عزل صبغات طبيعية من نباتي الكركم (*Curcuma longa*) والسماق (*Sumac*) واستخدامها كدلائل حامض – قاعدة وككواشف طبيعية

أ.د. عمر حمد شهاب ، د.م. بشرى تركي مهدي، م.م. إيمان حسام محمد

قسم الكيمياء – كلية التربية للبنات– جامعة الانبار

الخلاصة

في هذا البحث، تم عزل مجموعة من الأصباغ الطبيعية من نباتات الكركم والسماق ، والغرض من المستخلصات استخدامها كدلائل حامض – قاعدة ، وتم مقارنتها مع الدلائل الشائعة ، مثل دليل الميثيل البرتقالي والفينولفثالين، وأظهرت النتائج توافقا في مدى التغير اللوني كما تم استخدام المستخلصات لتحضير أوراق الكروماتوغرافيا الورقية (PC) مشابهة لأوراق زهرة الشمس (litmus paper) . ودراسة طيف الأشعة تحت الحمراء للمواد الفعالة المعزولة من نباتي الكركم والسماق.

Abstract

In this report, some of the natural dyes were isolated from Curcuma longa and Sumac plants. These isolated natural dyes were used as acid-base indicators. A comparison with the common indicators (methyl orange and phenolphthalein). The results showed compatibility in the extent of color range. Also, the isolated extract was used to prepare paper chromatography (PC) similar to Litmus paper. This report also included the study of the IR spectrum for the isolated active materials from Curcuma longa and Sumac plants.

المقدمة

لوحظ اهتمام كبير في السنوات الأخيرة بالأصباغ الطبيعية المستخرجة من النباتات لأنها أكثر أمانا للاستخدام في جميع الطرق التي تعتمد على الأصباغ التي تصنع بالطرائق الكيميائية .إن الفضل في اكتشاف دلائل حامض – قاعدة يعود إلى العالم روبرت رويال (Robert Royal) حينما لاحظ اختفاء اللون الأزرق لنبات الثالوث (lignum Nephriticum) في الماء العسر عند إضافة حامض إليه ورجوع اللون الأزرق عند إضافة قطرات من محلول كاربونات الصوديوم[١]. كما لوحظ استمرار عملية اكتشاف الأصباغ الطبيعية واستخدامها كدلائل حامض– قاعدة من خلال استخدام جميع أجزاء النبات والزهور والأوراق وثمار الفواكه، وخاصة التي تميل الى اللون الأحمر والأرجواني والأزرق بسبب احتوائها على مركبات مجموعة الفلافونيدات تدعى (أنثوسيانينات) ، التي يتغير لونها بتغير الدالة الحامضية[٢]. والانثوسيانينات هي صبغات ذائبة في الماء توجد في عصارة الخلايا النباتية وتكسب الفواكه والخضروات ألوانا متعددة من البرتقالي إلى الأزرق ، وتوجد في

النباتات على شكل كلايكوسيدات أي (جزء عضوي انثوسيانين وجزء سكري) ويتم فصل الجزء السكري بالتحلل المائي ألحامضي [٢]، ويكون الجزء العضوي هو المسؤول عن لون الصبغة ، أما العوامل المؤثرة على الصبغات بصورة عامة عند استخلاصها من النبات فهي مدة الخزن ودرجة الحرارة والأنزيمات والضوء والأوكسجين المذاب في الماء والحامضية العالية وعوامل تكوين المعقدات (الفينولات والعناصر الفلزية) وثنائي اوكسيد الكبريت [٣].

نبات السماق من النباتات المهمة اسمه العلمي *(Sumac)* [٤]. ونبات السماق شجيرة صغيرة من الفصيلة البطمية يختلف التركيب الكيميائي حسب نوع السماق ومصدره ولكن بصورة عامة يحتوي على التانينات وحامض الغاليك (Galic acid) ونسبة مرتفعة من حوامض الليمون والخليك والماليك وهذا يكسبها طعما حامضا لاذعا وتضم مالات قلوية كما يحوي على سكر العنب ومادة شمعية إضافة للفلافونيدات واهمها المايرستين والاوكسوكيورستين وأخيرا على صبغة صفراء . يعتبر السماق من النباتات الاقتصادية المفيدة فله استعمالات طبية وصناعية وعطرية منها استعماله في الدباغة والصباغة وأوراقه تستعمل في صناعة الأدوية القابضة والقاطعة للنزيف لاحتوائها كمية كبيرة من التانينات[٥،٦] .

والكركم هو جذامير على شكل درنات صغيرة قرب سطح الأرض يستخرج منها مسحوق لونه اصفر بني[٧]. يحتوي نبات الكركم في تركيبه الكيميائي على زيوت طيارة تمثل ٥٠ مركبا أهمها تعرف باسم الكيتونات السيسكوتربينية وتعرف هذه المجموعة باسم ثورميروتز. كما يحتوي الكركم على مجموعة هامة أخرى تسمى كوركومينويدز ومن أهمها مركب الكركمين المشهور والذي فصل بشكل تجاري ويباع كمركب نقي مسؤول عن التأثيرات الدوائية للكركم ويعطي الصبغة الصفراء التي يتميز بها الكركم. كما يحتوي الكركم على خليط من الراتنجات والزيوت الطيارة والزيت الثابت ومواد مرة وبروتين وسليلوز ونبتوزان ونشا ومعادن [٨].

طرائق العمل

أولاً:- النباتات المستخدمة في البحث

١- **مصدر وتصنيف النبات :** استخدم في البحث الكركم والسماق حيث تم الحصول عليها من السوق المحلي في محافظة الانبار .

٢- **تهيئة النبات للدراسة:** تم استخدام الكركم والسماق الطازج التي تم شرائها من احد الأسواق المحلية لمدينة الفلوجة، ثم تم تجفيفها وطحنها وحفظت بصورة مسحوق مجفف لحين الاستخدام .

ثانيا:- المواد وطرائق العمل للاستخلاص المائي وعزل الصبغة من النباتات:

يوزن (50)غم من مسحوق الكركم ويضاف إليه (50) مليلترا من (٧٠% الميثانول) ثم يسخن باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر ولمدة ٦ ساعات وبدرجة حرارة (60-40) °م . ثم يبخر المحلول

الناتج تحت الضغط المخلخل بواسطة جهاز المبخر الدوار بدرجة حرارة (٤٠)°م ، ثم توضع المادة الصلبة الناتجة ذات اللون الاصفر في قنينة معتمة محكمة الغلق وتحفظ لحين الاستخدام .[٩،١٠]

أعيدت الطريقة أعلاه على السماق فتم الحصول على مادة ذات لون جوزي مائل الى الاحمرار غير متبلورة بوزن ٢,٥ غم.

ثالثا:- الدراسة الكيميائية (الكشوفات النوعية)

لغرض التعرف على مكونات الكركم والسماق أجريت عدة كشوفات كيميائية نوعية للمستخلص الأولي وكما يلي :

أ- الكشف عن أشباه القلويدات Alkaloids [١١]

ب- الكشف عن الكاربوهيدرات

ج- الفلافونيدات Flavonoids [١٢]

د- كشف الأحماض الامينية

هـ- التانينات

هـ١. كاشف خلات الرصاص [١٣]

ظهور راسب بني فاتح دلالة على وجود التانينات.

هـ٢. كاشف كلوريد الحديديك [١٤]

ظهور اللون الأخضر أو الأزرق الغامق دلالة على وجود مجموعة الكاتيكول Catechol .

هـ٣. كاشف كاربونات البوتاسيوم [١٣]

ظهور راسب احمر دلالة على وجود التانينات.

هـ٤. كاشف الفورمالديهايد [١٤]

ظهور راسب بني دلالة على وجود الكاتيكول .ظهور راسب ابيض كثيف دلالة على وجود مجموعة البايروكالول Pyrogallol .

رابعا : اختبار المذيب المناسب للصبغات :

يتم اختبار ذوبانية الصبغات المستخدمة في كل من المذيبات التالية : ماء ، ميثانول، أسيتون، ٧٠% ايثانول، كلوروفورم ، ايثر ، فينول ،اسيتوفينون.

حيث يذاب ٠,٠١ غم من الصبغات المعزولة في ١٠ مل من المذيبات المذكورة وتسجل نتيجة الإذابة مباشرة بعد مرور ٢٤ و ٤٨ و ٧٢ ساعة.

خامسا: تأثير درجة الحرارة على الصبغات

بعد اختبار المذيب المناسب أعلاه، يتم تحضير محلول من الصبغتين المعزولتين من النباتين في الماء المقطر وبتركيز (٠,٠٥ غم في ٢٠ مل) ويتم ملاحظة التغير اللوني مع درجة الحرارة لمدى ٣٠-٧٠ م°.

سادسا : تأثير الدالة الحامضية على الثبات اللوني للصبغات

تحضر ثلاثة محاليل للصبغتين المعزولتين وبتراكيز متساوية (٠,٠٣ غم مذابة في ١٠ مل) تضبط الدالة الحامضية للمحلول الأول عند pH=1 باستخدام حامض الهيدروكلوريك بتركيز ٢ مولاري والمحلول الثاني عند pH=7 باستخدام محلو بفر المنظم والمحلول الثالث عند pH=12 بإضافة هيدروكسيد الصوديوم بتركيز ٢ مولاري ، ويتم تسجيل التغيرات اللونية في المحاليل الثلاثة بعد مرور(٢٤، ٤٨، ٧٢) ساعة.

سابعا: اختبار قابلية الصبغات على التغير اللوني بتغير قيم أل pH:

يوزن ٠,٥ غم من الصبغة الناتجة من الكركم في دورق مخروطي ويضاف إليه ٢٠ مل من الماء المقطر و يضاف حاض الهيدروكلوريك ١ مولار ، هيدروكسيد الصوديوم ١ مولار للحصول على قيم pH مختلفة و يلاحظ التغير اللوني للمحلول بتغير قيم الدالة الحامضية .

تكرر الطريقة أعلاه على الصبغة الأخرى التي تم الحصول عليها من السماق.

ثامنا: مقارنة الصبغات المعزولة مع بعض دلائل حامض – قاعدة:

تم مقارنة الصبغات مع بعض الدلائل حامض – قاعدة المعروفة والمتوفرة وهي الفينولفثالين والمثيل البرتقالي :

١- مقارنة مع دليل المثيل البرتقالي: يعاير حامض الهيدروكلوريك مع محلول قياسي أولي من كربونات الصوديوم ٠,١ مولار وذلك باستخدام قطرتين من دليل المثيل البرتقالي بعدها تعاد العملية باستخدام ست قطرات من كل من الصبغتين المعزولتين من الكركم والسماق.
٢- مقارنة الصبغات مع دليل الفينولفثالين: يعاير هيدروكسيد الصوديوم مع حامض الهيدروكلوريك تركيزه ٠,٠٩ مولار باستخدام قطرتين من دليل الفينولفثالين وتعاد العملية باستخدام ست قطرات من كل من الصبغتين المعزولتين من نباتي الكركم والسماق.

تاسعا: استخدام الصبغات في المستخلص المائي لتكوين ورق قياس حامض- قاعدة المحاليل:

يمزج ١٥ غم من مسحوق الكركم مع ١٠٠ مل من ٥% حامض الخليك ، يترك المزيج لمدة ٢٤ ساعة مع التحريك المستمر بالمحرك المغناطيسي عند درجة حرارة الغرفة. يرشح المزيج ويركز إلى حجم ٣٠ مل بواسطة المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل بدرجة حرارة ٥٠ م^{o} ثم يقسم المزيج إلى جزئيين متساويين:

القسم الأول: يوضع فيه عدد من أوراق الترشيح نوع (Whatmann No.1) والتي تصمم بشكل مستطيلات بأبعاد (1X6)سم لمدة ٣٠ دقيقة بعدها تجفف الأوراق بالمجفف الكهربائي وتترك لغرض الاستخدام لاحقا.

القسم الثاني: يضاف إليه ٥ مل من هيدروكسيد الصوديوم ٢ مولار ثم يوضع فيه عدد من أوراق الترشيح وبالأبعاد ذاتها وتترك فيه لنفس المدة بعدها تجفف وتترك للاستخدام لاحقا.

النتائج والمناقشة

١- الكشوفات الكيميائية:

جدول (1) يبين الكشوفات الكيميائية للمواد الفعالة الموجودة في الكركم والسماق ، وقد أظهرت الكشوفات تواجد أصناف مهمة من المركبات.

جدول رقم (1) : نتائج الكشوفات الكيميائية للمواد الفعالة في الكركم والسماق

ت	الصنف	نوع الكاشف	التغير	السماق	الكركم
1	**القلويدات**	دارجندروف	لون برتقالي	-	-
2	**التانينات**	كلوريد الحديديك	لون اخضر مزرق	-	-
3	**التانينات المكثفة**	خلات الرصاص	راسب بني فاتح	-	-
4	**الفلافونيدات**	محلول الامونيا	لون اصفر	+	+
5	**الأحماض الامينية**	النهايدرين	لون ارجواني	+	+
6	**الفينولات**	فيروسيانيد البوتاسيوم	لون اخضر مزرق	+	+

(+) وجود المادة الفعالة ، (–) عدم وجود المادة الفعالة

٢- اختيار المذيب المناسب:

لوحظ أن الصبغات المعزولة من النباتات لها ثباتية لونية عالية مع مرور الوقت في مختلف المذيبات كما مبين في الجدول (٢) .

جدول رقم (٢) : نتائج اختيار المذيب المناسب للكركم والسماق

ت	المذيب	الكركم	السماق
١	الماء المقطر	+	+
٢	الايثانول	+	+
٣	الميثانول	+	+
٤	الاسيتون	+	–
٥	كلوروفورم	+	–
٦	ايثر	+	–
٧	فينول	+	+
٨	اسيتوفينون	+	+

(+) إذابة تامة ، (–) إذابة قليلة أو شحيحة

٣- تأثير درجة الحرارة على الصبغات المعزولة :

بعد اختبار المذيب المناسب للصبغات تم إجراء اختبار ثباتية هذه الصبغات تجاه تغير درجات الحرارة إذ أظهرت الصبغات ثباتا جيدا للاستخدام كدليل ضمن ظروف المختبر إذ لم يحدث خلال التسخين من ٣٠-٧٠ م^{o} تغير لوني مميز يعيق استخدامها كدليل .

٤-تأثير الدالة الحامضية على ثباتية الصبغات :

يظهر من نتائج الدراسة أن الصبغة المعزولة من الكركم والسماق مستقرة في الوسط الحامضي pH=1 إذ بقيت محتفظة بلونها وقابليتها على التغير اللوني لمدة ٤٨ ساعة وهذا يتوافق مع الأدبيات [١٥].

٥- اختبار التغير اللوني للصبغات مع تغير قيم الدالة الحامضية pH:

يظهر من الجدول (3) إن الصبغات المعزولة ليس لها نفس التغير اللوني مع تغير قيم الدالة الحامضية إذ إن الكركم يحدث فيه تغير في الوسط الحامضي وتغير عند الوسط القاعدي في حين أن السماق ايضا تغير اللون من الأحمر إلى البرتقالي عند قيمة pH=10-6 ثم إلى البني عند pH=10- 11 وهذا يتفق مع الأدبيات [١٦].

جدول رقم (3) : التغير اللوني للصبغات مع تغير الدالة الحامضية

النبات	الدالة الحامضية	اللون
الكركم	١–٥	وردي فاتح
	٦–١٠	اصفر فاتح
	١١–١٢	اصفر داكن
السماق	١–٥	برتقالي فاتح
	٦–١٠	اصفر
	١٠–١١	اصفر داكن

٦- اختبار الصبغات مع بعض دلائل التعادل :

عند معايرة حامض الهيدروكلوريك ٠,٠٩ مولار مع محلول قياسي أولي لكربونات الصوديوم ٠,١ مولار باستخدام دليل المثيل البرتقالي والصبغات وجد أن هناك توافقا بحجم الحامض المستخدم لعشرة مكررات حيث معدل الحجم ١٠,٣ للمثيل البرتقالي و ١٠ مل للصبغة ونسبة الخطأ ٣,١% وعند استخدام الحامض القياسي مع هيدروكسيد الصوديوم ٠,١ مولار باستخدام دليل الفينولفثالين وجد هناك توافق أيضا بالحجم لعشرة مكررات حيث معدل الحجم باستخدام الفينولفثالين ٩,٥ مل و ٨,٥ مل باستخدام الصبغة ونسبة الخطأ ٢,٩٥% لذلك يمكن ترشيح الصبغة من السماق كدليل حامض – قاعدة وبنجاح .

٧- نتائج استخدام الصبغات المعزولة لتكوين أوراق كشف الحامضية والقاعدية :

تم إجراء الاختبار على أوراق الترشيح التي تم معاملتها مع المستخلصات النباتية حيث لوحظ أن جميع الأوراق التي تم غمرها لحد الإشباع بالمستخلصات يكون لونها بنفس اللون للصبغة المعزولة من الكركم والسماق ويلاحظ تغير لونها في المحلول الحامضي والقاعدي ومن خلال هذه التجربة نحصل على أوراق شبيهة بأوراق زهرة الشمس litmus paper وهي ذات كفاءة عالية لمعرفة طبيعة الحامضية والقاعدية للمحاليل عند غمسها في تلك المحاليل وقد تم استخدام هذه الطريقة حسب الأدبيات [١٧].

٨- نتائج استخدام الصبغات على بعض المحاليل الحامضية والقاعدية :

تم إجراء الاختبار على عدد من المحاليل الحامضية والقاعدية والتي تم معاملتها مع المستخلصات النباتية حيث لوحظ أن جميعها قد تغير لونها في المحلول الحامضي والقاعدي ، كما في جدول (4) وهي

ذات كفاءة عالية لمعرفة طبيعة الحامضية والقاعدية للمحاليل عند غمسها في تلك المحاليل وقد تم استخدام هذه الطريقة حسب الأدبيات [١٨].

جدول رقم (4) : التغير اللوني للصبغات مع تغير الدالة الحامضية للمحاليل المختبرية

الكواشف والتغير اللوني	حامض الهيدروكلوريك	حامض الخليك	حامض النتريك	هيدروكسيد الصوديوم	هيدروكسيد البوتاسيوم	هيدروكسيد الامونيوم
دليل الفينولفثالين	عديم اللون	عديم اللون	عديم اللون	وردي	وردي	وردي
الكركم	وردي فاتح	وردي فاتح	وردي فاتح	اصفر	اصفر	اصفر
السماق	برتقالي	برتقالي	برتقالي	اصفر	اصفر	اصفر
دليل المثيل البرتقالي	وردي	وردي	وردي	اصفر	اصفر	اصفر

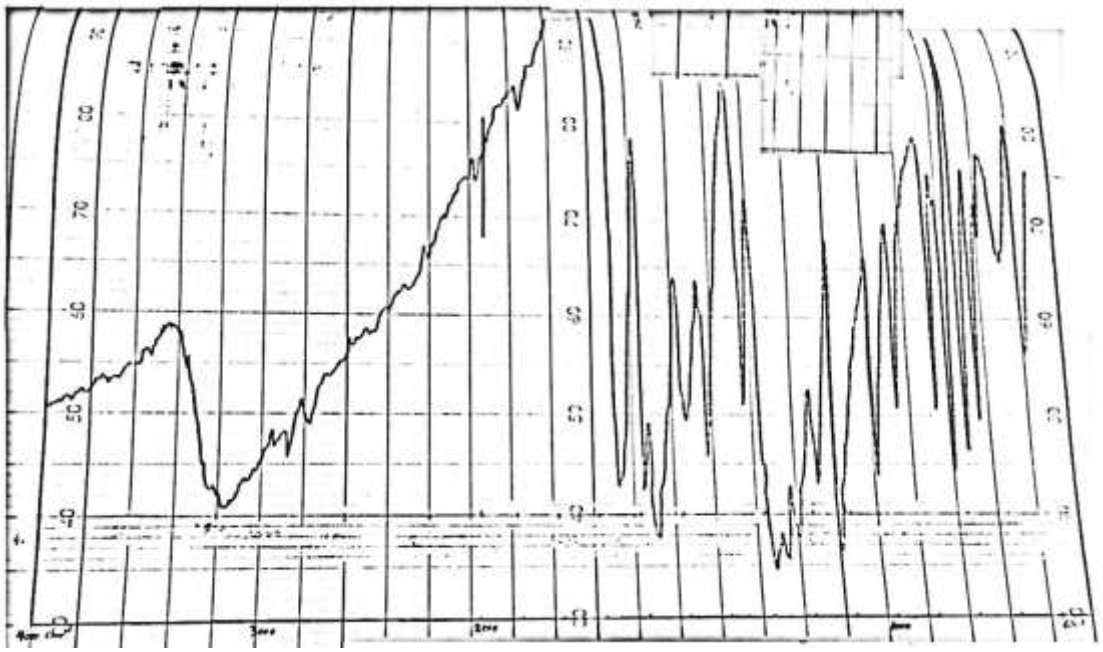
الدراسة الطيفية للأشعة تحت الحمراء للمركبات المعزولة:

تم إجراء قياسات طيف الأشعة تحت الحمراء بأقراص KBr بجهاز Fisher–100 كل الحزم التي تم تسجيلها تتضمن مجاميع مختلفة (O–H,C=O,C–H,C=C) والتي تمثل المجاميع الفعالة للمركبات المعزولة من الفلافونيدات المستخلصة من الكركم والسماق كما مبين في جدول(**5**)، والتي تعتبر مفتاحا لدراسات لاحقة وهذه القيم تتفق مع الدراسة في هذا المجال[١٩] حيث أن الدراسات في هذا المجال قليلة .

حيث أن حزمة مجموعة الهيدروكسيل (OH) تظهر عند (3457,3462) سم$^{-١}$ تكون حزمة عريضة أما الحزمة الظاهرة عند (2917, 2920) سم$^{-١}$ وتكون حادة وقوية فهي خاصة C– H لحلقة البنزين أما الحزمة عند(1623, 1651) سم$^{-١}$ فهي تعود إلى مجموعة الكاربونيل أما الحزمة (1449 و 1534) سم$^{-١}$ و (1027 و 1155) سم$^{-١}$ فهي تمثل C–O–C المميزة للفلافونيدات كما في الشكل (١).

جدول رقم (5) : حزم المجاميع الفعالة لمركبات الفلافونيدات المستخلصة من الكركم والسماق

الكركم	السماق
1027 سم$^{-1}$	1155 سم$^{-1}$
1449 سم$^{-1}$	1534 سم$^{-1}$
1623 سم$^{-1}$	1651 سم$^{-1}$
2920 سم$^{-1}$	2917 سم$^{-1}$
3462 سم$^{-1}$	3457 سم$^{-1}$



الشكل (١) :طيف الاشعة تحت الحمراء للفلافونيدات المعزولة من مستخلص السماق.

References:

1- Kolthoff, I. (1973).,"Development of analysis chemistry as a science", Anal. Chem. Vol.45, No. 1, p.24A.
2- Chadrasekaran, J. (2001)." Chemistry of colour", general article, India.
3- Yoshida K., Kameda, K. and Kondo T. (1977)," The chemistry and application of anthocyanins and flavones from Perilia leaves", in Perilia, Harwood academic

publishers, the Netherland, p.149.

4- Al-Rawi A.”Medicinal Plants of Iraq” Baghdad, Second Edition, (1988).

5- O. H. Al-Obaidi., “Aqueous and Alcohol Extracts from Glycyrrhiza glabra And theirs Activity Against Bacteria and Rhabdomyo Sarcomas” , Eur. Chem. Bull., 2014, 3(2) 133-137

6- Alaptanona, K. E, (1994), "Secrets of Therapeutics drug between modern science and Perfumery", the Kuwait Foundation for the Advancement of Science - Kuwait.

7- Darwish, M. and Qasim A., (1983), "Summary of medical pharmacology", the National Library, Baghdad.

8- O. H. Al-Obaidi., “Studies On Antibacterial And Anticancer Activity Of Nerium oleande Extracts”. Eur. Chem. Bull., 2014, 3(3) 259-262

9- Shahat, N. A. Z., (2000), "Medicinal plants and herbs," Arab Publishing and Distribution.

10- Weinberg, Z. G., Muck, R. E., Weimer, P. J., Chen, Y., & Gamburg, M. (2004). Lactic acid bacteria used in inoculants for silage as probiotics for ruminants. Applied biochemistry and biotechnology, 118(1-3), 1-9.

11- Dalale, Basil Kamel and Al-Hakim, Sadiq Hassan (1987). Food Analysis, Library, University of Mosul.

12- Abd Al-Mukhtar, Jawad victory, "" Study of some pharmacological properties of some medicinal plants in some parasitic worms in laboratory mice.”Master, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad (1994).

13- Mahdi, B. T. (2011). Isolation of some active materials from Cordial myxia fruits and studies its biological activity against gram negative bacteria. *ANBAR JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCES*, *9*(2), 306-313.

14- Aboud, K. W., & Mahdi, E. A. (2014). Study the Effect of Ferula hermonis Extract on HepG2 cell line culture. *مجلة كلية التربية الاساسية-الجامعة المستنصرية*,*20*(84), 709-720.

15- O. H. Al-Obaidi., Water and alcohol extraction from the plant Sugar (***Beta Vulgaris***) and study its effectiveness against bacteria and tumors and to study the possibility complaxation with cobalt and cadmium metal”,3rd Scientific Conference of Genetic and Environment , Iraq Association of Genetic and Environment Resources Conservation , 2015 , p.58-68.

16- O. H. Al-Obaidi ,”Extraction of water and alcohol to thyme (Thymus Vulgaris) and to study its effectiveness against bacteria and tumors and used as anti-oxidant in the manufacture of margarine”. Third Scientific Conference - University of Diyala-Vol.8, No.3, 2012, Innovative Systems Design and Engineering, Vol.4, No.1, 2013.

17- Hammouri, M, Al-Samdi, M, Bataineh, M and Ou, B. (2001)., "Separation and characterization of an anthocyanin. Cyaniding-3-o-arabinosyl glycoside from petals of flowers of pheasants Eye (Adonis aestivalist L.) ", International. J. of biochromatography, Vol.6, pp. 173-183.

18- Senese, F. (2001b). "What are some natural acid-base indicators"., General chemistry online, FAQ.

19- Ashnagar A., Gharib N. and Haidari H.. (2007). "Isolation and Identification of Athralin from the Roots of Rhubarb Plant". 4:4. 546-549.