Effect of alkaloid compounds toxicity extracted from potato tuber on lethal dose of male albinus rats

تأثير سمية المركبات القلوانية بجرعتها المميته المستخلصه من درنات البطاطا *Solanum tuberosum* في ذكور الجرذان البيضAlbinus rats

ثامر خضير مرزه — كليه العلوم/جامعه الكوفه
عدنان وحيد البديري — كليه الطب/جامعه القادسيه
رحيم عبد زيد العابدي — كليه العلوم/جامعه الكوفه

الخلاصة:

أجريت هذه التجربه في مختبرات قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الكوفة للكشف عن المواد الفعالة في درنات البطاطا صنف بنتجي وفصل المركبات القلوانية الخام المتواجدة فيها ودراسة تأثيراتها في الجرعه المميته لذكور الجرذان البيض . قدرت كمية المركبات القلوانية في عينات مختلفة من الوزن الطري للدرنات ووجد أنها تساوي 130 ملغم/كغم في العينات السليمة و342ملغ/كغم في الدرنات الكبيرة ذات الاخضرار الجزئي و 870 ملغم/كغم في العينات الصغيرة ذات الاخضرار الكلي فضلاً عن ذلك وجد أن كميه المركبات القلوانية تتركز في القشرة إذ بلغت 888 ملغم/كغم مقارنة مع اللب أذ بلغت 140ملغم/كغم .

تم إجراء اختبار السمية الحاد لكل من المستخلص الكحولي لدرنات البطاطا الخام ومستخلص المركبات القلوانية على الجرذان قيد الدراسة التي جرعت فمويا بهذين المستخلصين (بتراكيز مختلفه) فأظهرت النتائج أن المستخلص القلواني ذو سمية أكبر من المستخلص الخام وان قيمة الجرعة نصف القاتلة LD_{50} بلغت 575 و 850 ملغم/كغم من وزن الجسم للمستخلصين القلواني و الخام لدرنات البطاطا , على التوالي .

كلمات مفتاحيه:درنات,بطاطا,قلوانيات,الجرعه نصف المميته.

Abstract

This study was conducted in Biology Department/ College of Science/University of Kufa to detect the active ingredients and separation of alkaloids compounds from potato tubers (Bentiji cv.) and their effects on lethal dose of white male rats.

Alkaloids were determined in different potato tuber samples. It was found that there are 130 mg/kg. fresh weight(F.W.)from normal tubers, 340 mg/kg. F.W. from large tuber that partially greened and 870 mg/kg. F.W. from small size tubers which are completely green . Besides, it was found that alkaloid percentage condensed on the external surfaces (peel) that reached 888 mg/kg. F.W. compared with 140 mg/kg. F.W. from the internal part (flesh).

Lethal Dose (LD_{50}) was done for both crude and alkaloid tuber extracts for the studied rats that orally administrated with the above extracts(with different conc.). It was found that alkaloid extract was more toxic than crude potato extract. It was 575 and 850 mg/kg. for alkaloid and crude potato extract, respectively.

Key word:tuber,potato,alkaloids, LD_{50}Part of M.Sci.Thesis

المقدمة :

تنتج النباتات موادا متنوعة جداً من مركبات الايض الثانوية Secondary metabolites وتعد المركبات القلوانية من بين أهم تلك المواد وهنالك أكثر من 21000 قلوانا اكتشف لحد الآن والتي تمثل اكبر مجموعة من مركبات الايض الثانوية التي تحتوي على عنصر النتروجين والتي تشمل (700 حامض أميني غير بروتيني ، 100 أمين ، 60 ساينوجين كلايكوسيدي cyanogenic glycoside ، 100 مركب من Gluco – sinolets و 150 قلوان اميدي alkyl amides).(1)

تعد المركبات القلوانية الكلاكوسيدية من المجاميع القلوانية المهمة وهي تعرف بأنها مجموعة من المركبات العضوية الطبيعية التي تحتوي على النتروجين مع وجود صفات قاعدية قوية أو ضعيفة (2) والمركبات القلوانية هي مركبات ايضية ثانوية متعددة ومختلفة فقد اشار (3) إلى وصف أكثر من 12000 نوع من المركبات القلوانية ومن الأمثلة الشائعة على المركبات القلوانية هو الستركينين Strychnine والكافائين ,Caffeine والكوكايين Cocaine والنيكوتين Nicotine و السولانين Solanine .

ذكر (4) إن المجاميع الكبيرة من المركبات القلوانية تقسم إلى مجاميع اصغر اعتمادا على نشأتها وتركيبها وان المركبات القلوانية المتواجدة في درنات البطاطا تنتمي إلى مجموعة المركبات القلوانية الستيرويدية Steroidal glycoalkaloid وهذه تشتق من مركب ستيرويدي يحتوي على النتروجين أو ما يسمى الكولسترول cholesterol . إن نبات البطاطا ينتج القلوانين α- Solanine و α- chaconine واللذين يحتويان على نفس الجزء غير السكري Aglycon والمسمى بالسولاندين Solanidine والذي يرتبط بالجزء السكري ،

إن الصنف بنتجي من الأصناف عالية الإنتاجية وكثيرة الاستهلاك من قبل السكان في العراق ومن عيوبه الاخضرار قبل موعد الحصاد أو بعده وتكتسب درناته أو بعض أجزائها اللون الأخضر الفاتح أو الداكن عند تعرضها لضوء الشمس لعدة أيام وذلك لعدم تغطيتها بطبقة كافية من التربة (5) ويمكن أن يحصل ذلك عند خزنها في البيوت حيث تتعرض الدرنات للضوء الصناعي مما يساعد على تكوين الكلوروفيل و السولانين Solanine والمركبات القلوانية الأخرى (6) .إن هذه الدرنات تكون ذات طعم مر وغير مقبول وقد تؤدي إلى التسمم إذا أخذت بجرعات عالية .

تنتج البطاطا كمية من المركبات القلوانية تصل في بعض الأحيان إلى درجة السمية للإنسان والحيوان وفي العراق إذ يعتمد الإنسان على تناول البطاطا كغذاء رئيس شأنه شأن بقية دول العالم وان ضروب البطاطا المستهلكة سواء كانت مستزرعة أم مستوردة تتعرض للكثير من العوامل التي تؤدي إلى زيادة نسبة المركبات القلوانية في الدرنات مما يسبب في حالات تسمم غير مشخصة لحد ألان ,إذ لا توجد أي دراسة سابقة في العراق على الأقل حول المركبات القلوانية للبطاطا وآثارها السمية في الأنسجة المختلفة أو آثارها الفسيولوجية الأخرى. وعلى الرغم من التاريخ الطويل للإنسان بالاعتماد على الأغذية التي تحتوي على القلوانيات إلا أن الدراسات المسحية والتجريبية على الإنسان والحيوان لم تحدد المستويات الأمينة من القلوانيات في الأغذية المتناولة ومنها قلوانيات البطاطا ،لذلك اجريت هذه التجربه.

المواد وطرائق العمل

تم جمع عينات درنات البطاطا صنف Bintiji من السوق المحلية لمحافظة النجف. نُظّفت العينات من الأتربة والأوساخ جيدا باستعمال ماء الحنفية.

قُطّعت الدرنات باستعمال سكين حادة إلى شرائح رقيقة وجففت في الظل إلى أن تمَّ التخلص من الجزء الأكبر من الماء . ثم استعمل الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40 م لغرض التخلص من باقي الماء . طحنت الأجزاء الجافة باستعمال مطحنة كهربائية نوع (العربي) وحفظت المادة المطحونة في أوعية محكمة الغلق لحين الاستعمال.

تحضير مستخلص الكحول الاثيلي.

اتبعت طريقة (7) لتحضير هذا المستخلص وذلك بوضع 20 غم من المادة الجافة المطحونة في أوعية ورقية Thimbles ثم وضعت في جهاز الاستخلاص Soxhlet Extractor وأضيف إليها 200 مل من الايثانول 95% . وجرى الاستخلاص بدرجة حرارة 50 مْ ولمدة 24 ساعة . ركز المستخلص بجهاز المبخر الدوار وبدرجة 50 م ورشح باستعمال ورق ترشيح نوع واتمان Watman no. 1 ثم وضع في أوعية زجاجية نظيفة وجفف في الفرن الكهربائي وبدرجة حرارة 45 مْ ، جمعت المادة الجافة ووضعت في أوعية زجاجية نظيفة ومعقمة وأحكمت الغلق ثم لفت بأوراق معدنية (السلوفان) بعيدا عن الضوء وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

استخلاص المركبات القلوانية الخام

اتبعت طريقة (7) لاستخلاص المركبات القلوانية إذ وضع 20 غم من مسحوق درنات البطاطا الجافة الكبيرة الحجم المصابة بالاخضرار الجزئي في وعاء ورقي بجهاز الاستخلاص المستمر مع 250 مل من ايثر النفط Petroleum ether وتحت درجة حرارة 50 م ولمدة 24 ساعة لسحب الدهون ، ثم بخر المذيب ووزنت المادة النباتية المتبقية وتم خلالها حساب النسبه المئوية للدهون (8) ، بعدها جففت المادة النباتية المتبقية داخل الوعاء الورقي لاستخلاص المركبات القلوانية منها .

أعيدت عملية الاستخلاص بإضافة 250 مل من الكحول الاثيلي 95% مضافاً إليه حامض الخليك 2% للمادة النباتية المتبقية ولمدة 24 ساعة. ثم ركز المستخلص إلى 10 مل بجهاز المبخر الدوار . وأضيف إليه محلول هيدروكسيد الامونيوم NH_4OH على شكل قطرات للحصول على الأس الهيدروجيني pH = 9 والذي قيس بواسطة ورق قياس pH والمزود بدليل لقياس pH متدرج من 1-14، ثم رشح المحلول ووضع الراشح في قمع فصل Separatory funnel وأضيف إليه 100 مل من الكلوروفورم ورج عدة مرات وترك ليستقر إلى أن انفصل إلى طبقتين ، أخذت الطبقة الكلوروفورمية السفلى المذاب فيها المركبات القلوانية وركز المحلول باستعمال جهاز المبخر الدوار إلى 5 مل واجري له اختبار ماير ودراجندروف وماركس وواكنر بإضافة عدة قطرات من الكاشف إلى 1 مل من المستخلص للتأكد من وجود المركبات القلوانية فيه .

التقدير الكمي للقلوانات:

وزن 100 غم من درنات البطاطا الصغيرة الحجم المصابة بالاخضرار الكلي و 100 غم أخرى من درنات البطاطا السليمة ، ثم قطعت كلتا العينتين إلى شرائح رقيقة باستعمال سكين حاد وذلك لسهولة تجفيفها ، ووضعت في غرفة مظللة وجففت باستعمال تيار هوائي جاف .

بعد ذلك جففت نهائيا باستعمال الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 45 مْ . وزنت العينات بميزان حساس نوع Sartorius ، ووضعت في أوعية ورقية Thimbles كل على حدة . ووضعت في جهاز الاستخلاص وأضيف إليها 200 مل من الايثانول 95 % محمض بحامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid 2 % وتم متابعة الاستخلاص لمدة 24 ساعة . وركز المستخلص باستعمال جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator إلى 10 مل .

رشح المستخلص باستعمال ورق ترشيح ووضع في قمع الفصل Isolated funnel وأضيف إليه مادة الامونيا NH_4OH على شكل قطرات إلى إن أصبح pH الوسط 9 . وبعد ذلك أضيف إليه مذيب الكلوروفورم ورج جيداً لعدة مرات ثم ترك ليستقر فانفصل المستخلص إلى طبقتين الطبقة السفلى الكلوروفورمية وهي حاوية على المركبات القلوانية وطبقة عليا وهي تحتوي على بقية المواد المستخلصة. أخذت الطبقة السفلى وتم التأكد من إن المادة المعزولة هي المركبات القلوانية باستعمال كواشف المركبات القلوانية ، بعد ذلك وضعت المادة المعزولة في أوعية زجاجية تم تسجيل أوزانها مسبقا وجففت العينات المعزولة باستعمال فرن كهربائي بدرجة حرارة 50 م . بعد ذلك وزنت الأوعية الزجاجية من جديد وحسبت كمية المركبات القلوانية المعزولة من خلال الفرق بين الوزنين.وقورن وزن المركبات القلوانية المستخلصة من العينتين مع وزن المركبات القلوانية المستخلصة من التجربة السابقة.

التقدير الكمي لقلوانات درنات البطاطا في القشرة peel واللب Flesh :

تم اخذ عدة درنات من البطاطا المصابة والسليمة ونُظِّفت جيداً ثم أزيلت القشرة Peel بعمق 3ملم ، وأخذت المادة المتبقية اللب Flesh وقطعت على شكل شرائح رقيقة وجفف كلا النموذجين (القشرة Peel واللب flesh) كل على حدة باستعمال تيار هواء جاف في غرفة مظلمة . ثم طُحِنَت العينتان باستعمال مطحنة كهربائية (العربي)، وزن 20 غم من كلا النموذجين واتبعت طريقة الاستخلاص السابقة نفسها للقلوانات وكشف عنها باستعمال الكواشف الكيميائية وقدرت نسبتها في كل من القشرة واللب .

حيوانات التجربة Experimental Animals :

استعملت في هذه التجربه الجرذان المختبرية (Albinus rats) التي حُصِلَ عليها من البيت الحيواني التابع لكلية الطب / جامعة الكوفة . نُقلت الحيوانات إلى البيت الحيواني في كلية العلوم / جامعة الكوفة ووضعت في أقفاص بلاستيكية بأبعاد (38 × 20 × 18سم) وفرشت أرضية الأقفاص بالنشارة مع مراعاة تبديلها بين حين وأخر . أعطيت الحيوانات الماء والغذاء المعد بطريقة مخصوصة للحيوانات والمكون من طحين 50 % وبروتين حيواني15 % وفول الصويا 6 % ونخالة الطحين25 % ودهن نباتي2 % وحليب مجفف2 % ومعادن وفيتامينات بالطريقة التي اتبعها (9) .

بلغ عدد الحيوانات في هذه الدراسة 88 حيوانا ذكرا وزعت بواقع 48 حيوانا و40 حيوانا ذكرا لكل من تجربه المستخلص الخام والمستخلص القلواني ,على التوالي

طريقة التجريع وحساب التراكيز :

أعطيت الحيوانات الجرع عن طريق الفم باستعمال أنبوب معدني مغطى بأنبوب مطاطي معد لهذا الغرض . أما التراكيز المستعملة فقد حسبت على وفق معادلة التخفيف الآتية

$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ كما في الطريقة التي اتبعها(10)

حيث إن :C_1 : تركيز المحلول القياسي stock المحضر .

V_1 : الحجم الذي يؤخذ من المحلول القياسي لتحضير التركيز المطلوب .

C_2 : التركيز المراد تحضيره .

V_2 : الحجم المراد تحضيره من التركيز C_2

حساب التراكيز :

أذيب 2 غم من المستخلص الخام لدرنات البطاطا والمستخلص القلواني كل على حدة في 10 مل من محلول مكون من 7مل محلول ملحي Normal saline و 2مل ايثانول تركيزه99% و 1مل حامض الخليك الثلجي ، فأصبح لدينا محلول أولي Stock تركيزه 200 ملغم / مل ومنه حضرت التراكيز المطلوبة في التجارب مع الأخذ بنظر الاعتبار معدل أوزان الحيوانات في كل تجربة .

ففي تجربتي LD_{50} لمستخلصي درنات البطاطا الخام والقلواني كان معدل أوزان الحيوانات هو 200 غم

حددت الجرعة القاتلة لنصف العدد LD_{50} طبقاً لمعادلة(Behrens and Karber 1953)(11)

$$LD_{50} = \text{الجرعة الأعلى} - \frac{\Sigma a \times b}{n}$$

إذ إن :a : الفرق بين الجرعتين في مجموعتين متتاليتين .

b : معدل عدد الحيوانات النافقة في مجموعتين متتاليتين .

n : عدد الحيوانات في كل مجموعة .

تحديد الجرعة القاتلة لنصف العدد LD_{50}بالتجريع الفموي لمستخلص درنات البطاطا الخام والقلواني

بلغ عدد الحيوانات المستعملة في هاتين التجربتين 88 حيوانا وبمعدل وزن 200 غم للحيوان الواحد وزعت الحيوانات ال 48 إلى ست مجاميع وهي T1, T2, T3, T4, T5 , T6 ولكل مجموعة ثمانية حيوانات وجرعت بالتراكيز المعدة مسبقاً وبجرعة واحدة مقدارها 1 مل لكل حيوان بحسب التراكيز ,,400,200، 600، 800، 1000، 1200 ملغم / كغم(لتجربه المستخلص الخام).واتبعت الطريقه نفسها بتوزيع الحيوانات الى خمس مجاميع ال 40 حيوانا (لتجربه المستخلص القلواني) ,على التوالي .

تركت الحيوانات تحت المراقبة لمدة 24 ساعة وسجلت المشاهدات العيانية Macroscopic observation وسجلت أعداد الحيوانات النافقة والحيوانات التي بقيت على قيد الحياة .

التصميم التجريبي والتحليل الاحصائي :

نفذت التجربه عامليا بتصميم تام التعشيه (CRD)Complete Randomized Design

وحللت النتائج حسب تحليل التباين واستعمل اختبار دنكن Duncun multiple range test لبيان معنوية الفروق بين المعاملات (12) وذلك باستعمال البرنامج الإحصائي spss .

النتـائج:

الكشوفات الترسيبية النوعية عن المواد الفعالة في مستخلص الكحول الاثيلي الخام لدرنات البطاطا:

تم الكشف عن طبيعة المركبات الفعالة التي يحتوي عليها المستخلص الكحولي لدرنات البطاطا صنف Bintiji وذلك من خلال إجراء كشوفات كيميائية متعددة وتبين احتواء المستخلص الخام على مركبات قلوانية وكلايكوسيدية وتانينات وفينولات كما يوضح ذلك الجدول (1).

جدول 1: نتائج الكشوفات النوعية عن المواد الفعالة في المستخلص الكحولي لدرنات البطاطا

المواد الفعالة	الكواشف	النتيجة	الملاحظات
القلوانات	Dragandroff	+	راسب برتقالي
	Mayer	+	راسب ابيض
	Wagner	+	راسب بني
	Marqus	+	ظهور عكورة
الكلايكوسيدات	Benedict	+	راسب احمر
التربينات والستيرولات	Liberman Buchard test	-	
الفينولات	كلوريد الحديديك	+	ظهور اللون الازرق المخضر
	كاشف فولن	+	ظهور اللون الازرق المخضر
التانينات	كلوريد الحديديك	+	ظهور لون ازرق مخضر
	خلات الرصاص	+	ظهور راسب ابيض هلامي القوام
الصابونيات	كلوريد الزئبقيك	-	
	كشف الرغوة	-	
الكيومارنيات	NaOH solution + U V Light	+	ظهور اللون الازرق
الكاربوهيدرات	Phenol + Conc. H_2SO_4	+	ظهور لون احمر بني

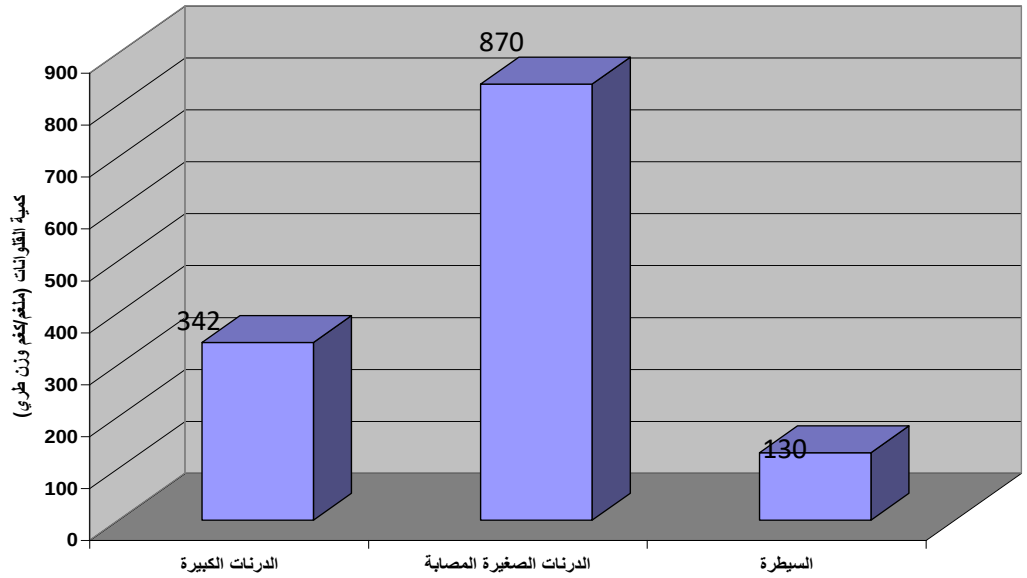
استخلاص المركبات القلوانية الكلية Total glycoalkaloid (TGA)

تم الحصول على المستخلص القلواني من المسحوق الجاف لدرنات البطاطا الكبيرة الأحجام ذات الاخضرار الجزئي وقد تبين أن المستخلص القلواني الكلي هو مادة ذات لون بني غامق لزجة القوام وبمعدل وزن قدره 342 ملغم/كغم من الوزن الطري Fresh weight وأعطت المادة المستخلصة كشفاً موجباً عند معاملتها مع كواشف القلوانات (ماركس ومايز ودراجندروف وواكز) .

التقدير الكمي للمركبات القلوانية لعينات مختلفة من الدرنات

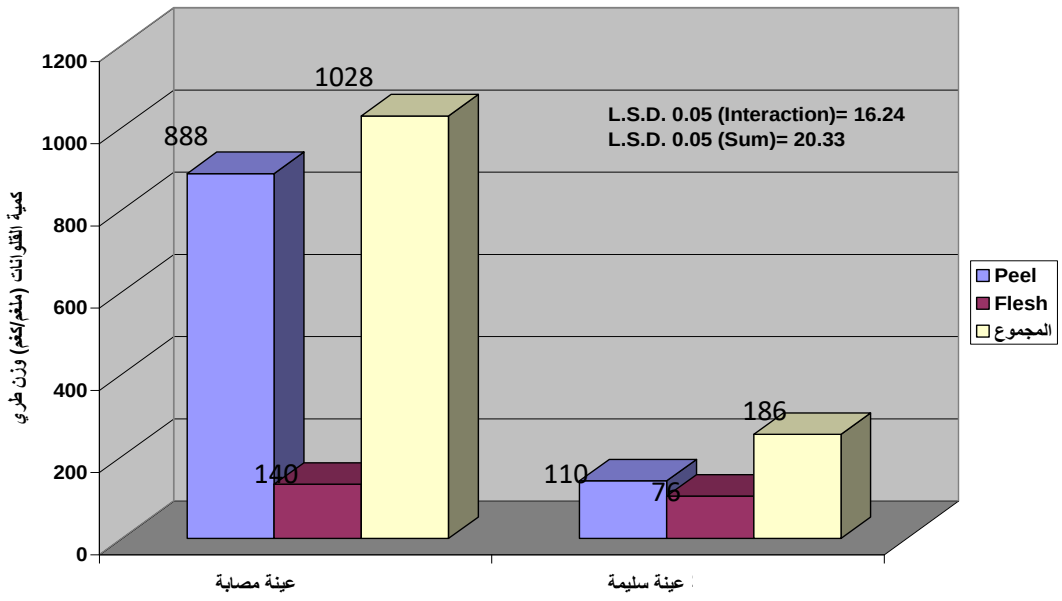
تبين من الشكل(1) ان درنات البطاطا الصغيرة الحجم والمصابة بالاخضرار الكلي ذات محتوى من القلوانات أعلى من بقية العينات إذ بلغ 870 ملغم/كغم من الوزن الطري مقارنة مع العينة المصابة بالاخضرار الجزئي وعينة السيطرة إذ بلغ 342و130 ملغم/كغم,على التوالي.

تقدير كمية القلوانات في القشرة واللب لدرنات البطاطا المدروسة



شكل (1) كمية القلوانات في ثلاث عينات مدروسة من البطاطا.

تبين من الشكل (2) أنَّ كمية القلوانات في الدرنات المصابة بالاخضرار أعلى منها في الدرنات السليمة وبفارق معنوي واضح عن العينة السليمة إذ بلغ مجموع ما في القشرة واللب فيها 1028 ملغم/كغم من الوزن الطري مقارنة مع العينة السليمة التي اعطت186 ملغم/كغم. ومن الشكل نفسه يتبين أنَّ كمية القلوانات تتركز في منطقة القشرة سواءً كانت في العينات المصابة أم السليمة إذ بلغت كميتها في القشرة للعينات المصابة 888 ملغم/كغم وبفارق معنوي مقارنة مع محتواها في اللب إذ بلغ 140 ملغم/كغم. ومن الشكل نفسه يتبين أيضا أنَّ كميه القلوانات في العينات السليمة تتركز في القشرة إذ بلغت 110 ملغم/كغم مقارنة مع كميتها في اللب إذ بلغت 76 ملغم/كغم من الوزن الطري قيد للدرنات الدراسة.



شكل (2) كمية القلوانات في القشرة واللب في عينة مصابة بالاخضرار وأخرى سليمة

تحديد الجرعات المميته لنصف عدد الحيوانات لمستخلص درنات البطاطا والمستخلص القلواني

المشاهدات العيانية Macroscopic observations

تمت مراقبة الحيوانات وسجلت بعض المشاهدات عيانيا إذ تمثلت بقلة النشاط وانتصاب الشعر وفقدان التوازن والشهية وصعوبة أو توقف حركة الأطراف الخلفية ، إذ كانت الحركة زحفاً على البطن وخصوصاً عند التراكيز العالية. وظهرت هذه الأعراض من الساعة الأولى إلى الساعة الثالثة من بداية التجريع ثم دخلت بعض الحيوانات في طور الغيبوبة عند الساعة الرابعة من التجريع. أما أول حالات الوفيات فقد شوهدت عند الساعة السادسة من بداية التجريع وفي التركيز الأعلى في كلتا التجربتين. وحصلت كل حالات النفوق للجرذان بين الساعتين السادسة والتاسعة من بداية التجريع. بعد ذلك بدأت الحيوانات المتبقية تستعيد نشاطها تباعاً مع مرور الوقت حتى نهاية الـ 24 ساعة من التجربة.

الجرعة نصف المميته لعدد الحيوانات LD_{50}

أظهرت النتائج الحالية أن قيمة الجرعة نصف المميتة LD_{50} لمستخلصي درنات البطاطا الخام والقلواني هي 850 و 575 ملغم/كغم من وزن الجسم ,على التوالي.وقد طبقت معادلة (10) لتحديد قيمة LD_{50} وكما موضح في الجدولين (2و3).

جدول 2 : الجرعة نصف المميته LD_{50} لعدد الحيوانات للمستخلص الخام لدرنات البطاطا

مستخلص خام (ملغم/كغم)	n	nd	A	B	a×b
200	8	0	0	0	0
400	8	0	0	0	0
600	8	2	200	1	200
800	8	3	200	2.5	500
1000	8	5	200	4	800
1200	8	8	200	6.5	1300

Σ a×b = 2800

حيث إن : a = الفرق بين الجرعتين في مجموعتين متتاليتين

B = معدل عدد الحيوانات النافقة في مجموعتين متتاليتين

N = عدد الحيوانات في كل مجموعة

Nd = عدد الحيوانات النافقة في كل مجموعة

LD_{50} = الجرعة الأعلى - $\frac{\Sigma a \times b}{n}$ = 1200- $\frac{2800}{8}$ = 850 ملغم/كغم من وزن الجسم

جدول 3:الجرعة نصف المميته LD_{50} لعدد الحيوانات لمستخلص القلوانات لدرنات البطاطا

المستخلص القلواني (ملغم/كغم)	N	nd	A	B	a×b
200	8	0	0	0	0
400	8	2	200	1	200
600	8	4	200	3	600
800	8	6	200	5	1000
1000	8	8	200	8	1600

LD_{50} Σ a×b = 3400

= الجرعة الأعلى - $\frac{\Sigma a \times b}{n}$ = 1000- $\frac{3400}{8}$ = 575 ملغم/كغم من وزن الجسم

المناقشه:

تشير نتائج التجربه الحالية إلى وجود تباين في كمية القلوانيات المستخلصة من درنات البطاطا في العينات المصابة بالاخضرار الكلي أو بالاخضرار الجزئي أ و السليمة حيث أن كمية القلوانيات المستخلصة من العينات المصابة بالاخضرار الكلي كانت اكبر منها في العينات المصابة بالاخضرار الجزئي والعينات السليمة (الشكلين 1 و 2) وتبين من هذه التجربة أن هناك علاقة طرديه مابين كمية القلوانيات في درنات البطاطا ومساحه الاخضرار الذي أصاب الدرنات إذ أن كلتا العمليتين تتأثران بالضوء وان كانت كل عملية مستقلة عن الأخرى من الناحية الفسلجية. (13)

أشارت النتائج أيضا إلى أن كمية القلوانيات في القشرة أعلى منها في اللب سواء كانت في العينات المصابة بالاخضرار أم السليمة و سجلت قشرة العينة المصابة أعلى معدل لكمية القلوانيات إذ بلغ 888 ملغم/كغم من الوزن الطري وبفارق معنوي عن كميتها في القشرة في العينة السليمة ، أما اقل معدل لكمية القلوانيات في درنات البطاطا فقد سجل في لب العينات غير ألمصابة بالاخضرار كما أشار إلى ذلك الشكل (2). وتبين من نتائج هذه التجربة أن كمية القلوانيات تتركز في الأجزاء السطحية من الدرنة أو ما يسمى بالقشرة وان الأجزاء الداخلية تكون ذات محتوى قليل من القلوانيات واتضح أن قشرة الدرنات المصابة بالاخضرار ذات محتوى من القلوانيات أعلى من الحد الأعلى المسموح به الذي أوصت به منظمة الزراعة والأغذية FAO الذي هو 200 ملغم/كغم من الوزن الطري للدرنات (14).

قد يعود السبب في ذلك إلى أنّ تعرض درنات البطاطا إلى الضوء أثناء نمو وتطور الدرنات وحصادها يؤدي إلى تراكم القلوانيات في درناتها ويزداد ذلك كلما طالت مدة التعرض للضوء (15) ويكون مصحوبا بتحول البلاستيدات البيض Amyloplast إلى بلاستيدات خضر Chloroplast وبذلك تتكون الطبقة الخضراء في السطح الخارجي للدرنة والأجزاء القريبة منه كما أشار إلى ذلك (16) .

ان تراكم القلوانيات وتكون الكلوروفيل في درنات البطاطا يأتي من مسار واحد وهو حامض مافالونيك Mavalonic acid بوجود مساعد الانزيم استيل كولين Acetyl co-enzyme. فقد أشار (17) إلى أن تصنيع الكلوروفيل وتراكم القلوانيات في درنات البطاطا تحدثان بالتعرض المباشر للضوء وان العمليتين تحدثان بصورة متزامنة ولكنهما مستقلتان الواحدة عن الأخرى. واختلفت نتائج التجربة الحالية عن ما وجده (18) من أن كمية القلوانيات في جزء الدرنة المعرضة للإضاءة هي نفسها في الجانب الآخر من الدرنة نفسها.

تبين من النتائج الحالية أنّ الدرنات ذات الحجوم الكبيرة تكون اقل كمية من القلوانيات من الدرنات ذات الحجوم الصغيرة (شكل1). وتتفق النتائج هذه مع ما ذكره(19), من ان درنات البطاطا الصغيرة وغير الناضجة تكون ذات محتوى من القلوانيات اكبر من الدرنات الكبيرة والناضجة. ويعود السبب في ذلك إلى أنّ نسبة القشرة Peel إلى اللب تزداد كلما صَغُرَ حجم الدرنة ولان القلوانيات تتركز في منطقة القشرة فلذلك تحتوي الدرنات الصغيرة على تركيز وكمية اكبر من القلوانيات عما هو عليه في الدرنات الكبيرة الحجم.

أما فيما يتعلق بكمية القلوانيات في أجزاء الدرنة (القشرة واللب) فقد جاءت نتائج هذه الدراسة مطابقة لما ذكره (17) فقد وجدوا أنّ كمية القلوانيات في درنات البطاطا لا تتوزع بصورة متساوية وإنما تعتمد على درجة نضوج الدرنة وحجمها والجزء المستعمل منها فضلا عن سمك قشرتها ووجود صبغات مساعدة إذ تعمل هذه الصبغات كمرشح طبيعي للضوء بحيث تؤثر على نوعية الضوء المار إلى الأجزاء الداخلية من الدرنة .

أظهرت نتائج التجربه الحالية إلى أن الكمية الأكبر من القلوانيات تتركز بصورة مباشرة في منطقة القشرة والأنسجة القريبة منها إلى عمق حوالي 1.5 ــ 3 ملم من القشرة أما المناطق الداخلية من الدرنة فكانت ذات محتوى من القلوانيات اقل بكثير عن محتواها في القشرة وهي تتفق مع بعض الدراسات السابقة إذ ذكر (20) ان القشرة تحوي على نسبة قلوانيات تصل من (30 ــ 60 ملغم/100غم)من الوزن الطري فيما تكون نسبة القلوانيات في الأجزاء الداخلية من الدرنة flesh (1.5 ــ 5 ملغم/100غم) من الوزن الطري. بينما وجد (17) ان تراكيز القلوانيات الكلي في الأجزاء الداخلية يزداد من 3.1 ــ 8.2 مرة عند ارتفاع نسبة الاخضرار في الدرنة من صفر ــ 70% من مساحة الدرنة, في حين ارتفعت كميه القلوانيات في القشرة عندما كان الاخضرار صفر من 37.3ملغم/100 غم ــ 98.2 ملغم/100غم من الوزن الجاف. وهذه اكميه في معدل ارتفاع القلوانيات في القشرة والأجزاء الطرية مشابه لما وجد في هذه التجربه ألا أنّ الاختلافات في مقادير تركيز القلوانيات قد يرجع إلى الصنف المستعمل في التجربة ومدة الخزن وطول التعرض لضوء الشمس مما يؤدي إلى ارتفاع نسبة القلوانيات ولاسيما في القشرة.(21)

يمكن القول من خلال النتائج التي أثبتتها الدراسة الحالية أن تركيز القلوانيات في درنات البطاطا الصنف بنتجي يزداد بزيادة مساحة الاخضرار في الدرنات أي انه يوازي مقدار الزيادة في كمية الكلوروفيل وان هذه الزيادة تتركز بصورة رئيسة في الأجزاء الخارجية من الدرنة (القشرة) أما الأجزاء الداخلية من الدرنة (اللب) فإنها وان أزداد فيها تركيز القلوانيات إلا إنها بقيت تحت الخط الآمن للاستهلاك البشري.

ان النتائج التي اشير اليها في الجدولين (2 و 3) ووفقاً لمخطط السمية وجدول السمية الذي ذكره (10) تعد قلوانيات البطاطا من المواد ضعيفة السمية في القوارض . (إذ تعد المادة ضعيفة السمية إذا كانت قيمة LD_{50} لها ما بين 0.5 ــ 5 غم/كغم من وزن الجسم). ويمكن تحديد الجرعة تحت الحادة والجرعة العلاجية إذ أن الجرعة العلاجية تكون عادة بين (0.01 –0.1) من قيمة LD_{50} (8).

لقد اختلفت قيم LD_{50} لقلوانيات البطاطا بين دراسة وأخرى ، فقد ذكر (20)أن قيمة LD_{50} للسولانين بالتجريع الفموي بلغت 590 ملغم/كغم من وزن الجرذان بينما بلغت 75 ملغم/كغم عند الحقن تحت غشاء البريتون بينما تصل قيمة LD_{50} في الفئران إلى 32.3 ملغم/كغم عند الحقن تحت غشاء البريتون ، أما قيمتها عند التجريع الفموي فقد تصل إلى أكثر من 1000 ملغم/كغم من وزن الحيوان. وذكر (23) أن قيمة LD_{50} للإنسان هي2–5 ملغم/كغم من وزن الجسم وان الجرعة القاتلة هي 3– 6 ملغم/كغم من وزن الجسم.

أن الاختلاف في قيم الجرعة نصف القاتلة لعدد الحيوانات قد يرجع الى الاختلاف في طريقة التجريع أو نوع الحيوان المجرع أو السلالة أو الفروقات الفردية للحيوانات أو التأثيرات البيئية أو اختلاف في طريقة استخلاص القلوانيات أو طريقة إذابة المادة المستخلصة.(24). وتجدر ألإشارة إلى أن قيمة الجرعة نصف المميتة للقوارض هي أعلى منها بكثير عند الإنسان إذ تبلغ 300– 500 ضعف قيمتها عند الانسان (20)

إنّ آلية السمية عند تجريع الحيوانات بمستخلص القلوانيات يرجع إلى سببين رئيسين الأول هو تثبيط عمل انزيمي الكولين استيريز Cholinesterase وهما استيل كولين استيريز Acetylcholinestrase والبيوترايل كولين استيريز Butyrylcholinestrase اللذان يعملان على تحفيز عمل الناقل العصبي استيل كولين Acetylcholine في مناطق التشابكات العصبية Synapses في الجهاز العصبي المركزي أو بين الأعصاب والعضلات (25) وربما يعمل على توقف عضلات التنفس مما يؤدي إلى الاختناق والموت. ومن جانب آخر فان الجزء غير السكري في القلوانيات Aglycon وهو السولاندين Solanidine لا يثبط عمل إنزيم الكولين استيريز لأنه لا يحتوي على المواقع التنافسية الفعالة لتنافس الإنزيم على مادته الأساس (26). أما السبب الثاني فهو تمزيق الخلايا بسبب تكوين معقدات مع أغشية هذه الخلايا (26). ان هذا الفعل يعود إلى الجزء غير السكري Aglycon إذ يتداخل مع الغشاء البلازمي ثنائي الطبقة ويتحد مع جزئيات الستيرول الموجوده في الأغشية وذلك يؤدي إلى إعادة تنظيم الغشاء البلازمي بشكل مختلف والذي يعمل على تخريب الهيكل التركيبي للغشاء الخلوي وخروج المحتويات الخلوية ويحدث ذلك خاصة من المركب القلواني الفا- جاكونين α-chaconine (25)،كما انه يكون أكثر سمية من قلوان السولانين وأكثر تأثيراً في عملية تمزيق الأغشية الخلوية في جدران الأوعية الدموية الشعرية لأنسجة الأعضاء الهدف مما يؤدي إلى حدوث نزيف في أنسجة تلك الأعضاء ولكن وجود القلوانان السولانين والجاكونين معا يكون تأثيرهما تآزرياً Synergetic effect (26).

يمكن القول من خلال النتائج الحالية أن تركيز القلوانيات في درنات البطاطا الصنف بنتجي يزداد بزيادة مساحة الاخضرار في الدرنات, وان هذه الزيادة تتركز بصورة رئيسة في الأجزاء الخارجية من الدرنة (القشرة), أما الأجزاء الداخلية من الدرنة (اللب) فإنها وان أزداد فيها تركيز القلوانيات إلا إنها تحت الخط الآمن للاستهلاك البشري.وان لقلوانيات البطاطا تأثيرات سميه.

المصادر

1.Geoffrey A. C.(2006) . The Alkaloid Vol. 64, pp 1-3 , Elsevier Inc. University of Illinois at Chicago.USA.

2.Hesse, M. (1981). Alkaloid Chemistry. New York: John Wiley and Sons

3.Wink, M. (1998). Chemical Ecology of Alkaloids , In : Ropert, M. F. ,Wink (M ds) Alkaloid : Biochemistry, Ecology and Medecinal application Plenum Press, New York, pp. 265-299

4.Roddick, J.G. (1996). Steroidal glycoalkaloid : Nature and consequences of bioactivity. In :Waller, g.r. Yamasaki, k.eds. saponine used in traditional and modern medicine, American Chemical Society Plenum Press, new York, pp. 277-295.

• 5.مطلوب ، عدنان ناصر ، عز الدين سلطان محمد و كريم صالح عبدول (1980) .إنتاج الخضروات ، الجزء الثاني / الطبعة الثانية ، جامعة الموصل.

6.Everard, J. E. and Andrew, H.C. (1996) . Improved high performance liquid chromatography method for the analysis of potato(*Solanum tuberosum*) Glycoalkaloid. J. Agric. Food Chem., 44 :2705-2709.

7.Harborne, J. B. (1984). Physiochemical Methods, a guide to modern techniques of plant analysis, 2nd Ed. Chapman and Hall. London, New York. 288p.

• 8.الاسماعيل ، وفيق ناصر حسن (2009). عزل وتشخيص بعض المركبات الفعالة من النبات الطبي عنب الذيب *Solanum nigrum* L. ودراسة تأثيرها في بعض الأعضاء الحيوية للجرذان المختبرية *Ratus noruigicus* . رسالة ماجستير ، كلية العلوم - جامعة البصرة .

• 9.AL-Fartosi, K. K. (2004). Physiological studies of the effects of benzene in laboratory mice and Humans, Ph. D. Thesis, College of Education University of Basrah.

10.محمود ، رنا إبراهيم (2008)، تأثير المستخلص الكحولي لبذور الحلبة في الكبد وكلى ومستوى هرمون البرولاكتين والهرمون اللوتيني في ذكور الأرانب . رسالة ماجستير، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

11.Behrens, S. and Karber, J. (1953). Determination of LD_{50}. Arch. For Experienta. Pathol.Pharmacol.,3:177-372.

- 12.الراوي ، خاشع محمود وخلف الله ، عبد العزيز محمد (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل .

13.Pia, H. J. (2008). Analysis and fate of toxic Glycoalkaloid from *Solanum tuberosum* in the terrestrial environment. Ph. D. Thesis . Faculty of life Sciences, University of Copenhagen.

14.Food and Agricultural Organization(FAO), (1993). Production Statistics: Vol. 47.

15.Gull, D.D. and Isenberg, F.M. (1960). Chlorophyll and Solanine content and distribution in four varieties of potato tubers. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 75: 545-556.

16.Dale, M. F. ; Griffiths, D. W.; Bain, H. and Todd, D. (1993). Glycoalkaloid increase in *Solanum tuberosum* on exposure to light. Annals of Applied Biology., 123: 411-418.

17.Laura, A. G.; Lisa O. K.; Larry K. H. and Knawels N. R. (2006). Glycoalkaloid development during greening of fresh market potatoes (*Solanum tuberosum* L) J. Agric. Food Chem., 54:5847-5854.

18.Everard, J. E. (1997) .The Accumulation of Chlorophylls and Glycoalkaloid in stored tubers. Ph. D. Thesis. Nottingham University. England.

19.Friedman, M. and McDonald, G. M. (1997). Potato glycoalkaloid : Chemistry, analysis, safety, and plant physiology. Crit. Rev. Plant Sci. , 16 :55-132.

20.Kuiper-Goodman, T. and Nawrot P.S. (1990). Solanine and Chaconine. Bureau of Chemical Safety,Health and Welfare. Canada.

21.Courtney , L. P. ; Robert, K. D. ; Jamess, E. G.; Qing, H. and David, K. W. (2008). Glycoalkaloid responses of potato to Colorado potato beetle defoliation. Elsevier Food and Chemical Toxicology., 46: 2832-2836.

22.Klassen, C.D. and Doull, J.S. (1980). Evolution of Safety: Toxicological evolution.In:Casarett and Dolls toxicology.The Basic Science of Poisonous 2nd Ed. MacMillan Publishing Co. Inc., New York, USA.

23.Morris, S.C. and Lee, T.H. (1984). The toxicity and teratogenicity of solanaceae glycoalkaloids, particularly those of potato (*Solanum tuberosum*): A review. Food Technology in Australia., 36: 118-124.

24.Widmann, N.; Goian, M.; Ianculo, I.; Dumbrava, D. and Moldovan, C. (2008). Determination of glycoalkaloids content from potato tubercloues (*Solanum tuberosum* L.). Faculty of Agriculture, Timisoara. Romania , 41: 807-813

25.Roddick, J.G. (1989). The acetylcholinesterase inhibitory activity of steroidal glycoalkaoids and their aglycones. Phytochemistry, 28: 2631-2634.

26.Friedman. M. (2006). Potato glycoalkaloids and metabolites: Role in the plant and in the diet. J. Agric. Food Chem. , 54:8655-8681.