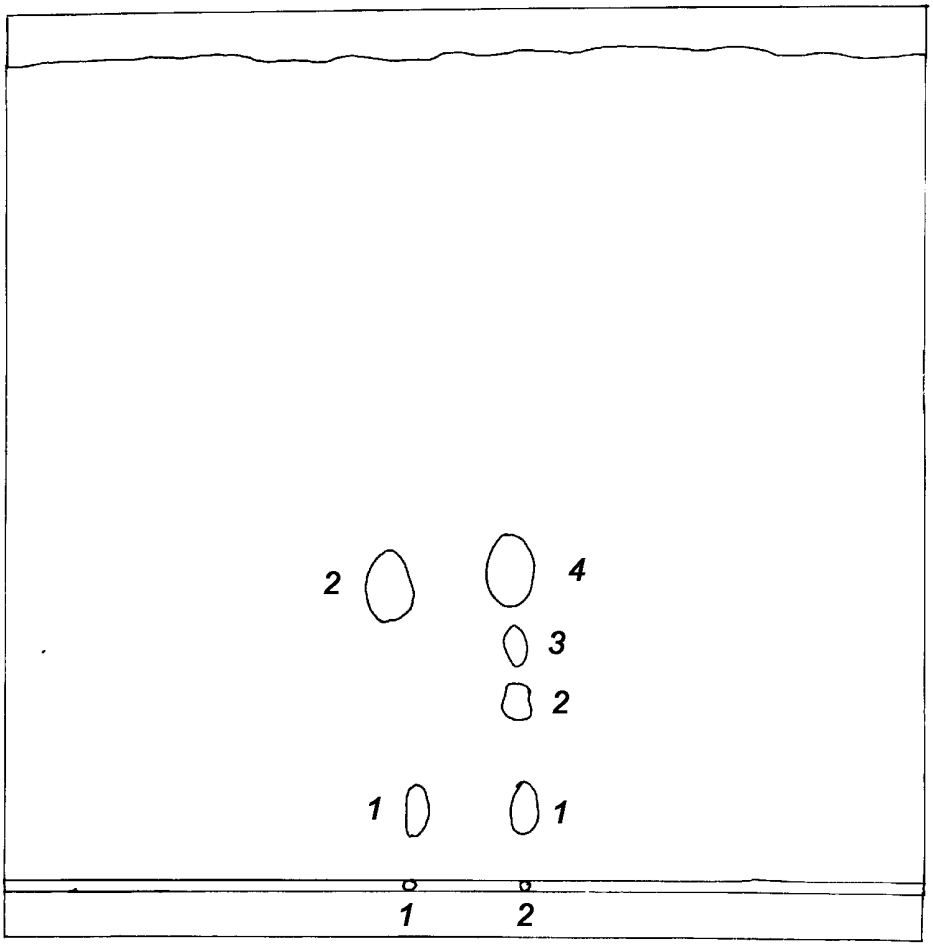
ويظهر هذا التباين في وجود المركب رقم (٢) والمركب رقم (٣) في النبات الجبلي ، ولكن التقارب في سرعة سريان المركب رقم (٢) في مستخلص بذور النبات الوديانى مع المركب رقم (٤) في مستخلص بذور النبات الجبلي وكذلك التطابق التام في سرعة سريان المركب رقم (١) في النباتين يؤكد تقارب النباتين . وبعد هذه السلسلة من الدراسات التي شملت الاتي :

١ – أ – دراسة المركبات الفينولية في أوراق نبات السنامكي النامي بريا في أودية وجبال مكة المكرمة .

١ – ب – دراسة المركبات الفينولية في بتلات نبات السنامكي النامي بريا في أودية وجبال مكة المكرمة .

١ – جـ – دراسة إنبات بذور نبات السنامكي وتركيب الترب المختلفة النامي فيها هذا النبات .

١ – د – دراسة كيميائية تحليلية لبعض مكونات بذور نبات السنامكي النامي بريا في أودية وجبال مكة المكرمة . (الدراسة الحالية) .



شكل (٧) : يوضح نتيجة الاستخلاص بالمحلول المنظم رقم ٣ والفصل الكروماتوجرافي الورقي بمذيب بيوتانول متعادل + حمض الخليك الثلجي + ماء مقطر . وتعريضها لأبخرة الأمونيا.

النبات الوديانى = ١ النبات الجبلي = ٢ .

يمكن التوصية بأن نبات السنامكي *Cassia senna* النامي بريا في أودية مكة المكرمة يختلف عن نبات السنامكي *Cassia senna* النامي بريا في الشقوق الجبلية في جبال مكة المكرمة ، أي أنهما نوعان أو فردان مختلفان عن بعضهما لذا يجب أخذ الحيطة في تصنيفهما .

المـــراجـــــع

[١] **Bentham, G.,** Revision of the Genus *Cassia. Trans. Linn. Soc. 27, Xviii,* p. 503 (1871).

[٢] **Shrestha, A.B.,** The Biological Significance of Anthraquinones in Certain Cassia Species. Ph.D. Thesis, School of Pharmacy, University of London, U.K. (1966).

[٣] **Meelad, M.,** Some Floristic and Chemotaxonomic Studies of the Flowering plants of Makkah. Ph.D. Thesis, Department of Biological Sciencs, University of Salford. Salford, Lancs, U.K. (1987).

[٤] **Plummer, D.T.,** *An Introduction to Practical Biochemistry.* Mc Graw-Hill (U.K.), pp. 207-210 (1978).

[٥] **ميلاد ، محمد محمد حسن سليمان ،** بعض الآثار البيولوجيه لأشعة جاما على السنامكي ، رسالة ماجستير ، قسم الأحياء ، كلية العلوم ، جامعة الملك عبدالعزيز بجدة ، المملكة العربية السعودية (١٤٠٤/ ١٩٨٣).

[٦] **Joshi, S.S.** and **Nigam, S.S.,** Amino acid composition of wild legumes. *Journal of Science Current,* **45**(12): 450-451 (1976).

[٧] **عيد ، صلاح الدين ،** التصنيف التطوري للنباتات الزهرية والأساس السيتولوجي ، الجزء الثاني، مطبعة جامعة القاهرة (١٩٧٢).

[٨] **Jones, S.B.** and **Luchsing. A.E.,** *Plant Systematics.* Mc Graw-Hill Book Company New York, St. Louis, San Francisco, London (1979).

A Taxonomic Series of Flora of Saudi Arabia 1- A Chemotaxonomic and Comparative Study of *Cassia senna* Growing in the Wild of Makkah Al- Mukarramah. 1- D- A Comparative Chemical Study of the Seeds of Two *Cassia senna* Growing in the Valleys and Mountains.

M. M. MEELAD
Biology Department, Faculty of Applied Science,
Umm Alqura University, Makkah al-Mukarramah

ABSTRACT. A comparative chemical study of the seeds of two *Cassia senna* was performed to ascertain if distinct chemical substances could be identified to distinguish the two Cassias under investigation.

The initial problem raised by the finding that these two *Cassia senna* were morphologically practically identical has been resolved by the experimental results, which were found to be in agreement with the previous studies. As can be seen from the conclusions, it is now possible to distinguish between these two plants. It may be concluded that the two Cassias under investigaion are two species.