التقدير الكمي والنوعي للمكونات الفعالة والاساسية لاوراق الحناء المحلية *Lawsonia inermis* L. (Lythraceae)[+]

DETERMINATION OF QUANTITATIVE AND QUALITATIVE ACTIVE AND ESSENTIAL COMPONENTS OF LOCAL HENNA LEAVES *LAWSONIA INERMIS L. (LYTHRACEAE*)

أسامة علي محسن العبادي* منتهى عبد الكريم الصفار** مهدي ضمد محيسن القيسي***

المستخلص :-

تضمنت الدراسة الكيميائية التقدير الكمي و النوعي للمكونات الأساسية في أوراق الحناء، إذ بلغت النسبة المئوية للرطوبة والبروتين والكاربوهيدرات والدهون والتانينات والالياف في أوراق الحناء 7.22 % و 15.78 % و 25.1% و8.2 % و6.05 %و 4.2 % على التوالي،أما الرماد الكلي فبلغ١٣,١٨% و الذي شمل ٣٣,٤٤ ملغرم /غرام من الرماد الذائب في الماء و ٢٣,٧٣ ملغرم / غرام من الرماد غير الذائب في الحامض. كما أحتوى زيت أوراق الحناء على الاحماض الدهنية الحرة وهي كابريليك (caprylic) أثار و كابريك (capric) أثار و ليوريك (lauric) 0.42% و مايرستيك (myristic) ١,٣٣% و بالمتيك (palmitic) ١٦,٢٠% و ستيريك (stearic) ٢,٤٣% و أوليك (oleic) ١٥,٣٧% و لينوليك (linoleic) ٤٥,٧٣% و لينولينك (linolenic) ١٧,٨٦% و الارشيديك (arachidic) ٠,٦٦%. كذلك تضمنت الدراسة فصل المكون الفعال في أوراق الحناء المتمثل باللاوسون (Lawsone) و الذي شخص بأنه المركب 2-hydroxy-1, 4-naphthoquinone بوساطة قياس درجة الانصهار و طيف الاشعة تحت الحمراء و طيف الاشعة فوق البنفسجية و المرئية و كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة.

Abstract

Local henna leaves, which belong to the speices *Lawsonia inermis* was subjected to chemical and biological studies. The chemical studies include the quantitative and qualitative analysis of the active and essential components. The percentages of the essential of the leaves are as follows: 7.22% moisture, 15.78% protein, 25.1% carbohydrates, 8.2% fats, 4.2% fiber and 13.18% total ash that include 33.44 mg/g water soluble ash and 23.73 mg/g acid insoluble ash. It was also found that fatty acids content of the henna leaves include the following free fatty acids: caprylic trace, capric trace, lauric 0.42%, Myristic 1.33%, palmitic 16.20%, stearic 2.43% oleic 15.37%, linoleic 45.73%, linoleneic 17.86% and arachidic 0.66%. The other part of the chemical

[+] تاريخ استلام البحث ٢٠٠٤/٥/١١ تاريخ قبول النشر ٢٠٠٥/١/١٣

*معهد الهندسة الوراثية والتقنية الاحيائية للدراسات العليا -جامعة بغداد

**قسم صحة المجتمع- معهد الطبي التقني – بغداد

***مركز سلامة الغذاء - وزارة العلوم والتكنولوجيا

study includes isolation of lawsone, the active substance of henna leaves which is identified as 2-hydroxy– 1,4-naphthoquinone by melting point, infrared spectra, ultraviolet and visible spectra and thin layer chromatography.

المقدمة

تنتمي الحناء إلى العائلة الحنائية Lythraceae وهي نباتات شجيرية ، مستديمة الخضرة غزيرة التفريع القائم الذي يتميز باللون الاحمر البني ، ويصل طولها إلى ثلاثة امتار او اكثر والاوراق بسيطة ورمحية نوعا ما او بيضوية الشكل طولها (٢ - ٤) سم ، وهي متقابلة الوضع جالسة ولونها اخضر داكن. الازهار صغيرة في صورة نورة عنقودية طرفية الوضع ولونها احمر خفيف او ابيض مصفر. والثمار كبسولية وكروية الشكل [١ و ٢].

لوحظ أن مستخلص الحناء المائي يسلك سلوكا حامضيا ضعيفا اذ يبلغ الرقم الهيدروجيني له بين (5.3 - 5.7) فيما اعطى تحليل اوراق الحناء النتائج الآتية : الرطوبة (8 - 9.5) %، الرماد الكلي (7.2 - 7.8) % و النتروجين(1.3-1.6) % و مستخلص الماء البارد 36.5 % و المستخلص الكحولي (28.5-30.7) % و مستخلص البنزين (6.8-7.3) % والمستخلص البترولي(9.1-10)% و محتوى الالياف الخام (6.5-7.0) % والسكريات(11-11.5) %[٣] .

أما مسحوق اوراق الحناء المزروعة في اقليم البنجاب فكانت نتائج تحليله كالاتي :

الرطوبة 8.97 % و الرماد الكلي 14.85 % و المستخلص المائي (25-33) % [٤] وغالباً يكون المحلول المائي للحناء ذو لون برتقالي ويعطي تفلور اخضر اللون كما انه يعطي لوناً غامقاً عند معاملته بالمحاليل القاعدية ويفقد ثباتيته اللونية لذا تُستعمل الحناء في المحاليل الحامضية لاغراض التجميل والصبغ[4].

تحليل المكونات الطيارة لازهار الحناء الحمراء بوساطة كروماتوغرافي الغاز (GC) وكروماتوغرافي الغاز - طيف الكتلة (GC-MS) بعد عملية الاستخلاص بالمذيبات، اظهر أن نسبة المكونات الطيارة في الازهار الصفراء اكبر من تلك الموجودة في الازهار الحمراء وتختلف عنها، إذ أن الأولى أعطت نسبة أعلى من بيتا – ايونون ٤٨,٦% مقارنة بالأزهار الحمراء ٢,٥% ، في حين أعطت الأخيرة نسبة أعلى من المركب 2-phenyl ethanol تقدر بـ11.5% فضلا عن مركبات Aldehydes , C6 alcohols , Benzylalcohol [٥]. يعد اللوسون 2-hydroxy -1,4- nophthopuinone هو المادة الفعالة حيويا في اوراق الحناء وهي مادة ملونة من الصبغات النباتية الثابتة[٦] ، وتوجد كذلك في الاجزاء الهوائية الاخرى للنبات مثل السيقان الحديثة وفروعها وتختلف نسبتها في الأوراق بحسب الظروف المناخية وعمر الشجيرة المأخوذة منها الاوراق وتتراوح بين ٠,٨٨% [١] ، بينما ذكر[٣] أن نسبة اللوسون في الاوراق الجافة تبلغ ١% .

المواد وطرائق العمل

جمعت كميات من أوراق نبات الحناء *Lawsonia inermis* من بعض الحدائق المنزلية في محافظة بغـداد . و تم تشخصيها من قبل الأستاذ الدكتور علي حسين الموسوي في قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة بغداد . جففـت الاوراق بالظل في جو مفتوح ثم طحنت الاوراق الجافة للحصول على مسحوق متجانس و حفظ لحين الاستعمال.

تم تقدير نسبة الرطوبةوالزيت بعد استخلاصه باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر (Soxhelt apparatus) فـي اوراق نبات الحناء وفقاً للطريقة الواردة في[٧] و تم تقدير البروتين الكلي باتباع طريقة كلـدال (Micro-Kjeldhal) وفقاً لما جاء في [٨]. تم تقدير الكربوهيدرات الكلي حسب ما جاء في [٩] ، اما تقدير التانينات فقد أتبعت الطريقة التـي أوردها [١٠]. أما تقدير نوعية ونسبة الاحماض الدهنية فقد اتبعت الطريقة التي اوردها [١٠] وجهـاز كرومـاتوكراف الغاز-السائل (GLC) قد اسـتخدم عمود فصل زجاجي من مـادة سـيلر (Sailar 10C) محملـة علـى مـادة كروموسورب (DMCS-DWA/c1hromosorp) . كما تم استخدام استرات الاحماض الدهنية القياسية المجهزة من شركة Aldrich Chemical Co. لمقارنة اوقات ظهورها والتي حقنت بالجهاز تحت الظروف نفسها .

تم تقدير نسبة الرماد الكلي ، الرماد غير الذائب في الحامض والرماد الذائب في الماء حسب الطرائق الـواردة في [١١] و اتبعت الطريقة الواردة في [١٢] لتقدير الالياف الخام .

تشخيص اللوسون :-

تم تنقية اللوسون وفق الطرائق المذكورة في [٧]، وتقدير درجـة الانـصهار باسـتعمال جهـاز Gallenkamp Melting Point Apparatus . درست أطياف الاشعة تحت الحمراء للوسون باستعمال مطياف الاشعة تحت الحمراء نوع Pye unicam sp 3-300 infra red spectrophotometer من صنع شركة Philips إذ شـخص المركـب بهيئة قرص من بروميد البوتاسيوم KBr.

تم قياس طيف أمتصاص اللوسون للأشعة فوق البنفسجية والمرئية ضمن مدى طول موجي ٢٠٠-٥٠٠ نـانومتر وباستعمال جهاز UV-Visible Spectrophotometer UV-160 من صنع شركة Shimadzu وحضر النمـوذج بإذابة (٥) مليغرام من المركب في[١١] مليلتر من الكـحول الاثيلي (٩٦%).

أما كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة Thin Layer Chromatography فقد اتبعت الطريقـة التـي أوردهـا [١٣] و باستعمال محلولي الفصـل (Mobile Phas) : أ-benzene – dioxane – acetic acid بنسبة ٤ : ٢٥ : ٧. و(ب) chloroform – acetic acid بنسبة ١ : 9 .

النتائج والمناقشة

المكونات الأساسية في أوراق الحناء :

من خلال تحليل المكونات الأساسية في أوراق الحناء المحلية كما موضح في الجدول (١) ، وجد أن النسبة المئوية للرطوبة في الأوراق (٧,٢٢%) على أساس الوزن الجاف . بينما كانت نسبة البروتين (١٥,٧٨%) وهي نسبة عالية بالمقارنة مع تلك التي ذكرها [٣].

بينما بلغت النسبة المئوية للكربوهيدرات في الاوراق (٢٥,١%) وهي أعلى بكثير من تلك التي ذكرها [٦] ، أما الالياف الخام فقد بلغت نسبتها في الاوراق (٤,٢%) وهي أقل مما ذكره [٥] والذي وجد أن نسبة الألياف في نماذج مأخوذة من مناطق مختلفة تتراوح بين ٦,٥% و ٧% .

فيما بلغت النسبة المئوية للتانينات (٦,٠٥%) وهي تقع ضمن المدى الذي ذكره [٢] وقدره (٥-١٠)% بينما كانت أدنى من نسبتها في اوراق الحناء المزروعة في البنجاب (١٠,٢١%) وأعلى من تلك المزروعة في جامو وكشمير (٤,٩%) [٣].

أما النسبة المئوية للرماد الكلي فقد كانت (١٣,١٨%) وهي أعلى من نسبتها في أوراق الحناء المزروعة في تركيا وقدرها (١٢,٦%) [١٤]. أما نسبة الرماد الذائب في الماء فقد بلغت ٣٣,٤٤ ملغرام/غرام فيما كانت نسبة الرماد غير الذائب في الحامض ٢٣,٧٣ ملغرام / غرام على أساس الوزن الجاف .

وجرى تقدير الدهن بطريقة الاستخلاص بالمذيبات (الأيثر النفطي) فكانت نسبته في الاوراق (٨,٢%) وهي أقل من تلك التي ذكرها [٣] وقدرها (٩,١%).

أن الفروقات في النتائج الخاصة بنوعية المكونات الكيميائية ونسبتها بين الدراسات السابقة ناتج عن الفوارق في أوراق الحناء المحلية وعن الفروقات في الوسط والظروف البيئية وطرائق القياس المستخدمة في التحليل الكمي والنوعي للأوراق .

نوعية ونسبة الاحماض الدهنية في أوراق الحناء :

بينت التحليلات التي اجريت لمعرفة نوعية الاحماض الدهنية في الزيت المستخلص من اوراق الحناء المحلية باستعمال جهاز كروماتوغرافي الغاز - السائل (GLC) وجود عشر أحماض دهنية ، كما موضح في الشكل (١) و الجدول (٢). سبع منها مشبعة وتشكل نسبة (٢١,٠٤%) من مجموع الاحماض الدهنية وهي كابريليك (Caprylic)و كابريك (Capric) و ليوريك (Lauric) و مايرستيك (Myristic) و بالمتيك (Palmitic) و ستيريك (Stearic) وأرشيديك (Archidic) وفيما شكلت الاحماض الدهنية المتبقية غير المشبعة نسبة (٧٨,٩٦%) وهي الأوليك (Oleic) و اللينوليك (Linoleic) واللينولينك (linolenic) ، كما موضح في الشكل (١) .

لقد كانت نسبة اللينوليك هي الأعلى (٤٥,٧٣%) مقارنة مع بقية الاحماض الدهنية ، فيما ظهرت نسبة كل من الحامضين الدهنيين كابريليك وكابريك على شكل آثار ولم يتمكن الجهاز من تحسس كمياتها كما مبين في جدول (٢)

تنقية وتشخيص اللوسون 2- hydroxy –1,4-naphthoquinone :

تم عزل اللوسون بهيئة بلورات برتقالية – حمراء اللون وقد وجد أنها تنصهر بدرجة حرارة (١٩١- ١٩٢)م^{o} مع التفكك وهذا يتطابق مع ما ذكره [٦] .

يتطابق طيف الأشعة تحت الحمراء للمركب 2- hydroxy-1, 4-naphthoquinone المعزول من أوراق الحناء كما موضح في الشكل (٢) تطابقاً كبيراً مع طيف اللوسون المخلق كيميائياً [١٥] . إذ أشار[١٦] إلى أهمية المقارنة بين المركبات المحضرة كيميائياً وتلك المعزولة من مصادر طبيعية إذ ان التشخيص التام لعدة أنواع من المكونات النباتية ولاسيما عند منطقة بصمة الأصابع (Fingerprint region) والتي تقع عن الترددات الأقل من ١٢٠٠سم$^{-١}$ وتمتاز هده المنطقة بتعقيدها لكونها تنتج عن الحركة الاهتزازية للمركب بأكمله .

كذلك تتطابق ترددات الحزم الموضحة في الشكل (2) مع تلك التي ذكرها [١٧] إذ ذكر أن ترددات الاهتزاز للأشعة تحت الحمراء للمركب الفعال المعزول من أوراق الحناء هي : ٣١٨٥ ، ١٣٨١ ، ١٦٠٠ ، ١٤٥١ ، ١٦٨٤ ، ١٦٤٥ (سم$^{-١}$).

وعادة تظهر حزمة الكاربونيل للمركب 1,4-naphthoquinone عند التردد (١٦٧٥) سم$^{-١}$ ولكن تعويض الموقع (٢) بمجموعة هيدروكسيل واهبه للإلكترونات أدى إلى حدوث تآصر هيدروجيني ضمني بين مجموعتي الهيدروكسيل والكاربونيل في المركب نفسه ، كما موضح في الشكل (2) . ان هذا التعويض وحدوث رنين فيرمي Fermi Resonance أدى إلى ظهور حزمتين لمجموعة الكاربونيل مع أزاحة نحو تردد أوطئ عند (١٦٦٠ و ١٦٩٥) سم$^{-١}$ (17).

فيما يتطابق الطول الموجي لقمتي الامتصاص الأعظم (l max) للمركب 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone والموضحة في الشكل(٣) مع طيف الاشعة فوق البنفسجية المذكورة من قبل [١٨] والتي ظهرت عند الأطوال الموجية ٢٥٠ و ٣٢٥ نانومتر، كما كانت مقاربة لما ذكره [١٩] الذي ذكر أن طيف الأشعة فوق البنفسجية لمركب اللوسون المذاب في الكلوروفورم أعطى قمتي امتصاص عند الاطوال الموجية ٢٥٠ و ٣٣٠ نانومتر مع ملاحظة أن للتداخلات بين المذيب والمذاب تأثير كبير في إزاحة قمم الامتصاص نحو الأزاحة الزرقاء أو الحمراء.

وتعزى أطياف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية للوسون إلى الانتقالات الإلكترونية من نوع Penzenoid $(\Pi \rightarrow \Pi^{*})$ و Quinonoid $(\Pi \rightarrow \Pi^{*})$ وعادة تكون أطياف الانتقال الاخير ذات شدة واطئة جداً بحيث لايمكن تمييزها عن حزمة البنزين[١٩].

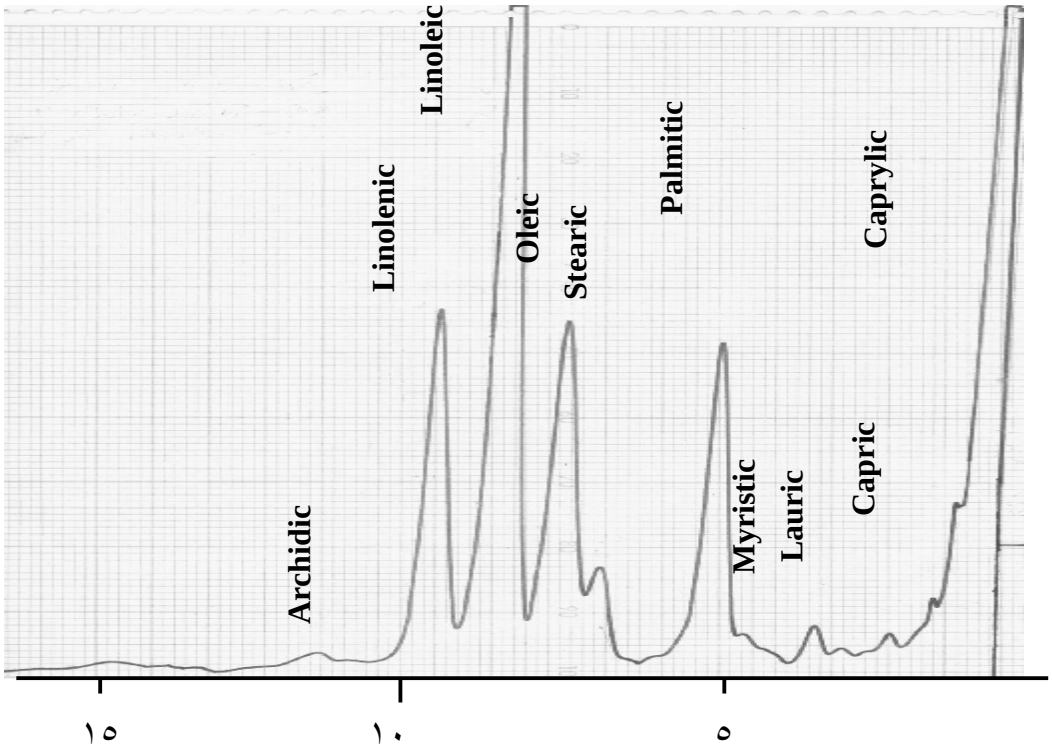
جدول (١) : النسبة المئوية للمكونات الأساسية في أوراق الحناء المحلية

المكون الأساس	النسبة المئوية (%)*
الرطوبة	٧,٢٢
البروتين	١٥,٧٨
الكاربوهيدرات	٢٥,١٠
التانينات	٦,٠٥
الألياف الخام	٤,٢٠
الدهن	٨,٢٠
الرماد الكلي	١٣,١٨

* قدرت على أساس الوزن الجاف .

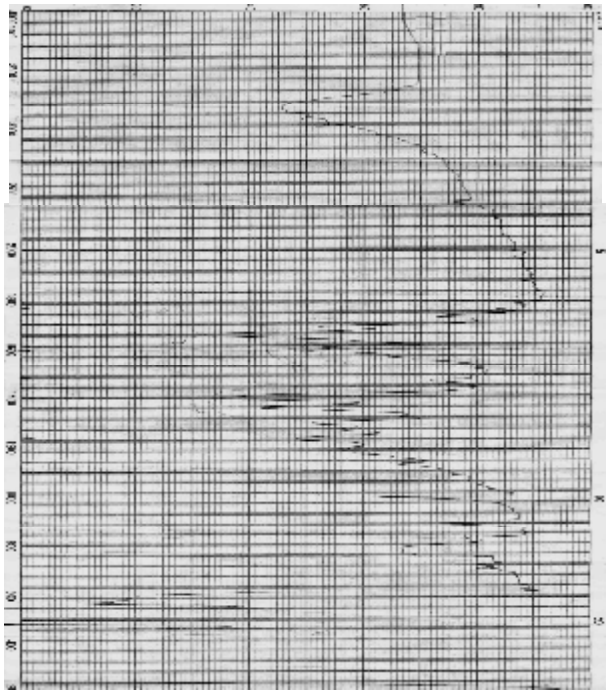
جدول (٢) : **الأحماض الدهنية الموجودة في زيت أوراق الحناء المحلية**

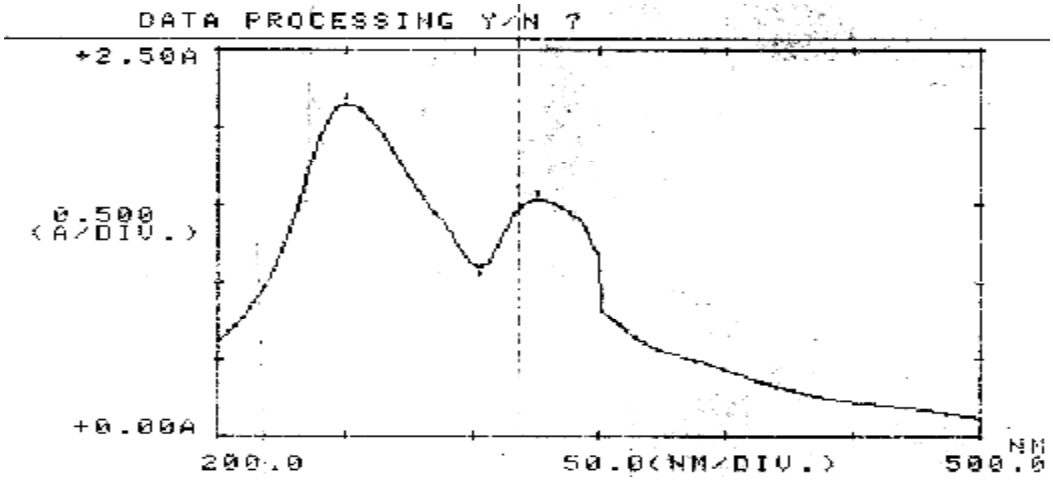
تسلسل ظهور الحامض الدهني	الحامض الدهني	الرمز	النسبة المئوية (%)
١	كابريليك Caprylic	C8	آثار
٢	كابريك Capric	C10	آثار
٣	ليوريك Lauric	C12	٠,٤٢
٤	مايرستيك Myristic	C14	١,٣٣
٥	بالمتيك Palmitic	C16	١٦,٢٠
٦	ستيريك Stearic	C18	٢,٤٣
٧	أوليك Oleic	C18:1	١٥,٣٧
٨	لينوليك Linoleic	C18:2	٤٥,٧٣
٩	لينولينيك Linolenic	C18:3	١٧,٨٦
١٠	أرشيديك Archidic	C20	٠,٦٦
المجموع			١٠٠
الاحماض الدهنية المشبعة Saturated fatty acids			٢١,٠٤
الاحماض الدهنية غير المشبعة Unsaturated fatty acids			٧٨,٩٦



شكل (١) : تحليل الاحماض الدهنية في زيت أوراق الحناء بطريقة كروماتوكراف الغاز – السائل.

شكل (2) : **طيف** الاشعة تحت الحمراء للمركب2-hydroxy-1,4-naphthoquinone





شكل (3): طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب 2-hydroxy –1,4-naphthoquin

المصادر

١- الشحات ، نصر أبو زيد. النباتات والأعشاب الطبية. دار البحار. بيروت.1986 .

٢- الصراف ، عبد الحسن محمد جواد. الحناء زراعتها واستعمالاتها. الهيئة العامة للتعاون والتدريب والإرشاد الزراعي. وزارة الزراعة والري. بغداد.١٩٨٩ .

3- Cox , H.E. The chemistry and analysis of henna. *Analyst*, 63 : 397-404. 1938.

4- Chada , Y.R. *The wealth of India (Raw materials). Vol. IX, Publication and Information directorate, C.S.I.R.,* New Delhi, India : 47-50. 1972.

5- Wong , K.C. and Teng, Y.E. Volatile components of *Lawsonia inermis* L. flowers. J. Essential oil Research, 7 (4) : 425-428. 1995.

6- Karawya , M.S., Abdel Wahhab, S.M. and Zaki A.Y. A study of the lawsone content in henna. *Lloydia* , 32 (1) : 76-78. 1969.

7- American Association of Cereal Chemists (AACC). Method 08-01. *The Association St. Paul, M.N.* 1984.

8-Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Official methods of analysis*, 13th ed. Washington D.C. 1980.

9- Dubois , M., Gilles, K.A., Hamilton, J .K., Rebers, P.A. and Smith, F. Colorimetric method for determination of sugers and related substances. *Anal. Chem*., 28 : 350-356. 1956.

10-StoffI, W., Chu,f. and Ahrens, E.H.J. Analysis of long chain fatty acids by gas-liquid chromatography, micro-method for preparation of methyl esters. Anal. Chem., 31: 307-308. 1959.

١١- دلالي ، باسل كامل والحكيم، صادق حسن. تحليل الأغذية. مطبعة دار الكتب، جامعة الموصل.1987 .

12- World Health Orgainization (WHO). *Quality control methods for medicinal plant materials.* Regional Office for the Western Pacific. Manila. 1998.

13-Maynard , A.J. *Methods in Food Analysis.* Academic press. New York . 1970.

14- Kawamura , T., Hisata, Y., Okuda, K., Noro, Y., Takeda, Y. and Tanaka, T. Quality evaluation of plant dye henna with glycosides. *Natural Medicines*, 54 (2) : 86-89. 2000.

15- Pouchert , C.J. *The aldrich library of Infrared spectra* .3rd edition.Aldich Chemical Company , Inc. 1981.

16- Harborne, J.B. *Phytochemical methods*, Science paper black. Chapman and Hall, London. 1973.

17. Tripathi , R.D. Dixit, S.N. 3rd *International sympo., Plant Pathology., IARI*. cited from Ali, M. 1996 . Chemical and medicinal evaluation of *Lawsonia inermis* (henna). Hamdadrd Medicus., 39 : 43-48. 1981 .

18- Phillips, J.P. and Nachod, F.C. *Organic electronic spectra data*. Vol. IV. Inter Science Publishers, New York. 1959.

19- Thomson , R.H. *Isolation and Identification of quinones*. In Goodwin, T.W. (ed.) Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Vol.2. Academic press. London. 1976.