

دراسة تصنيفية وتشخيصية لبعض الفينولات في عدد من الأنواع النباتية النامية في منطقة أتروش في شمال العراق باستخدام تقنية السائل عالي الأداء HPLC

طلال طه علي التكريتي⁽¹⁾ يونس محمد قاسم الألوسي⁽²⁾ أدبية يونس شريف النعمان⁽³⁾
(1) وزارة الزراعة / الشركة العامة للبستنة والغابات.
(2) قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل.
(3) قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل.

E-mail: Shareefadeeba@yahoo.com

الخلاصة

أجريت الدراسة في مختبرات كلية الزراعة والغابات لفصل وتشخيص المركبات الفينولية لعشرة أنواع نباتية لاستخدامها في التصنيف النباتي إذ تم الحصول على المستخلص الخام الخالي من الدهون بطريقة الاستخلاص التعاقبي بجهاز السوكسلت باستخدام مذيب (الأيثر البترولي والأيثانول) كمذيبات واستعملت تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء HPLC في تشخيص هذه المركبات. وأظهرت النتائج فصل 8 مركبات فينولية وهي (Hydroquinone, Rutin, Cinnamic acid, Quercetin, Gallic acid, Coumarin, Salicylic acid, Thymol Fabaceae). وأظهرت النتائج وجود اختلافات عديدة في أنواع وعدد ونسب المركبات الفينولية بين الأنواع وكان مركب الساليسليك الأكثر تواجدا في أنواع العائلة البقولية Fabaceae (*Trifolium purpureum, T. campestre, T. palaestina*) وتم فصل أربعة مركبات كلايكوسيدية مهمة ضمن أنواع العائلة المركبة Asteraceae (*Centaurea solstitialis, وCentaurea pallascens*) و (*Centaurea calcitrapa*) في حين اختلفت حسب الأنواع وأهمها (Quercetin, Cinnamic acid) أما بالنسبة للعائلة الزانية Fagaceae فأظهرت النتائج وجود أربعة مركبات فينولية في بلوط العفص *Q. infectoria* شخص واحد منها وهو الـ Rutin وبقية الأنواع الأخرى كلايكوسيدات مجهولة أما البلوط العادي *Quercus aegilops* فتضمن وجود مركبين كيميائيين وهما Quercetin و Salicylic acid ، وهذه الاختلافات بين الأنواع النباتية في المحتوى الكيميائي خير دليل على إمكانية اعتمادها كمؤشر تصنيفي مهم.

الكلمات المفتاحية: التشخيص النباتي، الأنواع النباتية، الاستخلاص التعاقبي، المركبات الفينولية.

تاريخ تسلّم البحث: 2012/10/21 ، وقبوله: 2013/2/18.

المقدمة

يشمل التصنيف الكيميائي Chemotaxonomy تصنيف النباتات اعتمادا على طبيعة المركبات الكيميائية التي تحتويها الخلايا والأنسجة النباتية. تعد المركبات والمستخلصات الكيميائية أدلة تصنيفية مهمة للتمييز بين الأنواع النباتية الصعبة التشخيص ومؤشرا جيدا للعلاقات بين المراتب التصنيفية المختلفة وهي جزء مكمل ورئيسي للدراسات التصنيفية المختلفة، إذ تنفرد أجناس وأنواع معينة بوجود أنواع من المركبات الكيميائية كالفينولات والتانينات والحوامض الدهنية والتربينات والدهون والكربوهيدرات والبروتينات وغيرها وإن الخصائص الكيميائية للمنتجات الثانوية في النبات تعد مؤشرا للعلاقات التصنيفية بين المراتب التصنيفية المختلفة أكثر من المظهرية وتظهر ارتباطا عاليا مع الصفات الأخرى وتكون على جانب من الأهمية في رسم العلاقات الواسعة بين المراتب التصنيفية المختلفة ولكن لا يمكن اعتمادها دليلا تصنيفيا جيدا بعيدا عن الأدلة الأخرى (Heywood وDavis، 1973) وأكد Samuel و Luchsinger (1983) استخدام الفلافونويدات المهمة في التصنيف الكيميائي لوجودها المطلق في جميع النباتات الرأقية تقريبا وسهولة فصلها وتشخيصها مهما كانت كميتها قليلة، كما أن ثبوتها الكيميائي أسهم في اعتمادها كمؤشرات تصنيفية مهمة وتمكن Davis وآخرون (1973) من تشخيص المركبات الفينولية من أوراق ثمانية عشر صنفا من أصناف الزيتون باستخدام تقنيتي TLC وHPLC. وذكر Grazier وآخرون (2006) إن العديد من المستخلصات الكيميائية التي تنفرد بها أنواع

البحث مسئل من أطروحة دكتوراه للباحث الأول.

نباتية معينة اعتمدت كأساس تصنيفي في الدراسات الكيميائية ألتصنيفية الحديثة. وشخص المفتي (2006) عددا من المركبات الفينولية شكلت التانينات الجزء الأكبر منها في قلف بلوط الأكل *Quercus aegilops* في المستخلص الايثانولي لهذا النبات ومن هذه المركبات (Afzelechin Gallocatechin, Phloroglucinol,) (Elagic acid, Gallic acid)، كما شخص Niina وآخرون (2009) المركبات الفينولية في أوراق نبات (*Trifolium pratense*) بتقنية HPLC والذي يعد من النباتات الطبية المهمة في العالم إذ شخص 33 نوعا من المركبات الفينولية والتي أثبتت دورها كمواد مضادة للأوكسدة كما شخص عدد من الفلافونوات المتفرعة والعادية، ومن هذه المركبات (biochanin A. glycoside malonate. formononet and quercetin). وتمكن المنديل (2010) من تصنيف بعض الأنواع ألتانينية في جنس Potamogeton بطريقة التصنيف الكيميائي بالاعتماد على المركبات الكيميائية في المستخلصات ألتانينية التي حصل عليها بتقنية HPLC وطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وسجل نوعا جديدا في العراق باسمه إذ تمكن من فصل أربعة أنواع من الأحماض العضوية المختلفة بين الأنواع وهي (حامض التارتاريك، المالك، ألمالك وفيوماريك) مع فيتامينات وصبغات مختلفة استخدمها في التمييز بين الأنواع النباتية في تصنيف أفراد هذا الجنس، ودرس Saviranta وآخرون (2010) المركبات الفينولية الموجودة في نبات النفل نوع *Trifolium pratense L.* إذ تمكن من تشخيص 28 نوعا من المركبات الفينولية بتقنية HPLC وأثبت وجود مركبات فينولية لها تأثير ايجابي في التقليل من الأضرار الناجمة عن نشاط الأوزون على الحيوان والإنسان، وقام Noor وآخرون (2010) بدراسة المكونات الكيميائية كمنتجات طبيعية لثمار ثلاثة أنواع من أشجار البلوط (*Quercus lebanis, Quercus aegilops, Q. infectoria*) في محافظة السليمانية باستخدام تقنية HPLC وشملت معظم المركبات (التانينات، فلافينات، قلويدات، كلايكوسيدات، الصابونيات، التربينات) كما قام بتقدير نسب الفينولات بطريقة (Folin –cioculate) و أظهرت النتائج تفوق نوع البلوط *Q. infectoria* في تركيز حامض ايلاجيك فيما احتوت ثمار النوع *Q. libani* على تركيز أقل كما درس التكاوي (2012) المكونات الكيميائية الثانوية في أشجار السبج باستخدام الاستخلاص التعاقبي بواسطة جهاز السوكسليت باستخدام خمسة مذيبات مختلفة وقام بإجراء عملية تحلل حامضي للمستخلص الخام واستخدم تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC للكشف النوعي وتقنية HPLC لتشخيص أنواع المركبات الفينولية ومن المركبات المهمة التي تم تشخيصها (Kampferol, Apigenin, Luteolin, Quercetin, Salicylic acid, Gallic acid) ودرست الهاشمي (2012) المركبات الكيميائية للزيت في نوعين من النعناع، هما الفلفلي *Mentha spicata* والأخضر *Mentha piperita* حيث استخدمت تقنيات (كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC وتقنية كروماتوغرافيا السائل-الغازي (GLC) وكروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) حيث استخدمت جهاز السوكسليت لاستخلاص عدد من المركبات الفينولية وتشخيصها ومن هذه المركبات (حامض الساليسلسك والفانيلين وباراهيدروكسي حامض البنزويك وحامض الكاليك والريسورسينول والفينول والكورستين) وأظهرت الدراسة وجود اختلافات معنوية في تراكيز الزيت باختلاف فترات النمو.

مواد البحث وطرائقه

1-الموقع: أجريت هذه الدراسة في مختبرات كلية الزراعة والغابات وجمعت العينات في ربيع عام 2011 عند إجراء المسح النباتي من منطقة أتروش (جبل وادي قبر) ويقع هذا الجبل إلى الشمال من مدينة الموصل بـ70 كم بالقرب من منطقة أتروش على خط عرض 36. 45° شمالا وخط طول 43. 19° شرقا ويتراوح ارتفاع المنطقة التي جمعت منها العينات النباتية بين (530- 1100 م عن مستوى سطح البحر).

2- الدراسة التصنيفية الكيميائية: تحتوي الأنسجة النباتية على العديد من المركبات الفينولية والتي يوصف بعضها بأنه من موانع الأوكسدة Antioxidants ومنها الفلافينويدات (Malencic وآخرون، 2007)، والتي توجد إما بصورة حرة أو على شكل كلايكوسيدات من خلال اتحادها مع وحدات سكرية مثل الكلوكوز أو التانينات (الحمداني ومقداد، 1990)، لذا تم اللجوء لعملية التحلل الحامضي بعد الحصول على مستخلص الايثانول ل فك الارتباط من اجل تشخيص فينولات حرة يمكن اعتمادها في التمييز بين الأنواع النباتية ضمن الجنس الواحد عند تطبيق تقنية HPLC. ونظرا لأهمية الفينولات في التشخيص والتصنيف النباتي فأنا ارتأينا استخدامها كدلائل تصنيفية بين أنواع الجنس الواحد. وتم فرز الأنواع ألتانينية عن بعضها البعض وتشخيصها وتصنيفها بالاعتماد على كتب الفلورا العراقية Guest وآخرون (1966)، Reader، (1969)، الراوي (1988)، الكاتب (2000) وعلي وآخرون (2010) ومعشب كلية العلوم – جامعة الموصل إضافة إلى خبرة الباحثين.

تم اختيار 10 أنواع نباتية مشخصة تعود إلى ثلاثة عوائل وأربعة أجناس من الحشائش والأعشاب والأشجار والشجيرات وكانت الأنواع كما يأتي:

أ- الحشائش والأعشاب: تم اختيار عائلتين هما المركبة Asteraceae متمثلة بجنسين هما (*Lactuca* و *Centaurea*)، حيث تضمن جنس ال *Centaurea* ثلاثة أنواع وهي: (*Centaurea pallascens*، و *Centaurea solstitialis*، و *Centaurea calcitrapa*) في حين تضمن جنس الخس البري *Lactuca* نوعان (*Lactuca orientalis*، *L. scariola*)، أما العائلة البقولية Fabaceae فتضمنت جنسا واحدا هو *Trifolium* وشمل ثلاثة أنواع (*Trifolium purpureum*، *T. campestre*، *T. palaestina*)

ب- الأشجار والشجيرات: تم اختيار العائلة الزانية Fagaceae المتمثلة بجنس البلوط *Quercus* والذي شمل نوعان *Quercus aegilops* و *Q. infectoria* والجدول (1) يبين هذه الأنواع وأرقامها.

1- تشخيص المركبات الفينولية في العينات النباتية

Identification of phenolic compounds in plant samples

تم إتباع تقنية HPLC في عملية فصل وتشخيص بعض المركبات الفينولية وبالاعتماد على طريقة (Harborn ، 1973) وكما يلي:

1- تحضير المستخلص الكحولي: تمت عملية تحضير المستخلص الكحولي باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet.

1- تم نقل 10 غم وزن جاف من كل عينة نباتية إلى جهاز الاستخلاص الـ Soxhlet.

2- أضيف إليها 150 سم³ من المذيب Petroleum ether.

3- تم ربط جميع أجزاء الجهاز وتشغيله ولمدة 7 ساعات.

4- تم وضع المادة المستخلصة في قنينة زجاجية وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

5- تم إعادة العينة النباتية إلى جهاز الـ Soxhlet مع إضافة 150 سم³ من الأيثانول.

6- تم تشغيل الجهاز لمدة 7 ساعات أخرى.

7- ركزت المادة المستخلصة بوضعها في جهاز المبخر الدوار إلى أن أصبح حجم المادة المتبقية 25 مل والذي أصبح جاهزا لعملية الاختبار بتقنية HPLC بعد إجراء عملية التحلل الحامضي.

8- لاحتمالية وجود الفينولات وبشكل كلايكوسيدات مرتبطة ولغرض الحصول على الفينولات الحرة أجريت عملية التحلل الحامضي (Acid hydrolysis) للمستخلص الأيثانولي الخام للمادة المستخلصة حيث تم فصل المركبات السكرية عن الغير السكرية وان هذه العملية أجريت استنادا إلى Harborne (1973) وكما يلي:

2- عملية التحلل الحامضي Acid hydrolysis:

- نقل 5 مل من المستخلص الكحولي الخام وبدون راسب إلى بيكر في حمام مائي وأضيف إليه 50 سم³ من حامض الهيدروكلوريك 1 عياري .

- سخنت محتويات البيكر لدرجة حرارة 90 مئوية ولمدة ساعة.

- برد المحلول ثم رشح للتخلص من الرواسب.

- نقل الراشح الى قمع فصل اذ تم اضافة 15مل من خلات الأثيل ولمرتين.

3- تحضير المركبات القياسية: تم تحضير اثنا عشر مركبا تم الحصول عليها من مخازن متعددة ومن القطاع الخاص ومن مختبرات كلية العلوم وكلية التربية وكلية الطب البيطري حيث تم إذابة 0.1غم / 10 مل من كل منها في 10 مل من الايثانول وتم ترشيحها Robbert وآخرون (2000) وبذلك استخدمت كمركبات قياسية لتقنية HPLC.

4- التشخيص باستخدام كروماتوغرافيا السائل للأداء العالي

Identification by using High performance Liquid Chromatography (HPLC)

تم استخدام 10 مستخلصات كحولية مثلت عشرة عينات نباتية ولعوائل وأجناس وأنواع مختلفة والمبينة في جدول (1). وأجريت العملية كما يلي:

1- تم حقن 3 μ مايكروليتر من (المحاليل القياسية للمركبات التي تم تحضيرها سابقا) بجهاز HPLC المجهز من شركة Shimadzo اليابانية نوع LC2010HT باستخدام عمود الفصل SUPELCOSILTM Column LC18 وذو أبعاد 5 μ 4.6mm \times 15cm. يتكون محلول الفصل من ماء: إيثانول 60:40 وان الفصل تم عند درجة حرارة 35م وضغط 3.5-3.7 ميكاباسكال، والجدول (2) يبين زمن الاحتباس للمحاليل القياسية.

2- تم حقن 3 μ مايكروليتر من المستخلص النباتي لكل عينة في جهاز HPLC لغرض الكشف عن المركبات المتوقع ظهورها، واستخدم الطور الناقل (اسيتونتريل: ماء) بنسبة (90:10) وبسرعة جريان 1.3 مل/ دقيقة وكشف عن الاستجابات الكروماتوغرافية عند طول موجي (320) نانومتر (الجبروري، 2007)

النتائج والمناقشة

أسفرت عملية الكشف الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء HPLC الأداء عن فصل للمركبات وذلك برسم منحنيات قياسية وقم لكل مركب مقرونا بزمن الاحتباس الخاص به كما ونوعا وتم الاعتماد على التشخيص النوعي لأنه مهم من الناحية التصنيفية وكما موضح في الجدول (3) والذي يبين المركبات التي شخّصت اعتمادا على زمن الاحتباس للمركبات الكيميائية المختلفة وجدول (4) الذي يبين زمن الاحتباس للمركبات الموجودة في المستخلص الكحولي للعينات النباتية بالاعتماد أيضا على قيم زمن الاحتباس للمركبات القياسية في الجدول (2) لمطابقتها مع قيم الاحتباس للمركبات التي فصلت من المستخلصات قيد الدراسة، حيث يبين الجدول (3) تواجد المركبات القياسية في المستخلص الأيثانولي للأصناف النباتية وتبين الأشكال من (1-12) منحنيات المركبات القياسية التي تم تحضيرها مختبريا في حين تبين الأشكال من (13-22) منحنيات المركبات الفينولية المشخصة للأصناف النباتية المدروسة مقرونة بزمن الاحتباس للمركبات المفصولة بهذه التقنية. بلغ عدد المركبات التي شخّصت باستخدام هذه التقنية (8) مركبات من المستخلص الأيثانولي الخام واستنادا للمركبات القياسية التي تم تحضيرها في حين لم يتم تشخيص المركبات الأخرى المفصولة لعدم وجود مركبات قياسية ويبين الجدول (2) المركبات القياسية التي تم تحضيرها مختبريا وزمن الاحتباس لكل منها وكانت النتائج كما يلي:

1- الحشائش والأعشاب: يوضح الجدول (3) وجود اختلافات بين المركبات الفينولية ضمن الجنس وبين الأنواع مع اشتراك بعض الأنواع النباتية ضمن الجنس الواحد في مركب أو مركبين أحيانا وكان مركب حامض الساليسليك الأكثر تواجدا في العائلة البقولية Fabaceae والمتمثلة بجنس *Trifolium*. بالنسبة للعائلة المركبة فقد احتوى النوع *Lactuca orientalis*، على ثلاثة مركبات وتم تشخيص اثنان هما (Hydroquinon و Salicylic acid) أما النوع *L. scariola* فقد احتوى على سبعة مركبات تم تشخيص ثلاثة منها وهي (Cinnamic acid، Quercetin، Coumarin)، أما الجنس الثاني لهذه العائلة المتمثل بجنس *Centaurea* فقد احتوى النوع *Centaurea pallascens*، على ستة مركبات فينولية وتم تشخيص أربعة منها وهي (Quercetin، Salicylic acid، Cinnamic acid، Hydroquinon)، أما النوع *Centaurea solstitialis* فاحتوى على أربعة أنواع من المركبات الفينولية وتم تشخيصها جميعا وهي (Thymol، Salicylic acid، Cinnamic acid، Quercetin) أما النوع الثالث *calcitrapa Centaurea* فاحتوى على سبعة أنواع من المركبات الفينولية وتم تشخيص ثلاثة منها وهي (Salicylic acid، Hydroquinon، Thymol) واشتركت الأنواع الثلاثة في مركبات في حين لم تشخص مركبات أخرى بسبب عدم الحصول على المركبات القياسية، أما العائلة البقولية فكان لها أيضا دورا في التصنيف الكيميائي متمثلة بجنس النفل *Trifolium* واحتوى جنس النفل على أنواع مختلفة من المركبات الفينولية باختلاف الأنواع والأنواع هي: (*Trifolium purpureum*، *T. campestre*، *T. palaestina*) وأظهرت النتائج وجود خمسة مركبات في النوع *Trifolium purpureum* تم تشخيص ثلاثة منها وهي: (Salicylic acid، Hydroquinon، Gallic acid) في حين لم يتم تشخيص بقية المركبات لعدم وجود مركبات قياسية (ستاندرات)، أما النوع *T. campestre* فأظهرت النتائج وجود ثلاثة مركبات تم تشخيصها

جميعا وهي (Thymol ، Quercetin ،Salicylic acid)، أما النوع *T. palaestina* لجنس النفل فاحتوى على نوعين من المركبات الفينولية تم تشخيصها جميعا وهي (Quercetin ،Salicylic acid) وبهذا يكون المركب Salicylic acid مشترك بين الأنواع الثلاثة للجنس أي صفة مميزة للجنس ومن هنا فأنا نجد الاختلافات داخل الجنس بين الأنواع والذي يعد مؤشرا تصنيفيا مهما للتمييز بين الأنواع والجدول (4) يبين قيم معدل (Rt) للمركبات الموجودة في كل نوع، وهذا يتفق مع ما توصل إليه كل من الباحثين Samuel و Luchsinger (1978) ، إحسان (1985)، المشهداني (1992)، المعاضيدي والرمضاني (2006)، Niina وآخرون (2009) ، Noor وآخرون (2010) والهاشمي (2012) والذين اثبتوا وجود عددا من المركبات الفينولية في بعض الأنواع وعدم وجودها في أنواع أخرى إضافة إلى أهمية هذه النباتات طبيا نتيجة احتواءها على هذه المركبات.

2- الأشجار والشجيرات: بالنسبة للعائلة الزانية Fagaceae أظهرت النتائج احتواء البلوط *Quercus infectoria* على أربعة مركبات فينولية شخص واحد منها وهو ال Rutin وبقية الأنواع الأخرى كلايكوسيدات مجهولة علما أن هذا النوع لم تجري عليه عملية تحلل حامضي للكشف عن مركب ال Rutin لأن هذا المركب يكشف عنه بدون عملية التحلل ألامضي، أما النوع الثاني من البلوط *Q. aegilops* فتضمن وجود مركبين كيميائيين تم تشخيصهما (Salicylic acid, Quercetin)، ومن خلال النتائج ظهرت لدينا قيم كثيرة لمعدل زمن الاحتباس حيث فصلت المركبات وذلك برسم منحنيات قياسية لكل مركب مقرونا بزمن الاحتباس الخاص به ولكن عدم توفر المركبات القياسية حال دون تشخيصها. إن هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه العديد من الباحثين مثل Robbert (2000)، Niina وآخرون (2009) و Noor وآخرون (2010) والهاشمي (2012) والذين اثبتوا وجود عددا من المركبات الفينولية إضافة إلى أهمية هذه النباتات طبيا نتيجة احتواءها على المركبات الفينولية.

الجدول (1): يبين الأنواع النباتية التي تم تشخيص مركباتها باستخدام تقنية HPLC .

Table (1): explain the plants species identified their crude by using HPLC technique .

التسلسل Number	الأنواع النباتية Species
1	<i>Lactuca orientalis</i>
2	<i>Lactuca scariola</i>
3	<i>Centaurea pallascens</i>
4	<i>Centaurea solstitialis</i>
5	<i>Centaurea calcitrapa</i>
6	<i>Trifolium purpurium</i>
7	<i>Trifolium campestre</i>
8	<i>Trifolium palaestina</i>
9	<i>Quercus infectoria</i>
10	<i>Quercus aegilops</i>

الجدول (2): يمثل زمن الاحتباس للمركبات القياسية التي تم تحضيرها مختبريا وتطبيق تقنية HPLC عليها.
Table (2): Retention time for standard compounds prepare in laboratory and application HPLC technique

زمن الاحتباس Retention time	المركبات القياسية Standards compounds	تسلسل النوع Number
1.719	Coumarrin	1
1.706	P- Hydroxy benzoic acid	2
1.630	Phenol	3
1.647	Resorcinol	4
1.548	Gallic acid	5
1.485	Quercetin	6
1.562	Cinnamic acid	7
1.439	Hydroquinone	8
1.379	Rutin	9
1.566	Vanillin	10
1.2	Salicylic acid	11
1.8	Thymol	12

الجدول (3): يبين تواجد المركبات القياسية في الأنواع النباتية المدروسة بتقنية HPLC وحسب تسلسلاتها استنادا إلى الجدول (1).

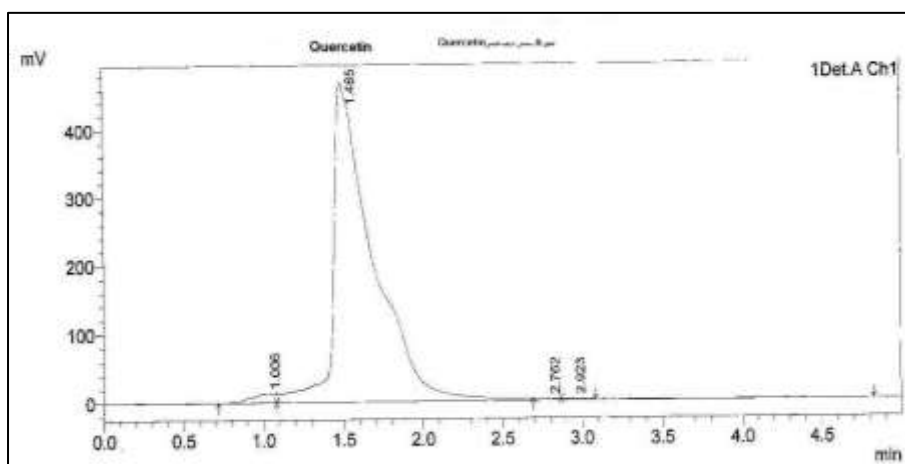
Table (3): Explain the evidence of standard compounds in plants species studied by using HPLC technique.

10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	الأنواع النباتية Species	التسلسل Number
										المركبات القياسية Standards	
								×		Coumarin	1
				×						Gallic acid	2
×		×	×			×	×	×		Quercetin	3
						×	×	×		Cinnamic acid	4
				×	×		×		×	Hydroquinon	5
	×									Rutin	6
×		×	×	×	×	×	×		×	Salicylic acid	7
			×		×	×				Thymol	8

الجدول (4): يبين قيم معدل Rt للمركبات الكيميائية المشخصة في تقنية HPLC لمستخلص الايثانول للعينات النباتية المدروسة.

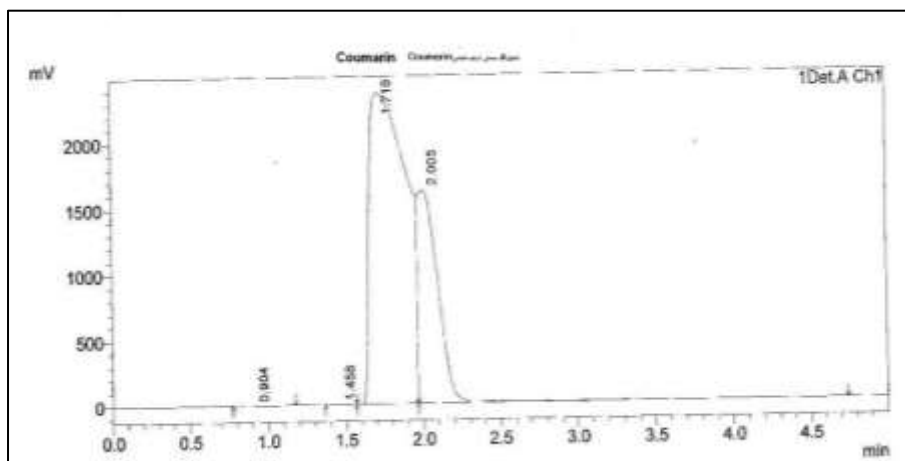
Table (4): Explain value of Rt for chemical compounds identified by using HPLC for ethanol extract for plant samples

8	7	6	5	4	3	2	1	رقم المركب Species
	1.13		1.42					<i>Lactuca orientalis</i>
				1.65	1.48		1.75	<i>Lactuca scariola</i>
	1.3		1.38	1.66	1.49			<i>Centaurea pallascens</i>
1.76	1.17			1.66	1.49			<i>Centaurea solstitialis</i>
1.76	1.08		1.43					<i>Centaurea calcitrapa</i>
	1.22		1.41			1.52		<i>Trifolium purpurium</i>
1.8	1.26				1.48			<i>Trifolium campestri</i>
	1.32				1.48			<i>Trifolium pallascens</i>
		1.4						<i>Quercus infectoria</i>
	1.01				1.52			<i>Quercus aegilops</i>



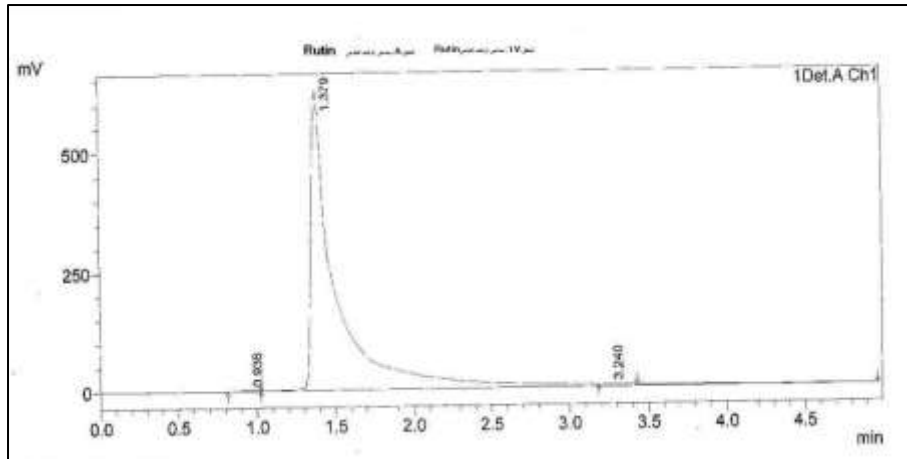
الشكل (1): المنحنى القياسي للكورسيتين باستخدام تقنية HPLC

Figure (1): Standard chromatogram for Quercetin by using HPLC technique



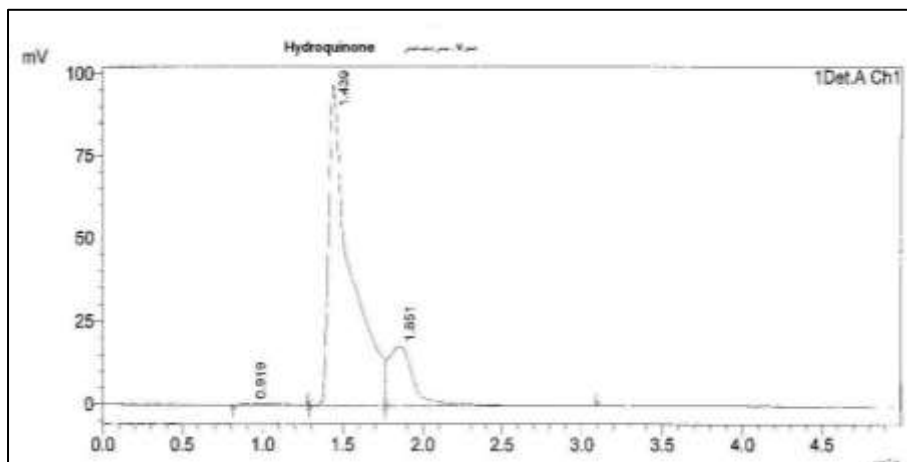
الشكل (2): منحنى المركب القياسي للكومارين باستخدام تقنية HPLC

Figure (2): Standard chromatogram for Coumarin by using HPLC technique



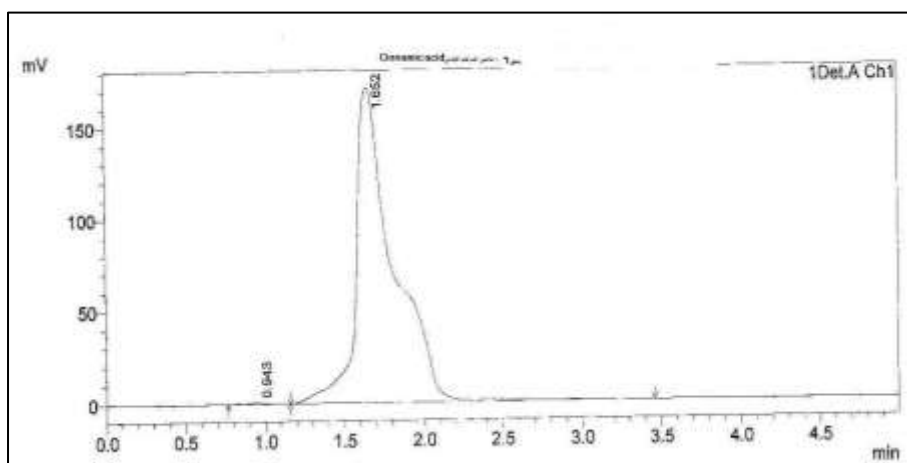
الشكل (3): منحى المركب القياسي للروتين باستخدام تقنية HPLC

Figure (3): Standard chromatogram for Rutin by using HPLC technique



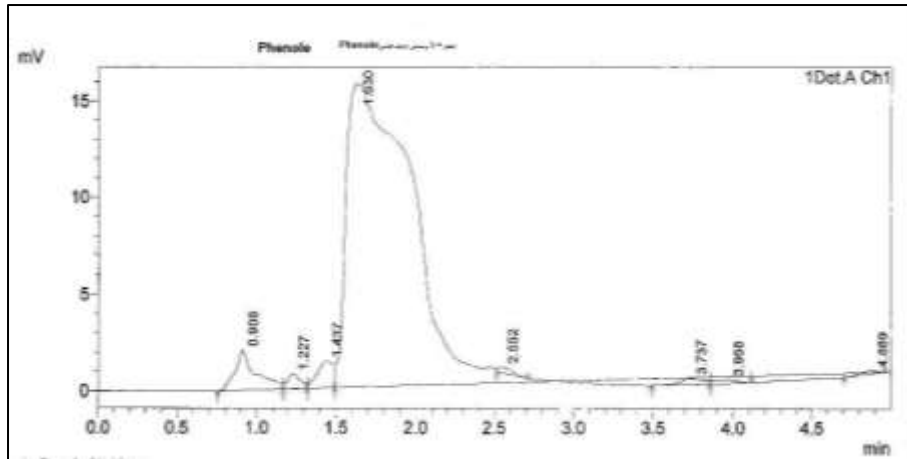
الشكل (4): منحى المركب القياسي للروتين للهيدروكينون باستخدام تقنية HPLC .

Figure (4): Standard chromatogram Hydroquinone by using HPLC technique.



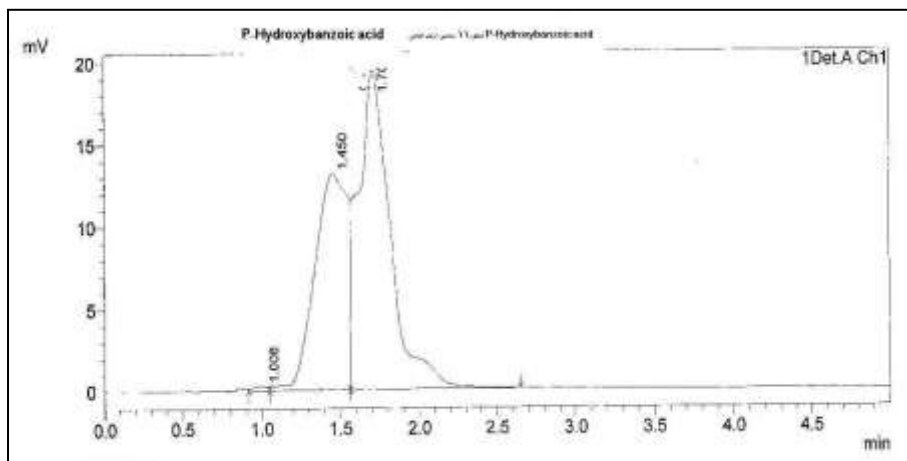
الشكل (5): منحى المركب القياسي لحمض السيناميك باستخدام تقنية HPLC

Figure (5): Standard chromatogram for Cinamic acid by using HPLC technique



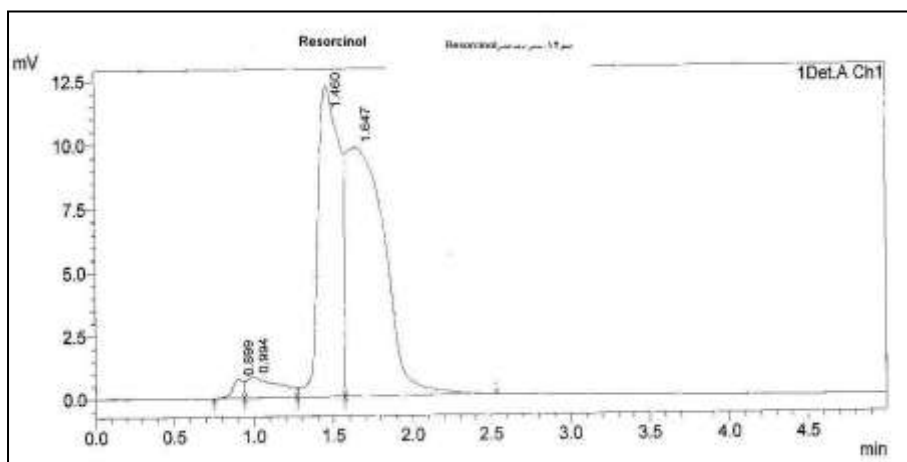
الشكل (6): منحى المركب القياسي الفينول Phenole باستعمال تقنية HPLC

Figure (6) Standard chromatogram for Phenole by using HPLC technique



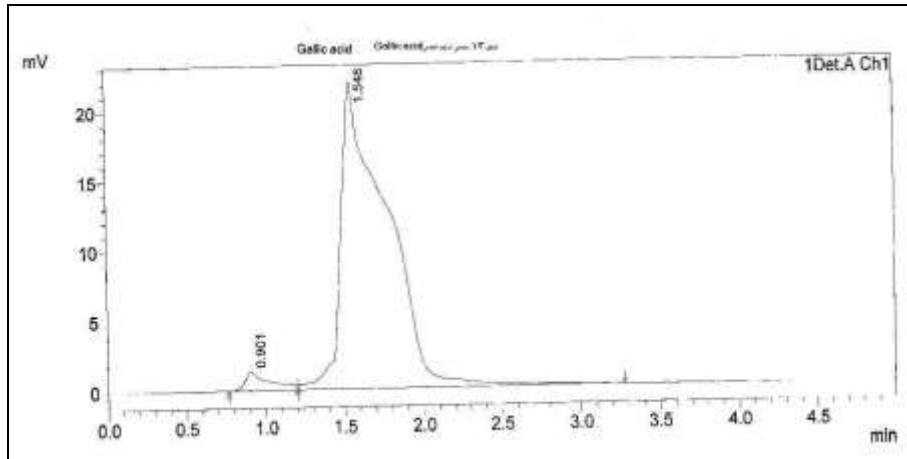
الشكل (7): منحى المركب القياسي لحمض بارا هايدروكسي بنزويك P-Hydroxybenzoic acid باستعمال تقنية HPLC.

Figure (7): Standard chromatogram for P-Hydroxybenzoic acid by using HPLC technique.



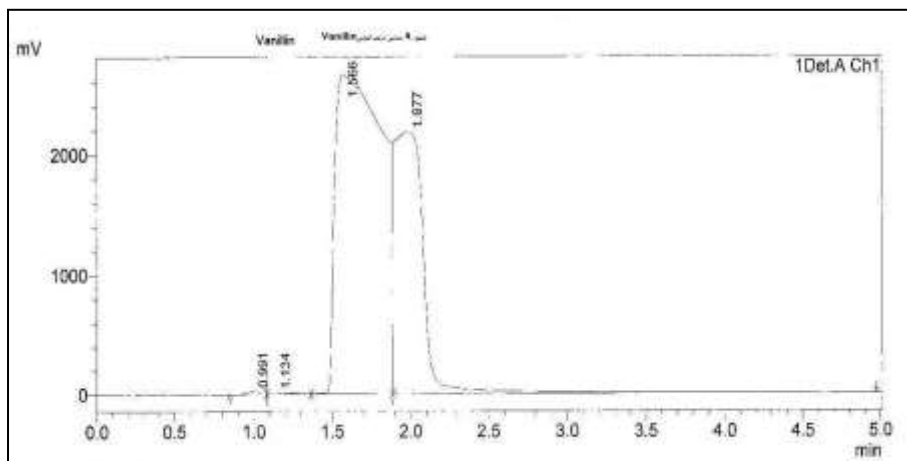
الشكل (8): منحى المركب القياسي للريسورسينول Resorcinol باستعمال تقنية HPLC

Figure (8): Standard chromatogram for Resorcinol by using HPLC technique



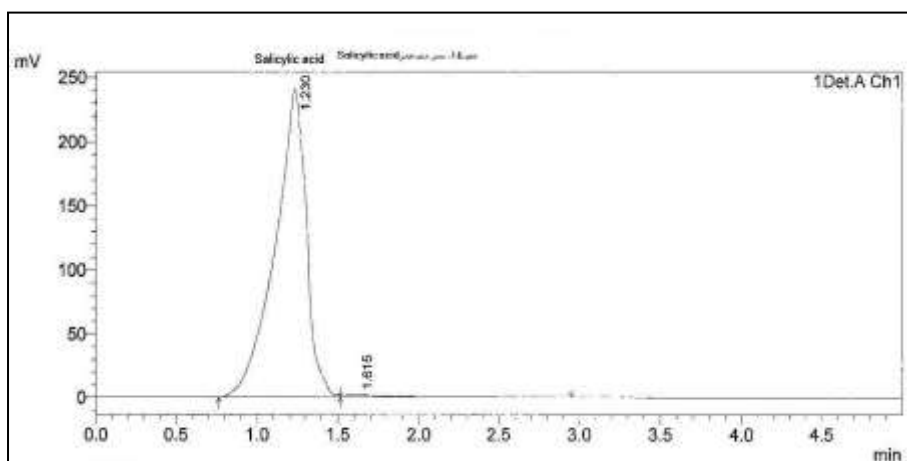
الشكل (9): منحى المركب القياسي لحمض الكاليك Gallic acid باستعمال تقنية HPLC .

Figure (9): Standard chromatogram for Gallic acid by using HPLC technique .



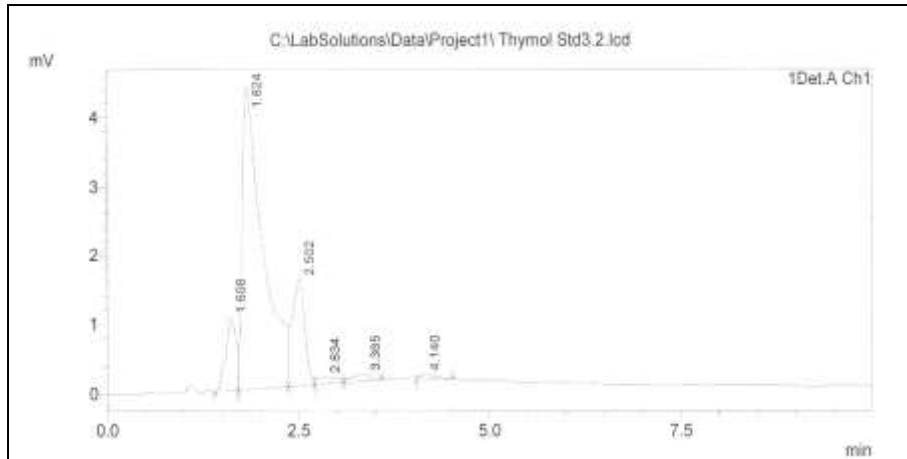
الشكل (10): منحى المركب القياسي لحمض الفانيلين Vanillin باستعمال تقنية HPLC .

Figure (10): Standard chromatogram for Vanillin by using HPLC technique .



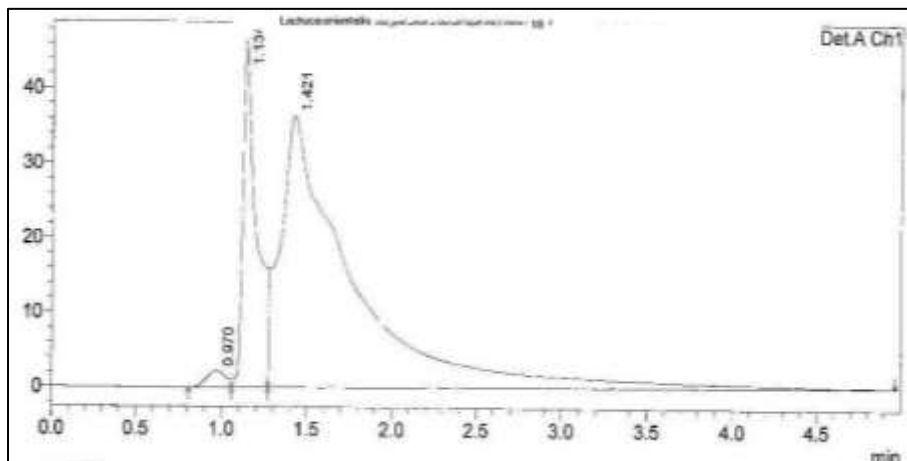
الشكل (11): منحى المركب القياسي لحمض الساليسليك Salicylic acid باستعمال تقنية HPLC .

Figure (11) Standard chromatogram for Salicylic acid by using HPLC technique.

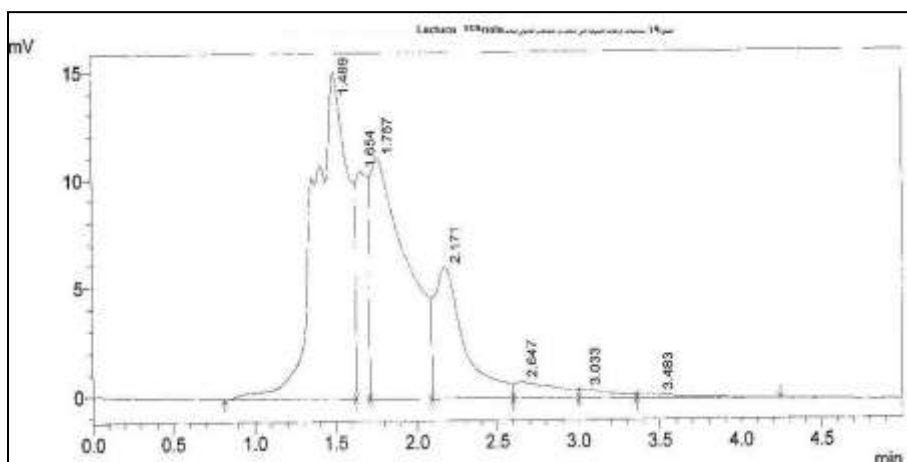


الشكل (12): منحنى المركب القياسي للثيمول باستخدام تقنية HPLC
Figure (12): Standard chromatogram for Thymol by using HPLC technique

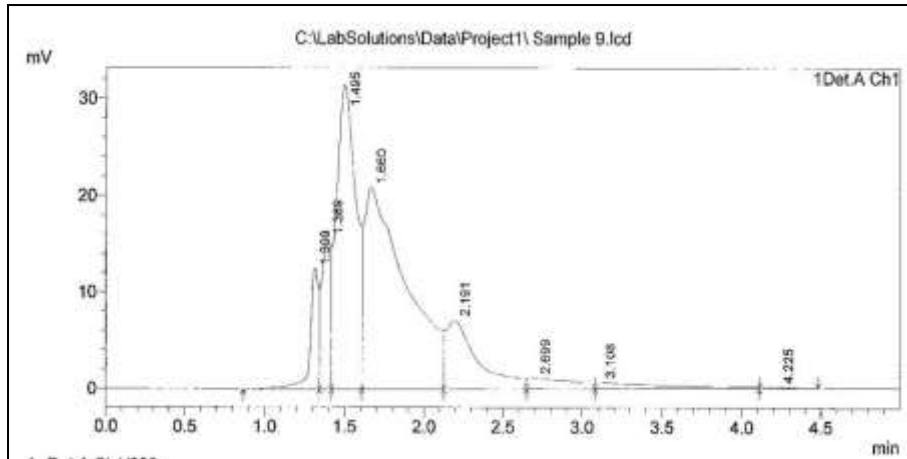
أنواع العائلة المركبة *Compositae* :



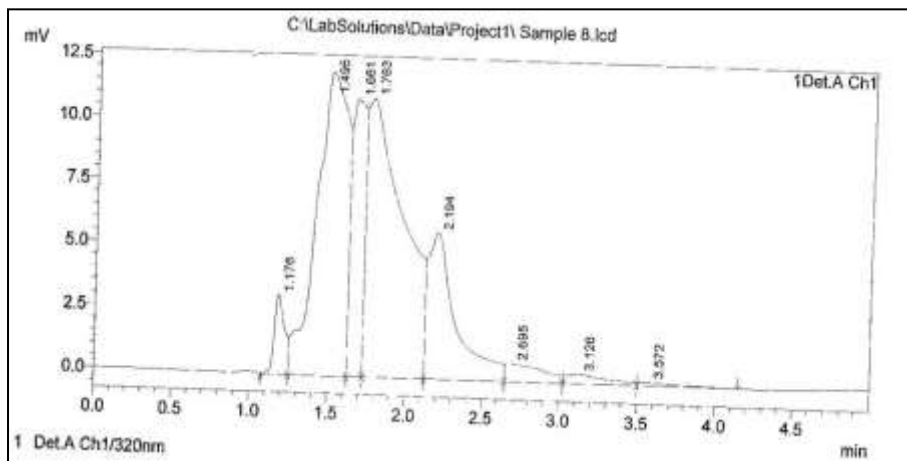
الشكل (13): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Lactuca orientalis* باستخدام تقنية HPLC
Figure (13): Phenolic chromatogram identification for *Lactuca orientalis* by using HPLC technique



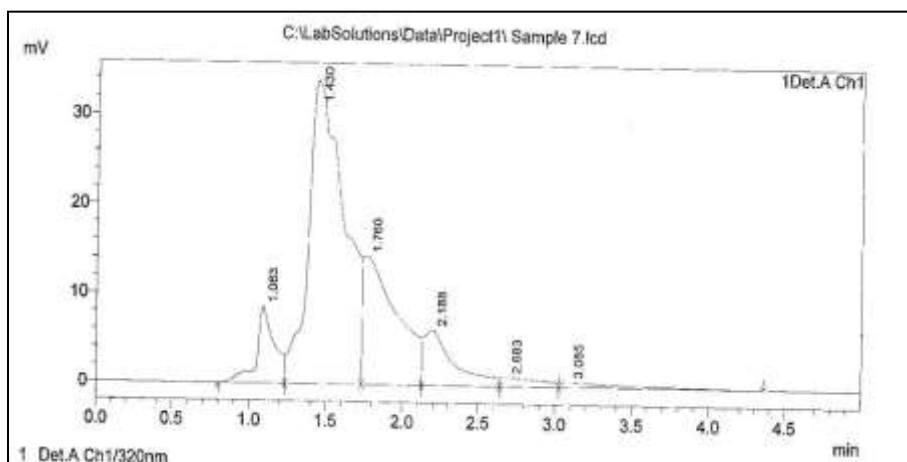
الشكل (14): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Lactuca scariola* باستخدام تقنية HPLC
Figure (14): Phenolic chromatogram identification for *Lactuca scariola* by using HPLC technique



الشكل (15): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Centaurea pallascens* باستعمال تقنية HPLC
Figure (15): Phenolic chromatogram identification for *Centaurea pallascens* by using HPLC technique.

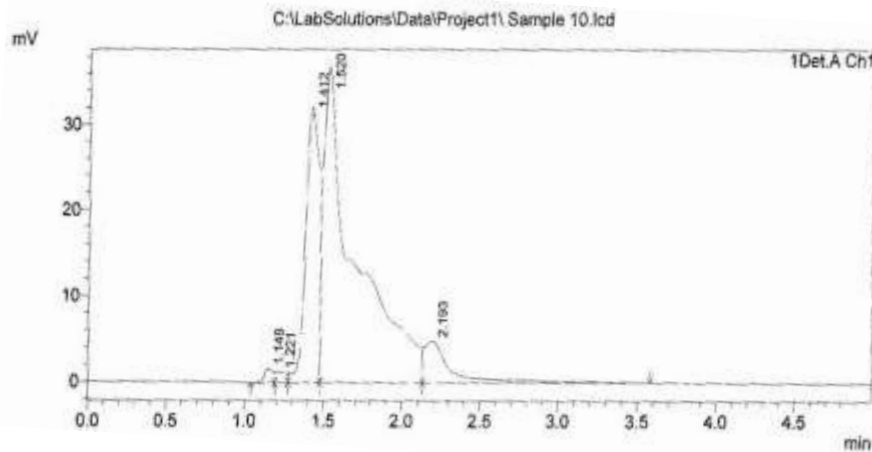


الشكل (16): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Centaurea solstitialis* باستعمال تقنية HPLC .
Figure (16): Phenolic chromatogram identification for *Centaurea solstitialis* by using HPLC technique

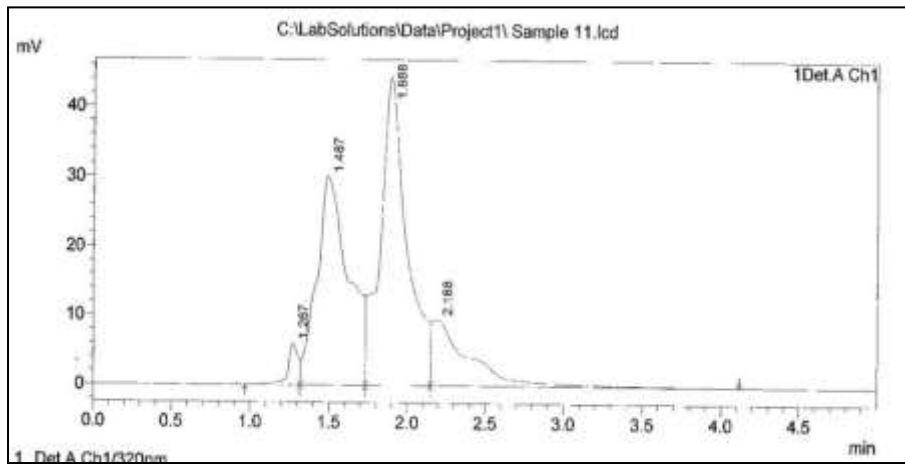


الشكل (17): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Centaurea calcitrapa* باستعمال تقنية HPLC
Figure (17): Phenolic chromatogram identification for *Centaurea calcitrapa* by using HPLC technique

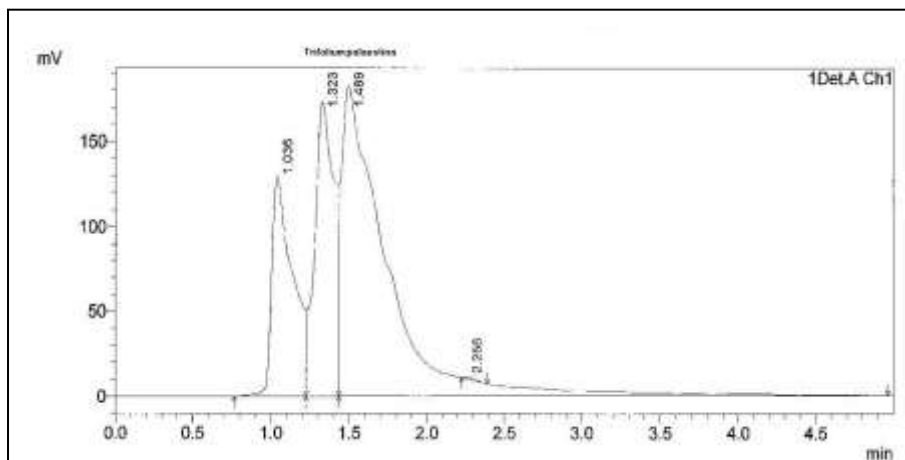
أنواع العائلة البقولية : Fabaceae family species



الشكل (18): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Trifolium purpureum* باستعمال تقنية HPLC
Figure (18): Phenolic chromatogram identification for *Trifolium purpureum* by using HPLC technique

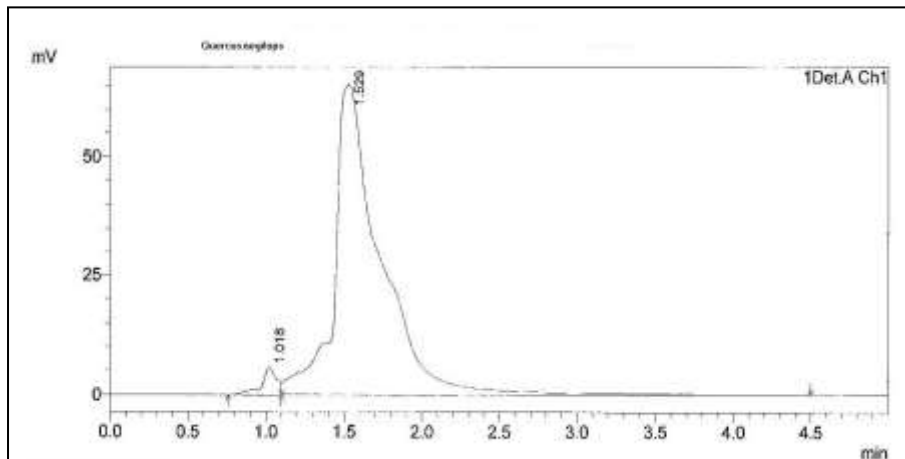


الشكل (19): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Trifolium campestre* باستعمال تقنية HPLC
Figure (19): Phenolic chromatogram identification for *Trifolium campestre* by using HPLC technique

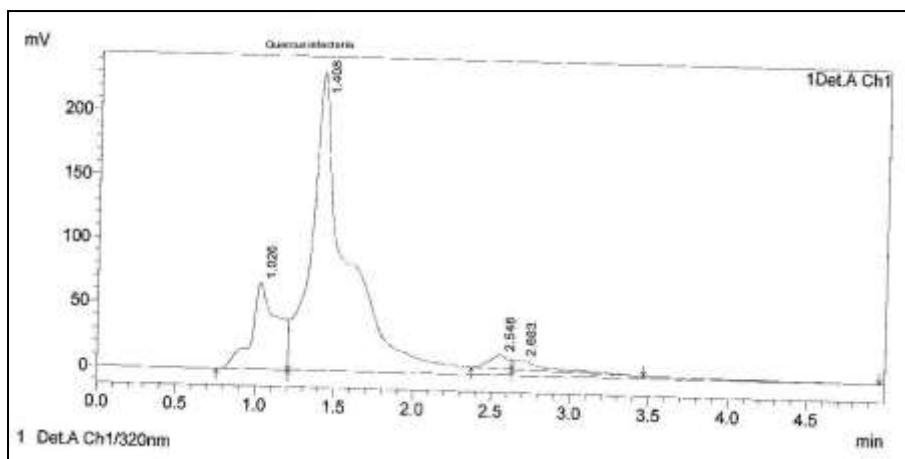


الشكل (20): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع *Trifolium palaestina* باستعمال تقنية HPLC
Figure (20): Phenolic chromatogram identification for *Trifolium palaestina* by using HPLC technique

أنواع العائلة الزانية Fagaceae : Fagaceae family species



الشكل (21): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع البلوط *Quercus aegilops* باستعمال تقنية HPLC
Figure (21): Phenolic chromatogram identification for *Quercus aegilops* by using HPLC technique



الشكل (22): منحنى المركبات الفينولية المشخصة لنوع البلوط *Quercus infectoria* باستعمال تقنية HPLC
Figure (22): Phenolic chromatogram identification for *Quercus infectoria* by using HPLC technique

STUDY OF TAXONOMICAL AND IDENTIFICATION FROM SOME PHENOLIC FOR SOME PLANT SPECIES GROWING AT ATRUSH REGION NORTHERN IRAQ USING HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)

T. T. Ali Al-Tikriti⁽¹⁾

Y. M Q . Al- alousy⁽²⁾

A. Y. S. Al-Naman⁽³⁾

⁽¹⁾ Ministry of Agriculture - State company of horticulture and forestry

⁽²⁾ Forest. Dept. - College of Agriculture and Forestry / Univ. of Mosul

⁽³⁾ Science Dept. / College of Science / Univ. of Mosul

E-mail: Shareefadeeba@yahoo.com

ABSTRACT

This study was carried out in the laboratory of collage of agriculture and Forestry to identifying the phenolic compounds for ten kinds of plants of the species used in plant identification, The crude lipid free extract was prepared by using soxhlet and Petroleum ether and Ethanol as a solvent, HPLC High performers liquid Chromatography was used for determining phenolic compounds in the extract. The results showed the isolation of 8phenolic compounds including (Hydroquino, Salicylic acid, Coumarin, Cinnamic acid, Thymol, Quercetin, Rutin, Gallic acid), The results were showed many differences in the number and rates of these phenolic compounds between the species, Salicylic acid was the purulent in species of Fabaceae family, (*Trifolium purpureum*, *T. campestre*, *T. palaestin*), four important phenolic compounds in the Asteraceae family differ according to the species (*Centaurea pallascens*, *Centaurea solstitialis*, *Centaurea calcitrapa*) in clouding (Quercetin, Coumarin, Cinnamic acid, Salicylic acid), while in Fagaceae family *Quercus infectoria* four types of phenolic compounds were identified, Rutin was the only identified of the phenolic compounds, the remaining compounds were unknown glycosides, while in *Quercus aegilops* two chemical compounds (Quercetin and Salicylic acid) were identified. These differences in chemical compounds could be used as an indicator for plant identification.

Keywords: Plant identification, Plants species, sequential extraction, Phenolic compounds.

Received: 21/10/2012, Accepted: 18/2/2013.

المصادر

- إحسان، سعد علي (1985). دراسة كيميائية للزيوت الطيارة في أربعة أنواع من جنس السلفيا، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.
- الراوي، علي (1988) النباتات الطبية في العراق، وزارة الزراعة، الهيئة العامة للبحوث الزراعية.
- التكاي، طلال قاسم إبراهيم عبدالله (2012). المكونات الكيميائية الثانوية والخصائص التشريحية ذات الأهمية الصناعية لجذوع اشجار السبج *Melia azedarach* L. أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل.
- الجبوري، صبيحة حسين احمد (2007). دراسة فيزيوكيميائية لمستخلصات البنوزانات والمكونات المرتبطة بها لبعض أصناف الحنطة المزروعة محليا وعلاقتها بصلاية الحبة، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.
- الحمداني، رعد اسماعيل ومقداد توفيق العارف (1990). الكيمياء العضوية المتقدمة، مطابع التعليم العالي، جامعة الموصل، العراق، ص 236.
- علي، طلال طه، قحطان العلوي، أنور عبد الحميد و فيصل العمري (2010). أطلس الغابات في الوطن العربي (الوضع الراهن للغابات وأهم الأنواع الشجرية في المنطقة العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية.
- الكاتب، يوسف منصور (2000). تصنيف النباتات البذرية، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.
- المشهداني، عذبة ناهي (1992). دراسة مقارنة لأنواع الجنس (*Boraginaceae*) *Onosma* L، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بغداد.
- المعاضيدي، عامر محسن محمود والرمضاني طلعت راجح (2006). الفلافونويدات وأهميتها التصنيفية في الأنواع النباتية لجنس الحور *Populus* في العراق، مجلة علوم الرافدين، جامعة الموصل، العراق، 17 (9) 40-50.

المفتي، منيب طاهر سلمان يحيى (2006). استخدام مستخلص أشجار صنوبر زاويتا *Pinus brutia* بلوط الأكل *Quercus aegilops* L. لاصقا في إنتاج الألواح الحبيبية، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

المنديل، فتحي عبدالله (2010). مقارنة الصفات ذات الأهمية المظهرية والتشريحية والكيمائية لبعض النباتات المائية في نهر دجلة في محافظة نينوى، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

الهاشمي، فنار هاشم يوسف (2012). تأثير التسميد النتروجيني والرش والجبرلين والجامكس وموعد الحش في نمو وإنتاج وطرق تشخيص المواد الفعالة لنوعين من النعناع *Mentha Sp.*، أطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل.

Davis, P H.; V. H. Heywood. (1973). Principles of Angiosperms Taxonomy. Robert, E. Kreiger Publishing Company Huntington, New York. 558 PP.

Grazier, A.;M.N. Clifford. And H. Ashihara. (2006). Plant Secondary Metalites Ocarrence, Structure And Role in the Human Diet By Blackwell publishing Ltd : 372 pages

Guest, E.R.(1966). Flora Of Iraq. Vol.1. Minstry of Agriculture.Baghdad. P213.

Harborn, J. B. (1973). Physiochemical Methods A guide To Modern Techniques Of plant Taxonomy Analysis. London, New York Chapman and Hall, 278 PP.

Malencic, D.; M.popovic,and J. Miladinvic,J. (2007). Phenolic Content And Properties Of Soybean *Glycine max* (L.) Merr. Seeds Molecules 12:576-581.

Niina, M. M.; Walter, A. Cardenas (2009) Leave phenolic compounds in red clover 9 *Trifolium pretense* L. induced by exposure to moderately elevated ozone, Laboratory, Box 111, 80101 JoensuuFinland.

Noori, H.G; A.A. Hoshyar and M.A.Raad, (2010). Determination of some chemical constitutes of oak plant (*Quercus* spp) in the mountain oak forest of Sulaimani *Journal of Zankoy Sulaimani,(1) part A, (129-142)*.

Reader. Roitzsch,J.E. (1969) Forest Trees In Iraq. Pub Fac. Agric. University Of Mosul.169 pp.

Robbert, W.O.; B.M. Helmut; G. Attilio and E. H. Williama. (2000). Identification of lignases magor components in the phenolic fraction of olive oil. *Journal Clinical Chemistry, 46 (7) : 976-988*.

Samuel, B. J. and M, Luchsinger. (1978) Plant Systematics 2nd. Ed. McGruw. – Hill book, co. NewYork. Sanfranscisco, 512 pp.

Saviranta, N.M;R.Titter R; E,Oksanan E, and R.D. Karjalainen. (2010). Red clover (*Trifolium pretense* L.) isoflavones : root phenolic compounds affected by biotic and abiotic stress factors. *Journal Science Food Agriculture 90(3) : 418-423*.