دراسة مقارنة بين أجزاء مختلفة من نبات اللوبياء *Vigna unguiculata* L. Walp من حيث المحتوى الكيميائي والفينولي الكلي

حلا الدعاس * **محمد عصام حسن آغا****

الملخص

خلفية البحث وهدفه: تعد اللوبياء أحد أقدم المحاصيل الزراعية في العالم، ومثل العديد من البقوليات تشكّل البذور مصدراً جيداً للغذاء والعلف الحيواني، كما تحتوي البذور مركبات فعالة لها تأثيرات فيزيولوجية مفيدة لصحة الإنسان، إلا أن أوراق وقشور وثمار نبات اللوبياء مهملة عادةً والدراسات حولها قليلة وغير مستثمرة بالشكل الأمثل.

يهدف هذا البحث إلى الكشف عن أهم الزمر الكيميائية في بذور وأوراق وقشور وثمار نبات اللوبياء المزروع في سورية، وتحديد المحتوى الفينولي الكلي لهذه الأجزاء النباتية في خلاصات محضّرة باستخدام محل إيتانول 80%.

النتائج: أظهرت النتائج إيجابية تفاعلات الفينولات ، والفلافونوئيدات، والصابونينات، والقلويدات في الأوراق، والبذور، وقشور الثمار مع تفرّد البذور بوجود التانينات.

كان المحتوى الفينولي الأعلى في خلاصة الأوراق 30.56 ملغ/غ، وتليها قشور الثمار بمحتوى فينولي 21.13 ملغ/غ، ثم البذور 14.28 ملغ/غ.

الكلمات المفتاحية: اللوبياء، المحتوى الفينولي.

* صيدلانية، قسم العقاقير، كلية الصيدلة، جامعة دمشق.

** أستاذ دكتور، قسم العقاقير، كلية الصيدلة، جامعة دمشق.

A comparative study on chemical and total phenolic content of various parts of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp)

Hala Aldaas* **Mohamed Isam Hasan Agha****

Abstract

Background & Aim: Cowpea (*Vigna unguiculata*(L) Walp) is on of the most ancient crops in the world, and like for many other legumes, its seeds are used for human food and animal feed, and also contain bioactive compounds that may be have useful physiological effects to human health. However, the leaves and pericarps of cowpea are usually neglected and studies around them are few and not optimally invested.

This research aims to investigate on the presence of phytochemicals in seeds, leaves, and pericarps of *Vigna unguiculata* L. Walp and determination the total phenolic content in the ethanolic exracts 80% of these plant parts.

Results: The results showed the presence of phenoles, flavonoids, saponines, and alkaloids in the leaves, seeds, and pericarps, and presence the tannines in the seeds only.

The highest phenolic content was in the extract of the leaves (30.56 mg/g), followed by the pericarps with phenolic content (21.13 mg/g), then the seeds (14.28 mg/g).

Key words: phenolic content, *Vigna unguiculata* L. Walp.

* Pharmacist, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria.
** Prof.Dr, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria.

المقدمة :

تعد النباتات المصدر الرئيسي للعقاقير، والمواد الفعالة التي تدخل في صناعة الأدوية، وتزداد أهميتها مع التقدم الحضاري، وازدياد الحاجة إلى مكونات فعالة جديدة ذات استخدامات دوائية.

ومع التقدم الحالي الهائل في مجال الكيمياء وصناعة الأدوية، فإن المداواة بالأعشاب الطبية ما زالت مفضلة في كثيرٍ من البلدان، وذلك بعد أن كشف العلماء النقاب عن النتائج الكارثية أحياناً، والناجمة عن سوء استعمال العقاقير الكيميائية (الحكيم وآخرون، 2012).

وتحتوي النباتات العديد من المركبات الكيميائية التي لها تأثيرات فيزيولوجية في جسم الإنسان، وهي ذات بنى كيميائية مختلفة، ومن هذه المكونات الفعالة التانينات، والقلويدات، والتربينوئيدات، والستيروئيدات، والفلافونوئيدات (Awika *et al*, 2017, 686).

وتعد الحموض الفينولية مستقلبات ثانوية مهمة في النبات؛ إذ تعمل على هيكلية الجدار الخلوي، كما أنها تدخل في عمليات التمثيل الحيوي، وتتميز بوجود حلقة فينول مرتبطة مع مجموعة هيدروكسيل (Awika *et al*, 2017, 686).

وهي تشكل أكبر مجموعة من المستقلبات الثانوية في النبات (Evans, 2009, 219).

وتعد اللوبياء (الشكل 1) أحد أقدم مصادر الغذاء، ويحتمل أنها استخدمت كمحصول زراعي منذ العصر الحجري الحديث (Zia-Ul-Haq *et al*, 2013, 2005).

ويعتقد أن منشأها من غرب أفريقيا؛ لأن كلاً من الأنواع البرية والمزروعة تنمو في المنطقة (IREFIN, 2020)، ويساهم الجزء الغربي من أفريقيا بحوالي 95% من الإنتاج العالمي للوبياء (Baiyi *et al*, 2020, 10).

الشكل (1): نبات اللوبياء (صورة من التقاط الباحثة)

تعد اللوبياء من النباتات الغنية بالمواد البروتينية ،والكربوهيدراتية، والأملاح المعدنية، ويدخل في تركيب بذورها الجافة ما يقارب 22.5_25.6% بروتين، و28.3_36.2% كربوهيدرات، و1.3_1.9% دسم، و19.5–35.6% ألياف متضمنة الألياف غير المنحلة بنسبة 1.7–16.6%، كما تحتوي الأملاح المعدنية بنسبة 2.6–4.6%.(Antova *et al*. 2014. 146).

وهي نبات حولي عشبي متسلق ينتمي للفصيلة الفولية *Fabaceae*، و يصل ارتفاعه إلى (80 سم_ 2 م)، وجذرها وتدي متفرع (IREFIN, 2020).

وتعد اللوبياء مصدراً غنياً بالحموض الأمينية والبروتين، وبعض هذه الحموض الأمينية تؤدي دوراً في معالجة فقر الدم المنجلي (Zaheer *et al*, 2020, 1349)، وقد تعود فعاليتها إلى قدرتها على كبح الجذور الحرة المتشكلة خلال العمليات الاستقلابية (Mpiana *et al*, 2009, 75)، وكباقي البقوليات تعد البذور الجزء النباتي الأكثر استهلاكاً من اللوبياء بسبب خصائصها المغذية؛ إذ تعد مصدراً معروفاً للبروتين، والفيتامينات والمعادن، والألياف المنحلة وغير المنحلة (Zia-Ul-Haq *et al*, 2013, 2005).

وتملك البذور فعالية في الوقاية من أمراض القلب، والأوعية (Zaheer *et al*, 2020, 1349)، وفعالية خافضة لشحوم

الدم من خلال خفض مستويات الكولسترول والغليسيريدات الثلاثية، والبروتينات الشحمية السيئة في المصل، ورفع مستويات البروتينات الشحمية الجيدة (Allah *et al*, 2017, 488).

كما تملك فعالية واقية للكبد من خلال خفض مستويات الأنزيمات الكبدية في المصل (Satish *et al*, 2017, 111).

وتملك اللوبياء تأثيراً خافضاً لسكر الدم، ويساعد على ذلك المحتوى العالي من الألياف في اللوبياء إضافة إلى المنسب الغلوكوزي المنخفض لها (Moloto *et al*, 2020, 1285)، حيث تعطي الألياف شعوراً بالتخمة مما يؤدي إلى خفض الاستهلاك المفرط للسعرات الحرارية، وينجم عن ذلك تأثير خافض لسكر الدم (Weththasinghe *et al*, 2014, 401).

ويساعد استهلاك اللوبياء على خفض خطر الإصابة بالسكري من النمط الثاني، حيث إن المحتوى من المركبات الفينولية في اللوبياء يقوم بتثبيط الأنزيمات الهاضمة للكربوهيدرات (ألفا وأميلاز، وبيتا غليكوزيداز)، وينشَط بشكل ملائم العوامل الخافضة لسكر الدم (Moloto *et al*, 2020, 1285).

وبالنظر إلى التأثيرات الفيزيولوجية المهمة لنبات اللوبياء كان من الأحرى استثماره بالشكل الأمثل، وتوسيع الدراسات البحثية حوله للكشف عن الزمر الكيميائية فيه، والمحتوى الفينولي الكلي في أجزائه ولاسيما الأجزاء النباتية المهملة والأقل استخداماً منه (الأوراق وقشور الثمار).

ويهدف البحث إلى المساهمة في تحديد المستقلبات الثانوية، والمكونات الفعالة لنبات اللوبياء المزروع في سورية، وتحديد المحتوى الفينولي في أجزائه.

مواد البحث وطرائقه:

مكان إجراء الدّراسة

أُجري العمل في مخبر الدّراسات العليا – قسم العقاقير–كلية الصيدلة–جامعة دمشق بالتعاون مع مركز الدّراسات الوبائية والبيولوجية لطفيليات الليشمانية–جامعة دمشق.

جمع وتجفيف النبات:

جرى جمع النبات المزروع من ريف درعا بين شهري تموز وأيلول من عام 2020، وصُنِّفَ للتأكَد من الجنس والنوع النباتي من قبل الدكتور عماد القاضي رحمه الله، ثم جُمعت كمية كافية من النبات، وفُصِلت الأقسام المستخدمة (الأوراق، والبذور، وقشور الثمار)، ثم جُفِّفَت لعدة أيام في الظل وبدرجة حرارة الغرفة حتى ثبات الوزن، وطُحنت باستخدام مطحنة كهربائية، وحُفِظت بأوعية عاتمة ومحكمة الإغلاق بعيداً عن الرطوبة لحين الاستعمال.

المذيبات والكواشف والمعياريات:

كاشف الفينولات (Folin-Ciocalteu شركة Merck الألمانية)

وحمض الغاليك (Gallic acid شركة AVONCHEM البريطانية)

وكربونات ثنائية الصوديوم$Na2CO3$ (شركة Riedel de-Hean الألمانية) ، وتمَّ تحضير محلول كربونات ثنائية الصوديوم بتركيز 20% .

كحول إيتيلي مطلق،وميتانول، وكلوريد الألمنيوم، وحمض الخل الثلجي، وحمض البور، وحمض الحماض، ومعدن المغنيزيوم، وجيلاتين، وكلوريد الصوديوم، وتالك، وتترابورات الصوديوم، وفانيلين، وإيتر البترول، وهيدروكسيد الصوديوم، وكلوريد الحديد، وحمض الكبريت الكثيف، وحمض الهيدروكلوريك، وماء مقطر. وكاشف دراجندروف.

ويحضر بحلّ 100غ من حمض الطرطر في 400 مل ماء، ثم يضاف إليها مقدار 8.5 غ نترات البزموت، ويرجّ

لمدة ساعة، ثم يضاف مقدار 200 مل من محلول يوديد البوتاسيوم 40غ/100 مل، ويرج ثم يترك 24 ساعة، ويرشح (منجد وآغا، 1997).

وكاشف ماير: ويحضر بحلّ 1.35غ من كلوريد الزئبق في 50 مل ماء، ثم يضاف 5غ يوديد البوتاسيوم، ويكمل الحجم إلى 100مل بالماء المقطر.

كاشف هاغر: يضاف مقدار 100مل محلول مشبع من حمض المرّ مع 0.25 مل من الصود (منجد وآغا، 1997).

وجميع المواد التي أُستخدمت ذات نقاوة تحليلية عالية.

الأجهزة والأدوات المستخدمة:

أنابيب اختبار، ودوارق معايرة ذات أحجام مختلفة وممص ميكروني Micropipette

وميزان حسَاس

وحمام الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic waves

ومقياس الطيف الضوئي UV-Vis Spectrophotometer.

ومبخّر دوّار Rotary Evaporator

وآلة طحن كهربائية

ومحافد

طريقة العمل:

➢ **تحضير الخلاصات النباتية:**

أُستخدم الإيتانول 80% كمحل في تحضير الخلاصات النباتية المدروسة باتباع طريقة الاستخلاص بالتعريض للأمواج فوق الصوتية Ultrasonic assisted extraction، وفق الخطوات الآتية:

تم وزن 20غ من مسحوق الأوراق، والبذور، وقشور الثمار كل على حدة، وأضيف لكل منها 200مل من الإيتانول 80% بحيث تكون نسبة المسحوق (وزن) إلى المحل (حجم) هي (10:1) (Pandey *et al*, 2014, 115)، ووُضِعَت ضمن عبوات زجاجية عاتمة، وتركت بعيدة عن الضوء بدرجة حرارة الغرفة مدة 24 ساعة دون تحريك.

ووُضعت بعدها ضمن حمام الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic waves بتواتر قدره 40 khz (Pandey *et al*, 2014, 115) بدرجة حرارة 40 درجة مئوية مدة 25 دقيقة، ورُشِحت بعد ذلك الخلاصات، وكُرِّرت عملية الاستخلاص بالطريقة نفسها ثلاث مرات.

ووُضعت الرشاحات في حوجلة المبخّر الدوّار بهدف تبخير المحل تحت ضغط منخفض.

وُزِنت بعد ذلك الخلاصات، وحُفِظَت في عبوات زجاجية عاتمة ومحكمة الإغلاق بدرجة حرارة 8- درجة مئوية لحين الاستخدام.

➢ **الكشف الكيميائي عن المستقلبات الثانوية:**

أُجريت تفاعلات الكشف الكيميائية على مسحوق بذور وقشور ثمار وأوراق نبات اللوبياء كل على حدة، حيث أجريت الاختبارات الآتية (منجد وآغا، 1997)[14]:

A) الكشف عن الفينولات:

أُضِيفَت قطرة واحدة من كاشف كلوريد الحديد FeCl3 إلى 1 مل من الخلاصة المائية لمسحوقبذور، وقشور ثمار، وأوراق اللوبياء كل على حدة في وسط غولي، ويدل ظهور لون أخضر زيتونيّ على وجود الفينولات.

B) الكشف عن الفلافونوئيدات:

أُخِذَ مقدار 2غ من مسحوق العقار، وأُستخلص بمقدار 25 مل من الميتانول بالتسخين على حمام مائي بوجود مبرد صاعد مدة عشر دقائق، ورُشّحَت الخلاصة وهي ساخنة، ثم مُدِّدَت بمقدار 20 مل من الماء، وأُضيف 10 مل من إيتر البترول للتخلص من المواد المعيقة، وأُخذت الطبقة الميتانولية المائية، وجففت حتى الحصول على رسابة، وحُلت الرسابة بقدار 10 مل خلات الإيتيل.

وطُبقت تفاعلات الكشف الآتية:

1) التفاعل مع كلوريد الألمنيوم AlCl3

أُخذ مقدار 1 مل من الخُلاصة السابقة، وأُضيف إليها 1 مل من محلول كلوريد الألمنيوم، فنحصلُ في حال وجود الفلافونوئيدات على لون أصفر، ويُعطي تألقاً بلون أزرق مُخضر عند تعريضه للأشعة فوق البنفسجية UV بطول موجة 365 نانومتر.

2) تفاعل شينودا Shinoda

أُخذت 5 مل من الخُلاصة في جفنة، وجُففت حتى الحصول على رسابة، ثم تم حلها ب 1 مل من الإيتانول المطلق. أُضيف إليها 0.5 غ من معدن المغنيزيوم، و 10 - 5 قطرات من حمض كلور الماء المركز؛ فنحصلُ على لون أحمر في حال وجود الفلافونوئيدات.

3) تفاعل ويلسون–تابوك Wilson-Taubock

أُخذ 5 مل من الخُلاصة في جفنة، وجُففت حتى الحصول على رسابة، ثم تم حلها ب 1 مل إيتانول مطلق، ثم أُضيف إليها 0.5 غ من حمض البور، و0.5 غ من حمض الحماض، فينتج في حال وجود الفلافونوئيدات تألق بلون أخضر مصفر عند تعريضه لأشعة UV بطول موجة 365 نانومتر.

C) الكشف عن التانينات:

وُضِعَ 0.5 غ من مسحوق العقار مع 50 مل ماء في فيول ، وغُليت لمدة 10 دقائق، ثم رُشحت وطبقت التفاعلات الآتية:

1) التفاعل مع خلات الرصاص:

أُخِذ 5 مل من الخلاصة السابقة، وأُضيف إليها 1 مل من حمض الخلّ المُمدد لتعديل الخلاصة، ثمأُضيفت 2–3 قطرات من خلات الرصاص 10% فينتج في حال وجود التانينات راسب أبيض إلى بُني اللون.

2) ترسيب الجيلاتين:

أُخذ 5 مل من الخلاصة وأُضيف إليها 1 مل من حمض الخلّ الممدد، ثم تم إضافة أُضيفت عدة قطرات من كاشف الجيلاتين، فينتج في حال وجود التانينات عكر أو راسب.

D) الكشف عن الإنتراكينونات:

1) تفاعل بورترينغر Borntrager:

أُخذ حوالي 0.5 غ من مسحوق العقار، وأُضيف إليه مقدار 10 مل من الكلوروفورم ضمن أنبوب، ويُرجّ الأنبوب جيداً، ويُترك مدة ربع ساعة، ويُضاف بعد ذلك 2مل من محلول النشادر 10%، ويُرجّ الأنبوب، ويُترك مدة ربع ساعة، فنلاحظ تلّون الطبقة القلوية (المائية) بلون أحمر غامق في حال وجود الانتراكينونات.

2) تفاعل بورترينغر Borntrager المعدّل:

أُخِذَ حوالي 0.5 غ من مسحوق العقار، وأُضيف إليها مقدار 10 مل من حمض الهيدروكلوريك 7%، و5 مل من كلوريد الحديد 5% ضمن فيول، وتم تسخين المزيج على حمام مائي مدة ربع ساعة، ثم ترشيحه وتبريده، واُستخلص المزيج بمقدار 10 مل من الكلوروفورم في حبابة إبانة، ثم أُخذت الطبقة الكلوروفورمية، وأُضيف 5 مل من محلول النشادر 10%، وتم رجّ المزيج جيداً وتُرك مدة 15 دقيقة، وتتلون الطبقة القلوية (المائية) بلون أحمر غامق في حال وجود الانتراكينونات.

3) تفاعل شوتاتن Shouteten (تفاعل بوراكس Borax):

أُخِذَ 1غ من مسحوق العقار، وأُضيف إليه مقدار 10 مل من الماء الغالي، ورُجَّ المزيج بشدة ثم بُرِّدَ، وأُضيف 1غ من مسحوق التالك للتخلص من الشوائب والمواد المعيقة، ثم رُشّح المزيج، وأُضيف للرشاحة 0.5 غ من مسحوق تترابورات الصوديوم، وسُخّنت حتى تمام الانحلال، ثم تم تمديد الناتجُ بمقدار 15 مل ماء، ونقله إلى جفنة، وفحص التألق باستخدام الأشعة فوق البنفسجية بطول موجة 365 نانومتر.

E) الكشف عن الصابونينات:

1) تفاعل تشكل الرغوة:

أُخِذَ 0.5 غ من مسحوق العقار ووُضِعَ في أنبوب اختبار ،ثم أُضيف إليه 10 مل من الماء الساخن، وتُرك ليبرد قليلاً ثم رُجَّ بشدة مدة 10 ثواني.

ونلاحظ بحال وجود الصابونينات تشكل عمود من الرغوة لقرابة 10دقائق على الأقل، ولا يزولُ عند إضافةٍ بضع قطرات من حمض الهيدروكلوريك (2ن)، وتدل هذه التجربة على وجود الصابونينات، ولكن يمكن أن تعطي نتيجة إيجابية بوجود الصوابين والمستحلبات الصناعية.

2) التفاعلات اللونية مع الألدهيدات العطرية:

أُخِذَ 0.5 غ من مسحوق العقار، ووُضِعُ في فيول، ثم أُضيف إليه10 مل إيتانول 50% وحُرّك جيداً مدة 10 دقائق، ثم رُشّح، أُخذ 1 مل من الرشاحة، ووُضعت في أنبوب اختبار ثم أُضيف إليها بضعُ قطرات من حمض معدني مركز (حمض الكبريت الكثيف) وبضع قطرات من الألدهيد العطري (الفانيلين).

يُلاحظُ (بحال وجود الصابونينات) تشكل لون أحمر آجريّ، وهذا التفاعل قليل النوعية، إذ يُعطي نتائج إيجابية مع ثنائيات التربين.

3) تفاعل (Zlatkis-Zak التفاعل مع الحموض المعدنية والمؤكسدات):

أُخِذَ 0.5 غ من مسحوق العقار، ووُضع في فيول، ثم أُضيف إليه 10 مل إيتانول 50%، وحُرِّكَ جيداً مدة 10 دقائق، ثم رُشِّحَ، تم أخذ 1 مل من الرشاحة، ووضعت في أنبوب اختبار، وأُضيف إليها بضع قطرات (10 قطرات) من حمض الهيدروكلوريك الكثي، وبضع قطرات (2-4 قطرات) من محلول% 10 لملح معدني ثقيل مثل: كبريتات النحاسK أو كلوريد الحديد، فتتشكل ألوان مختلفة بحسب الملح المتشكل مع كلوريد الحديد: لون أصفر برتقالي، مع كبريتات النحاس، ولون أخضرمزرق.

هذا التفاعل قليل النوعية، إذ يعطي نتائج إيجابية مع الستيروئيدات وثلاثيات التربين.

E) الكشف عن القلويدات:

أُخِذَ 1 غ من العقار، ووُضِعَ في فيول، وأُضيف إليه 5 مل من حمض الهيدروكلوريك الممدد، و 15 مل ماء.

وسُخنَ المزيج على حمام مائي مدة 5 دقائق، ثم تم ترشيحه، وتم تبريد الرشاحة الناتجة، ثم نُقل إلى حبابة إبانة، واُستخلصت ب10 مل كلوروفورم للتخلص من الشوائب الدسمة، ثم تم رمي الطبقة الكلوروفورمية (العضوية).

وأُجريت تفاعلات الكشف باستخدام الكواشف المرسَبة على الطبقة المائية الحاوية على أملاح القلويدات، وقد أُخذَ 1 مل من الخلاصة، وأُضيف إليها قطرة أو قطرتان من إحدى كواشف الترسيب الآتية:

1) كاشف دراجندروف Dragengroff:

تركيبه يود البزموت والبوتاسيوم K(BI4) ، وينتجُ عن تفاعله مع القلويدات راسب برتقالي مائل إلى البني

2) كاشف ماير Mayer:

تركيبه يود الزئبق والبوتاسيوم(K2(HgI4 ، وينتجُ عن تفاعله مع القلويدات راسب أبيض كريمي .

3)كاشف هاغر Hager:

وتركيبه حمض المر؛ وينتجُ عن تفاعله مع القلويدات راسب أصفرُ اللون

- **معايرة محتوى الفينولات الكلية:**

حُدِّدَ مقدار الفينولات الكلية بطريقة Folin-Ciocalteu (Slinkard *et al*, 1997, 49)، وحضرت محاليل الخلاصات للأجزاء النباتية بدءاً من عينات هذه الخلاصات المعالجة بالمبخر الدوار، إذ يؤخذ **20** µl من العينة التي سبق تحضيرها، ويضاف إليها 1.58 مل من الماء المقطر،

ومقدار 100 µl من كاشفFolin-Ciocalteu، وتُحضن العينات مدة عشر دقائق في درجة حرارة الغرفة. وأضيف بعد ذلك مقدار 300µl من كربونات ثنائية الصوديوم (Na2CO3 20%) ويُترك المزيج مدة 40 دقيقة في درجة حرارة الغرفة، بعدها قِيستِ الامتصاصية بمقياس الطيف الضوئي بطول موجة 765 نانومتر.

وحُدِّدت العلاقة بين الامتصاص والتركيز باستعمال معياري حمض الغاليك، حيث تم التعبير عن النتائج بعدد الميليغرامات المكافئة لحمض الغاليك لكل واحد غرام من وزن المستخلص الجاف (Slinkard *et al*, 1997, 49).

النتائج:

أظهرت نتائج الكشف الكيميائي لخلاصات كل من البذور، والأوراق، وقشور الثمار لنبات اللوبياء المحضرة إيجابية واضحة عند معاملتها بالكاشف المستعمل في تفاعل شينودا، إضافة إلى إيجابية التفاعل مع كاشف كلوريد الألمنيوم، وهذان التفاعلان من التفاعلات الأكثر نوعية في الكشف عن الفلافونوئيدات، إضافة إلى إيجابية تفاعل ويلسون تابوك، وهذا ما يدل على احتمالية احتواء النبات على الفلافونوئيدات.

وعند معاملة الخلاصات المحضرة مع كواشف ترسيب القلويدات (دراجندروف، وماير، وهاغر)، وتشكلت رواسب واضحة ذات ألوان وصفية، وهذا ما يدل على احتمالية وجود القلويدات في النبات.

وأظهرت الخلاصات المحضرة إيجابية واضحة عند معاملتها مع كاشف كلوريد الحديد، وهذا ما يشير إلى احتمالية وجود الفينولات، كما أظهرت خلاصة البذور إيجابية واضحة عند معاملتها مع كل من (كاشف الجيلاتين، وكاشف خلات الرصاص 10%) وهذا ما يوجه إلى احتمالية وجود التانينات في البذور.

وأظهرت الخلاصات المحضرة لكل من الأوراق، وقشور الثمار على حدة إيجابية واضحة عند معاملتها مع كاشف خلات الرصاص 10%، في حين أظهرت نتيجة سلبية عند معاملتها مع كاشف الجيلاتين، وهذا ما يدل على غياب التانينات فيها.

ويشير ظهور عمود الرغوة عند رج مزيج البذور والأوراق، وقشور الثمار مع الماء كل على حدة مع إيجابية كل من (التفاعل مع الالدهيدات العطرية بوجود الحموض وتفاعل زلاتكس زاك) إلى احتمالية وجود الصابونينات في النبات.

ولم تظهر الخلاصات أي إيجابية عند معاملتها مع كاشف بورترينغر(أمونيا10%)، وهذا مايشير إلى غياب الإنتراكينونات الحرة في نبات اللوبياء المزروع، كما أشارت سلبية تفاعل بورترينغر بعد الحلمهة الحامضية، والأكسدة باستعمال كلوريد الحديد (تفاعل بورترينغر المعدل) إلى غياب الغليكوزيدات الإنتراكينونية.

وأُدرجت نتائج الكشف الكيميائي عن أهم الزمر الكيميائية في أجزاء اللوبياء المزروعة في (الجدول1)، إذ يظهر احتمال وجود كل من الفينولات، والفلافونوئيدات، والقلويدات، والصابونينات في الأوراق، والبذور، وقشور الثمار، كما يظهر احتمال وجود التانينات في البذور، في حين أن الاختبارات الأولية للكشف عن الانتراكينونات كانت سلبية في جميع الأجزاء النباتية السابقة.

الجدول 1: نتائج الكشف الكيميائي النباتي لأجزاء نبات اللوبياء المزروع باستخدام اختبارات الكشف.

الزمرة الكيميائية	التفاعل الكيميائي		نتيجة التفاعل	
		البذور	قشور الثمار	الأوراق
فلافونوئيدات	كلوريد الألمنيوم	+	+	+
	شينودا	+	+	+
	ويلسون تابوك	+	+	+
تانينات	ترسيب الجيلاتين	+	–	–
	ترسيب خلات الرصاص 10%	+	+	+
انتراكينونات	بورترينغر	–	–	–
	بورترينغر المعدل	–	–	–
	شوتاتن	+	+	+
صابونينات	الرغوة	+	+	+
	الألدهيدات العطرية	+	+	+
	زلاتكس–زالك	+	+	+
قلويدات	دراجندروف	+	+	+
	ماير	+	+	+
	هاغر	+	+	+
الفينولات	تفاعل مع كاشف كلوريد الحديد	+	+	+

* +: تفاعل إيجابي، –: تفاعل سلبي

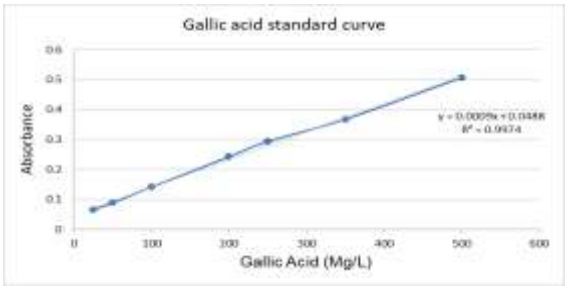
أظهرت النتائج أن (1غ) من كل من خلاصة البذور الإيتانولية 80%، وخلاصة قشور الثمار الإيتانولية 80%، وخلاصة الأوراق الإيتانولية 80% تحتوي على14.28 و 21.13 و30.56 ملغ من الفينولات المكافئة لحمض الغاليك على التوالي.

حيث تم حساب تركيز الفينولات من المنحنى المعياري لحمض الغاليك الشكل (2)، وتم تحديد إجمالي الفينولات لخلاصات البذور، والأوراق، وقشور الثمار كما هو وارد في الجدول (2)، ويلاحظ أن المحتوى الكلي للفينولات للخلاصة الإيتانولية 80% للأوراق هي الأعلى تليها قشور الثمار ثم البذور.

الجدول (2): عديدات الفينولات الكلية بالملغ، مكافئ لحمض الغاليك/غ من الوزن الجاف.

الخلاصة الإيتانولية 80%	كمية الفينولات الاجمالية(ملغ/غ)
البذور	14.28±0.5257
الأوراق	30.56±0.41
قشور الثمار	21.13±0.4041

n=3*



الشكل2: منحنى المعياري لحمض الغاليك لتقدير عديدات الفينول الكلية في خلاصات البذور والأوراق وأغلفة الثمار.

***كل نقطة من المنحنى تمثل الوسيط الحسابي لثلاثة قياسات± الإنحراف المعياري.**

المناقشة:

تشير نتائج الكشف الكيميائي لكل من البذور والأوراق وقشور الثمار إلى احتمالية وجود الفينولات ،والفلافونوئيدات، والصابونينات، والقلويدات، بينما أظهرت تفاعلات الكشف عن الإنتراكينونات نتائج سلبية فيها، في حين تفردت البذور بوجود التانينات.

وتطابقت نتائج تفاعلات الكشف الكيميائية مع دراسة (Satish *et al*, 2017, 111) في وجود كل من الفينولات، والفلافونوئيدات، والصابونينات، والقلويدات، والتانينات في البذور.

وتطابقت النتائج مع دراسة (Hussain *et al*, 2019, 000) في وجود كل من القلويدات والفينولات، والتانينات، والفلافونوئيدات في البذور، في حين اختلفت نتائج الكشف عن الصابونينات، حيث أظهرت أن لديه نتيجة سلبية مع

تفاعل الرغوة، بينما أظهرت دراستنا نتيجة إيجابية مع هذا التفاعل.

وتوافقت نتائج تفاعلات الكشف الكيميائية مع دراسة (Nderitu *et al*, 2017, 2017) في وجود كل من الفينولات، والصابونينات، والقلويدات، والفلافونوئيدات، وغياب التانينات، والإنتراكينونات في الأوراق.

وتظهر نتائج دراسة الكشف الكيميائي توافقاً مع دراسة (Allah *et al*, 2017, 488)، فقد أظهرت نتائج تفاعلات الكشف الكيميائية أن لديه وجود الفلافونوئيدات والقلويدات والسابونينات في البذور والأوراق ووجود التانينات في البذور.

في حين اختلفت نتائج الكشف عن التانينات في الأوراق، فقد أظهرت نتائج الكشف أن لديه إيجابية التانينات بينما أظهرت لدينا أن له نتائج سلبية.

ويمكننا أن نُعزي الاختلاف في بعض النتائج إلى طبيعة المنطقة الجغرافية التي يزرع فيها النبات إضافة إلى طبيعة التربة، وطبيعة مكوناتها، ونوع الخلاصة المُحضرة للتفاعل، وتفاعلات الكشف المطبقة.

وأظهرت نتائج الدراسة احتواء الخلاصات الإيتانولية 80% لكل من البذور والأوراق وقشور الثمار على المركبات الفينولية، وكان المحتوى الأعلى في الأوراق (30.56 ملغ/غ)، وتليها قشور الثمار (21.13 ملغ/غ)، ثم البذور (14.28ملغ/غ). وذلك باستخدام طريقة الاستخلاص بالتعريض للأمواج فوق الصوتية بوجود الحرارة، حيث تساعد الحرارة على زيادة انحلالية المركبات الفعالة ومعدل تحررها في المحل، إضافة إلى خفض لزوجة المحل وتوتره السطحي مما يساعده على النفاذ في الجزيئات النباتية، ومن ثم تحسين مردود الاستخلاص (Dai *et al*, 2010, 7313).

وتقاربت نتائج هذه الدراسة مع نتائج دراسة (Avanza *et al*, 2021, 162) حيث بلغ المحتوى الفينولي للخلاصة الإيتانولية للبذور لديه 17.70 ملغ/غ بينما بلغ المحتوى الفينولي لخلاصة البذور عند استخدامه الماء كمحل استخلاصي 15.32 ملغ/غ باستخدامه طريقة الاستخلاص بالنقع مع التحريك مدة 24ساعة.

وتوافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Avanza *et al*, 2021, 162) في أن استخدام المحلات القطبية العضوية أو مزج المحلات القطبية العضوية مع الماء أكثر فعالية في استخلاص المركبات الفينولية من بذور اللوبياء.

وتقارب مردود الفينولات في هذه الدراسة مع مردود الفينولات في دراسة (Yusnawan *et al*, 2021) التي أُستخدِمت فيها مجموعة من المحلات (إيتانول- وميتانول- واسيتون) بتراكيز مختلفة (80%-70%-50%)، وأوضح فيها أن استخدام الأسيتون بتراكيز 70% و80% أعطى أعلى مردود للفينولات في البذور.

حيث بلغ المحتوى الفينولي لخلاصة البذور حمراء اللون (19.87-20.2 ملغ/غ) بينما بلغ المحتوى الفينولي لخلاصة البذور بنية اللون (18.37-18.2 ملغ/غ) عند استخدام الاسيتون 80%-70% كمحل استخلاصي على التوالي والاستخلاص بالنقع ثم التعريض للأمواج فوق الصوتية.

ويعود الاختلاف في المحتوى الفينولي عن هذه الدراسة التي أُستخدمت فيها بذور بيضاء اللون إلى اختلاف لون البذور حيث تحتوي البذور الملونة محتوى فينولي أعلى من البذور غير الملونة (Yusnawan *et al*, 2021) ، إضافة إلى اختلاف قطبية المحل المستخدم (Avanza *et al*, 2021, 162) ، كما توافقت هذه الدراسة مع دراسة (Yusnawan *et al*, 2021) في أن استخدام طريقة الاستخلاص بالتعريض للأمواج فوق الصوتية

بالمشاركة مع النقع أفضل من استخدام الطرق التقليدية في استخلاص المستقلبات الثانوية حيث تتطلب الطرق التقليدية وقتاً أطول وكميات أكبر من المحلات.

وتفوقت نتائج المحتوى الفينولي لخلاصة البذور في هذه الدراسة على نتائج المحتوى الفينولي لدراسة (Chanda *et al*, 2010, 308). حيث بلغ المحتوى الفينولي لخلاصة البذور لديه (7.56، 8.33، 13.78 ملغ/غ) باستخدام محلات استخلاصية (خلات الإيتيل، وميتانول، وماء) على التوالي باستخدام طريقة الاستخلاص بالنقع على البارد مدة 24 ساعة.

أما بالنسبة لقشور الثمار فقد كان المحتوى الفينولي لهذه الدراسة أعلى من المحتوى الفينولي لخلاصة خلات الإيتيل في دراسة (Chanda *et al*, 2010, 308)، وأقل من المحتوى الفينولي للخلاصة المائية بينما تقارب من المحتوى الفينولي للخلاصة الميتانولية.

كما توافقت هذه الدراسة مع دراسة (Chanda *et al*, 2010, 308) في أن قشور الثمار ذات محتوى فينولي أعلى من البذور.

وبالمقارنة مع دراسة (Vijayaraj *et al*, 2019) فقد كان المحتوى الفينولي لخلاصة البذور في هذه الدراسة أقل من المحتوى الفينولي لخلاصة البذور الإيتانولية 80% في دراسة (Vijayaraj *et al*, 2019) وذلك بالاستخلاص بالنقع ثم التثفيل مدة 30 دقيقة باستخدام بذور حمراء اللون، وقد يعود الاختلاف البسيط إلى اختلاف لون البذور المستخدمة، إذ تشير دراسة (Yusnawan *et al*, 2021) ، إضافة إلى دراسة (Sombié *et al*, 2018, 143) الى أن المحتوى الفينولي للبذور الملونة أعلى من المحتوى الفينولي للبذور غير الملونة.

وتشير دراسة (Zia-Ul-Haq *et al*, 2013, 2005) إلى أنه يعود اختلاف المحتوى الفينولي إلى عدة عوامل منها التنوع الجيني للنبات، وشروط النمو، إضافة إلى الممارسات الزراعية المطبقة، ومرحلة النضج، وشروط التخزين بعد الحصاد، وعمليات المعالجة، والمحل المستخدم للاستخلاص.

وقد كانت دراستنا الأولى من نوعها لمعايرة المحتوى الفينولي لخلاصات الأوراق، وقشور الثمار المستخلصة بطريقة التعريض للأمواج فوق الصوتية، إذ تمتاز هذه الطريقة باستخلاص أسرع للمركبات الفينولية باستخدام كميات أقل من المحلات بالمقارنة مع الطرق التقليدية كالنقع ،والتعطين، وسوكسليه، وتستخدم هذه الطريقة مؤخراً لاستخلاص المركبات الفينولية من أجزاء مختلفة من النباتات كالأوراق، والسوق، والثمار، والبذور.

(Dai *et al*, 2010, 7313).

الاستنتاجات:

تحتوي بذور وأوراق وقشور ثمار نبات اللوبياء المزروع على مكونات فعالة متعددة كالفينولات، والقلويدات، والفلافونوئيدات، والصابونينات، وقد تفردت البذور بوجود التانينات.

إن المكونات الفعالة التي تم الكشف عنها يمكن استخدامها في الصناعات الدوائية لعلاج بعض الأمراض، كما يمكن استخدامها في بعض التطبيقات الصناعية.

وأظهرت الدراسة احتواء بذور وأوراق وقشور ثمار نبات اللوبياء على الفينولات، وكان المحتوى الأعلى في الأوراق، وتليها قشور الثمار، ثم البذور.

يمكن أن يُسهم المحتوى الفينولي لنبات اللوبياء في الوقاية من العديد من الأمراض التي لها علاقة بالإجهاد التأكسدي كالأمراض القلبية الوعائية لما لها من دور في عملية كنس الجذور الحرة من الجسم.

المقترحات والتّوصيات:

ينصح بالاستفادة من أوراق اللوبياء كمضادات أكسدة إلى جانب البذور وقشور الثمار لاحتوائها على نسبة جيدة من المركبات الفينولية، وتحضير خلاصات من هذه الأجزاء النباتية يمكن الاستفادة منها في الوقاية من العديد من الأمراض المزمنة كأمراض القلب والأوعية.

وضرورة إجراء المزيد من الأبحاث على المحتوى الكيميائي لنبات اللوبياء لما له من أهمية غذائية واقتصادية.

Referances:

1. وسيم هاني الحكيم، السعدي محمد بدوي، محمد عصام حسن آغا، عماد صبحي القاضي، أحمد عبد الفتاح دركلت، زهير صديق الشاطر، ثروات حبيب إبراهيم، محمد شاكر قربيصة. (2012). أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي. المركز العربي لدراسات المناطق الجافة والأراضي القاحلة.
2. حسان منجد، محمد عصام حسن آغا. (1997). العقاقير الحاوية على غليكوزيدات: كتاب كيمياء-14 العقاقير والاستخلاص. منشورات جامعة دمشق.
3. Awika, J. M., & Duodu, K. G. (2017). Bioactive polyphenols and peptides in cowpea (Vigna unguiculata) and their health promoting properties: A review. *Journal of Functional Foods*, *38*, 686-697.
4. Evans, W. C. (2009). *Trease and evans' pharmacognosy E-book* sixteenth edition. Elsevier Health Sciences. 16th: 21, 219.
5. Zia-Ul-Haq, M., Ahmad, S., Amarowicz, R., & De Feo, V. (2013). Antioxidant activity of the extracts of some cowpea (Vigna unguiculata (L) Walp.) cultivars commonly consumed in Pakistan. *Molecules*, *18*(2), 2005-2017
6. IREFIN, O. I. (2020). ASSESSMENT OF ANTINUTRIONAL COMPOSITIONS OF TWO COWPEA (Vigna unguiculata L. WALP.) VARIETIES.
7. Baiyi, K. L., & Malgwi, I. H. (2020). The effect of pH on roots, shoots, leaves and germination rate during the early developmental stage of cowpea (Vigna unguiculata L.). *The effect of pH on roots, shoots, leaves and germination rate during the early developmental stage of cowpea (Vigna unguiculata L.)*, *59*(1), 10-10.
8. Antova, G. A., Stoilova, T. D., & Ivanova, M. M. (2014). Proximate and lipid composition of cowpea (Vigna unguiculata L.) cultivated in Bulgaria. *Journal of Food Composition and Analysis*, *33*(2), 146-152.
9. Zaheer, M., Ahmed, S., & Hassan, M. M. (2020). Vigna unguiculata (L.) Walp.(Papilionaceae): A review of medicinal uses, Phytochemistry and pharmacology. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *9*(1), 1349-1352.
10. Mpiana, P. T., Mudogo, V., Ngbolua, K. N., Tshibangu, D. S. T., Atibu, E. K., Kitwa, E. K., & Kanangila, A. B. (2009). In vitro antisickling activity of anthocyanins extracts of Vigna unguiculata (L.) Walp. *Chemistry and medicinal value. Houston: Studium Press LLC*, 75-82.
11. Allah, N. S. K., Eltayeb, I. M., & Hamad, A. E. H. (2017). Phytochemical screening and hypolipidemic activity of extracts from seeds and leaves of Vigna unguiculata growing in Sudan. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *6*(3), 488-491.
12. Satish, S., Ajay, K. K., & Chaitra, A. B. (2017). A study on hepatoprotective activity of aqueous seed extract of Vigna Unguiculata (l) Walp against ethanol induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, *5*(3), 111-116.
13. Moloto, M. R., Phan, A. D. T., Shai, J. L., Sultanbawa, Y., & Sivakumar, D. (2020). Comparison of phenolic compounds, carotenoids, amino acid composition, in vitro antioxidant and anti-diabetic activities in the leaves of seven cowpea (Vigna unguiculata) cultivars. *Foods*, *9*(9), 1285.
14. Weththasinghe, P., Liyanage, R., Vidanarachchi, J., Perera, O., & Jayawardana, B. (2014). Hypocholesterolemic and hypoglycemic effect of cowpea (Vigna unguiculata L. Walp) incorporated experimental diets in wistar rats (Rattus norvegicus). *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, *2*, 401-405.

15. Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *2*(5), 115-119.
16. Slinkard, K; Singleton, V.L. (1977). Total phenol analyses: Automation and comparison with manual methods. *American Journal Of Enology And Viticulture*, 28, 49-55.
17. Hussain, M. S., Hossain, M. S., & Rashid, M. M. O. (2019). Antiobesity and Lipid Lowering Activitiy of Vigna unguiculata (L) Walp. Seed in High Fat Diet Induced Obese Mice. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, *9*, 000-000.
18. Nderitu, K. W., Mwenda, N. S., Macharia, N. J., Barasa, S. S., & Ngugi, M. P. (2017). Antiobesity activities of methanolic extracts of Amaranthus dubius, Cucurbita pepo, and Vigna unguiculata in progesterone-induced obese Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2017*.
19. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, *15*(10), 7313-7352.
20. Avanza, M. V., Álvarez-Rivera, G., Cifuentes, A., Mendiola, J. A., & Ibáñez, E. (2021). Phytochemical and Functional Characterization of Phenolic Compounds from Cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.) Obtained by Green Extraction Technologies. *Agronomy*, *11*(1), 162.
21. Yusnawan, E., Inayati, A., & Baliadi, Y. (2021, April). Extraction Treatments Affect Total Flavonoid and Phenolic Contents of Cowpea (Vigna Unguiculata L. Walp.). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 733, No. 1, p. 012088). IOP Publishing.
22. Chanda, S., Dudhatra, S., & Kaneria, M. (2010). Antioxidative and antibacterial effects of seeds and fruit rind of nutraceutical plants belonging to the Fabaceae family. *Food & function*, *1*(3), 308-315.
23. Vijayaraj, P., Nakagawa, H., & Yamaki, K. (2019). Cyanidin and cyanidin-3-glucoside derived from Vigna unguiculata act as noncompetitive inhibitors of pancreatic lipase. *Journal of food biochemistry*, *43*(3), e12774.
24. Sombié, P. A. E. D., Compaoré, M., Coulibaly, A. Y., Ouédraogo, J. T., Tignégré, J. B. D. L. S., & Kiendrébéogo, M. (2018). Antioxidant and phytochemical studies of 31 cowpeas (Vigna unguiculata (L. Walp.)) genotypes from Burkina Faso. *Foods*, *7*(9), 143.