Mesopotamia J. of Agric. ISSN: 2224 - 9796 (Online) مـجلــة زراعــة الـرافـديـن
Vol. (45) No. (3) 2017 ISSN: 1815 - 316 X (Print) المجلد (45) العدد (3) 2017

دراسة تصنيفية وتشخيصية لبعض الفينولات في عدد من الأنواع النباتية النامية في منطقة أتروش في شمال العراق باستخدام تقنية الطبقة الرقيقة TLC

طلال طه علي التكريتي[1] يونس محمد قاسم الآلوسي[2] أديبة يونس شريف النعمان[3]
[1] وزارة الزراعة / الشركة العامة للبستنه والغابات – العراق.
[2] قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل – العراق.
[3] قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل – العراق.
E-mail: Shareefadeeba@yahoo.com

الخلاصة

أجريت الدراسة في مختبرات كلية الزراعة والغابات لفصل وتشخيص المركبات الفينولية لعشرين نوع نباتي لاستخدامها في التصنيف النباتي إذ تم الحصول على المستخلص الخام الخالي من الدهون بطريقة الاستخلاص التعاقبي بجهاز السوكسليت باستخدام مذيبي (الأيثر البترولي والأيثانول) كمذيبات واستعملت تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) في تشخيص هذه المركبات. وأظهرت النتائج فصل 27 مركب فينولي وهي (Salicylic acid, Vanillin, Catechol, Gallic acid, p–Hydroxybenzoic acid Resorcenol, Coumarin, Phenol, Cinnamic acid, Rutin, Quercetin, Kaempferol, Hydroquinone, Syringic acid, Ellagic acid, Myricetin, Apigenin, Ferulic acid, Lutelen, Catiechin, Afzelechin, Epiafzelechin، Esuliten, Apicathichin, Gallocatechin, Herniaren, Thymol) وأظهرت النتائج وجود اختلافات بين المركبات الفينولية ضمن الجنس الواحد وبين الأنواع مع اشتراك عدد من الأنواع النباتية ضمن الجنس الواحد في عدد من المركبات الكيميائية وكان مركبا (Salicylic acid، Quercetin) الأكثر تواجدا في جنسين من العائلة البقولية *Fabaceae* والمتمثلة بجنس *Trifolium* وجنس *Onobrychis* وأظهرت النتائج وجود اختلافات بين انوعي العائلة النجيلية *Paoceae* النوع الأول الشعير البري *Hordeum glaucum* والنوع الثاني الشعير البصلي *H. bulbosum*

أما بالنسبة للعائلة الزانية *Fagaceae* فأظهرت النتائج وجود اختلافات في تواجد مركبات فينولية في بلوط العفص *Q. infectoria* والبلوط العادي *Quercus aegilops* واظهرت النتائج وجود اختلافات عديدة في أنواع وعدد ونسب المركبات الفينولية بين الأنواع 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 تسلم البحث: 2013/4/23 ، وقبوله: 2013/5/27.

المقدمة

يشمل التصنيف الكيميائي Chemotaxonomy تصنيف النباتات اعتمادا على طبيعة المركبات الكيميائية التي تحتويها الخلايا والأنسجة النباتية.

تعد المركبات والمستخلصات ألكيميائية أدلة تصنيفية مهمة للتمييز بين الأنواع ألنباتية الصعبة التشخيص ومؤشرا جيدا للعلاقات بين المراتب ألتصنيفية المختلفة وهي جزء مكمل ورئيسي للدراسات التصنيفية المختلفة، إذ تنفرد أجناس وأنواع معينة بوجود أنواع من المركبات ألكيميائية كالفينولات والتانينات والحوامض الدهنية والتربينات والدهون والكربوهيدرات والبروتينات وغيرها وإن الخصائص ألكيميائية للمنتجات الثانوية في النبات تعد مؤشرا للعلاقات التصنيفية بين المراتب.

ألتصنيفية المختلفة أكثر من ألمظهرية 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 (Davisو Heyood، 1973) وأكد Samuel و Luchsinger (1978) ان للفلافينويدات استخدامات مهمة في التصنيف الكيميائي لوجودها المطلق في جميع النباتات ألراقية تقريبا وسهولة فصلها وتشخيصها مهما كانت كميتها قليلة، كما أن ثبوتها الكيميائي أسهم في اعتمادها كمؤشرات تصنيفية مهمة

البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الأول.

كما أجرى احسان(1985) دراسة كيميائية تصنيفية لأربعة أنواع من جنس ال *Salvia* العائد للعائلة الشفوية *Lamiaceae* اذ استخلص وشخص الزيوت الطيارة للأنواع الأربعة باستخدام تقنية TLC ووجد اختلافات في المركبات الكيميائية للأنواع الأربعة والتي تعد صفة تصنيفية لهذه الأنواع وذكر لفته (1988) ان هناك دراسات كيميائية تشير إلى وجود امكانية استخدام الأختلاف في تواجد المحتويات الكيميائية بين أنواع جنس الـ *Plantago* في عملية التصنيف الكيميائي ومن هذه المواد (Fatty acid, Salicylic acid, Tanin، Manitol)، وشخصت المشهداني (1992)عشرة مركبات تعود إلى المجاميع الفينولية phenolic compounds في عدة أنواع من جنس ال *Onosma* التابع لعائلة لسان الثور *Boraginaceae* اذ أبدت أنواعه تغايرات واسعة من حيث احتوائها على المركبات الكيميائية اذ ظهرت مركبات في أنواع محددة دون الأخرى ومن المركبات المشخصة (Elagic acid، Rutine وSyringic acid) وذكر Grazier وآخرون (2006) إن العديد من المستخلصات الكيميائية التي تنفرد بها أنواع نباتية معينة اعتمدت كأساس تصنيفي في الدراسات ألكيميائية ألتصنيفية ألحديثة. 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)، وتمكن المنديل (2010) من تصنيف بعض الأنواع ألنباتية في جنس*Potamogeton* بطريقة التصنيف الكيميائي بالاعتماد على المركبات الكيميائية في المستخلصات ألنباتية التي حصل عليها بتقنية HPLC وطريقة كروماتوغرافيا ألطبقة الرقيقة TLC وسجل نوعا جديدا في العراق باسمه إذ تمكن من فصل أربعة أنواع من الأحماض العضوية المختلفة بين الأنواع وهي (حامض التارتاريك، المالك، ألماليك 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 .*Trfolium pretense L* إذ تمكن من تشخيص 28 نوعا من المركبات الفينولية بتقنية TLCوأثبت وجود مركبات فينولية لها تأثير ايجابي في التقليل من الأضرار الناجمة عن نشاط الأوزون على الحيوان والإنسان، كما درس التكاي (2012) المكونات الكيميائية الثانوية في أشجار السبحبح باستخدام الاستخلاص التعاقبي بواسطة جهاز السوكسليت باستخدام خمسة مذيبات مختلفة وقام بإجراء عملية تحلل حامضي للمستخلص الخام واستخدم تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC للكشف النوعي وتقنية HPLC لتشخيص أنواع المركبات الفينولية ومن المركبات المهمة التي تم تشخيصهاKampferol (Gallic acid, Salicylic acid, Quercetin, Luteolin, Apigenin) ودرست الهاشمي (2012) المركبات الكيميائية للزيت في نوعين من النعناع هما الأخضر *Mentha spicata* والفلفلي *Mentha pipirita* حيث استخدمت تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC، حيث استخدمت جهاز السوكسليت باستخلاص 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 قير) ويقع هذا الجبل إلى الشمال من مدينة الموصل ب70 كم بالقرب من منطقة أتروش على خط عرض 45 36º شمالا وخط طول 19 43º 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 الأكسدة 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 ألحامضي بعد الحصول على مستخلص الايثانول لفك الارتباط من اجل تشخيص فينولات حرة يمكن اعتمادها في التمييز بين الأنواع النباتية ضمن الجنس الواحد عند تطبيق تقنية TLC. ونظرا لأهمية الفينولات في التشخيص والتصنيف النباتي فأننا ارتأينا استخدامها كدلائل تصنيفية بين أنواع الجنس الواحد. وتم فرزالأنواع ألنباتية عن بعضها البعض وتشخيصها وتصنيفها بالاعتماد على كتب الفلورا ألعراقية Guest وآخرون (1966)، Reader، (1969)، الراوي (1988)، الكاتب (2000) و علي وآخرون(2010) ومعشب كلية العلوم – جامعة الموصل إضافة إلى خبرة الباحثين.

3- الدراسة الكيميائية: جاءت هذه الدراسة من خلال الإطلاع على المصادر الخاصة بالتصنيف الكيميائي النباتي والخاص بالأنواع وما تحتويه من مواد كيميائية والتي تعد مرجعا مهما للتمييز بين الأنواع، بتطبيق تقنية TLC، وذلك في التشخيص والتصنيف النباتي بين أنواع الجنس الواحد، اذ تم اختيار20 نوعا نباتيا تعود إلى ستة عوائل نباتية و9 أجناس من الحشائش والأعشاب والأشجار والشجيرات، والجدول (1) يبين الأنواع النباتية التي تم تشخيص مركباتها الكيميائية باستخدام تقنية TLC.

أ- الحشائش والأعشاب:- فيما يتعلق بالحشائش والأعشاب تم اختيار أربع عوائل نباتية وهي العائلة المركبة (*Asteraceae* والنجيلية *Poaceae* والبقولية *Fabaceae* والشفوية *Lamiaceae*) متمثلة بجنسين من العائلة المركبة (*Lactuca, Centaurea*) وتضمن جنس الـ *Centaurea* ثلاثة أنواع وهي:

(*Centaurea pallescens* و*Centaurea solstitialis*, و*Centaurea calcitrapa* بينما تضمن جنس الخس البري *Lactuca* نوعين (*Lactuca orientalis, Lactuca scariola*) بينما تضمنت العائلة النجيلية جنس الشعير البري *Hordeum* الذي شمل نوعين: (*H. glaucum, Hordeum bulbosum*) أما العائلة البقولية فتضمنت جنسين هما جنس *Trifolium* الذي شمل ثلاثة أنواع هي:

(*T. campestre, T. palaestiina, Trifolium purpureum*) أما الجنس الثاني فهو الكطب *Onobrychis* وتضمن نوعين هما (*Onobrychis crista-galli*، *O. caput*-galli) أما العائلة الشفوية فتضمنت جنسين الأول جنس *Salvia* وتضمن نوعين: *Salvia officinalis Salvia aegyptiaca*، والثاني جنس الزعتر البري *Thymus* وبنوعين: *Thymus syriacus , Thymus kotschyanus* .

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

Table (1): Plants species identified their crude by using TLC technique

الأنواع النباتية Species	التسلسل Number
Lactuca orientalis	1
Lactuca scariola	2
Hordeum glaucum	3
Hordeum bulbosum	4
Centaurea pallescens	5
Centaurea solstitialis	6
Centaurea calcitrapa	7
Trifolium purpurium	8
Trifolium campestri	9
Trifolium palaestina	10
Onobrychis crista galli	11
Onobrychis caput galli	12
Thymus kotschyanus	13
Thymus syriacus	14
Crataegus azarolus	15
Crataegus monogyna	16
Salvia officinalis	17
Salvia aegyptiaca	18
Quercus infectoria	19
Quertcus aegilops	20

ب- الأشجار والشجيرات: تم اختيار عائلتين الأولى هي العائلة الوردية *Rosaceae* متمثلة بجنس الزعرور*Crataegus* اذ تم اختيار نوعين *Crataegus azarolus* و *C. monogyna*، والعائلة الزانية *Fagaceae* متمثلة بجنس البلوط *Quercus* والذي شمل نوعين: *Quercus aegilops* و *Q. infectoria*.

4- تشخيص المركبات الفينولية في العينات النباتية: تم إتباع تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography في عملية فصل وتشخيص عدد من المركبات الفينولية:

تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography : تم استخدام 20 نوعا نباتيا تمثل(9) أجناس مختلفة ويبين الجدول (1) تلك الأنواع وتسلسلاتها اذ تم استخدام الطريقة التي ذكرها Harborne(1973) في الفصل والكشف عن هذه المركبات وبطريقتين.

أ- الطريقة البسيطة: أجريت بإتباع الخطوات الاتية:

1- تم تجفيف (الأوراق والسيقان) من كل نوع من الأنواع المدروسة وتم سحقه وطحنه باستخدام مطحنة كهربائية حجم الفتحات 20 مش

2- نقل 5غم من كل عينة نباتية الى بيكر وأضيف إليها 50 مليلتر من الكحول الأثيلي بتركيز 70% وتركت في درجة حرارة الغرفة لمدة 72 ساعة.

3- تم ترشيح المحلول باستخدام ورق الترشيح وركز الراشح المستخلص إلى 25 مل بدرجة حرارة 40 °م.

4- تم تبخير الكحول بواسطة مجفف هوائي Air dryer بدرجة حرارة المختبر.

5- تم إضافة 25 مل من الايثرالبترولي إلى الراشح ورج الراشح جيدا ثم وضع في قمع الفصل Separating funnel وترك لحين تكون طبقتان واضحتان هما طبقة الايثرالبترولي العليا مذابا فيه الكلوروفيل والدهون الأخرى وطبقة سفلى تمثل الأيثانول مذابا فيه المركبات الفينولية.

6- تم سحب طبقة الأيثانول السفلى وتم تركيزالأيثانول الحاوي على المركبات الفينولية إلى نصف حجمها تقريبا بتعريضها لتيار هواء جاف.

7- استعملت صفائح هلام السليكا الرقيقة من الألمنيوم من نوع Silicagel 60F, 250 وبأبعاد (20×20) سم، بعد أن نشطت Activated في الفرن بدرجة حرارة (80-100) م° ولمدة (15-20) دقيقة.

8- حملت صفائح السليكا جيل ببقع صغيرة من المستخلص المركز المحضر في الخطوة (5) بواسطة أنابيب شعرية Capillary tubes بحيث تركت مسافة 1سم بين عينة وأخرى أسفل الصفيحة وكررت عملية التنقيط عدة مرات ثم تركت الصفيحة مدة 20 دقيقة لتجف.

9- نقلت الصفيحة إلى حوض زجاجي مناسبDeveloping glass tank يحتوي على احد المحاليل المذيبة Solvents أو نظام مذيب معين وغطي بغطاء محكم.

10- استعمل المذيب المكون من (n-butanol: acetic acid: water) B A W وبنسبة 5:1:4 حجم/حجم/حجم في فصل المركبات الفينولية اذ تم تحضيره مختبريا وذلك بخلط (24) مليلتر من n-butanol و (6) مليلتر من حامض ألخليك الثلجي Galcial acetic acid و (30) مليلتر من الماء المقطر، كذلك تم استخدام المذيب المكون من كلوروفورم مع حامض الخليك بنسبة (1:9) حجم/حجم كوسط ثاني لفصل المركبات الفينولية.

11- تركت الصفيحة في الحوض لمدة 6 ساعات تقريبا اذ تحرك المذيب مسافة معينة لا تقل عن 15 سم لكل العينات.

12- أخرجت الصفيحة من الحوض وتركت لتجف وسجلت عليها الملاحظات عن مواقع وألوان البقع المفصولة Separated spotsالتي ظهرت بالضوء الاعتيادي.

13- تمت معاملة الصفائح بالمواد الكاشفة أو المظهرة Developing reagents للكشف عن المركبات الفينولية منها بخار الأمونيا Amonia vapor ومحلول فولن وبلورات اليود(Harborne، 1973) ووجد أن استخدام مادة الأمونيا ومحلول فولن كان لهما الدور الكبير في إظهار المركبات الكيميائية الفينولية للأنواع قيد الدراسة كما وضعت بلورات من اليود داخل حوض وتركت مفتوحة ثم وضع غطاء الحوض وبذلك أصبح فراغ الحوض مشبعا ببخار اليود ووضعت الصفيحة الحاوية على المواد الفينولية في الحوض لمدة 15-20 دقيقة

بعدها أخرجت الصفيحة وسجلت عليها الملاحظات عن التغيرات التي حصلت نتيجة المعاملة باليود في الضوء الاعتيادي هذا في الحالة الأولى، وأجريت تجربة أخرى باستخدام محلول فولن مع الأمونيا اذ أجريت بعد استخراج الصفيحة من الحوض وتم رشها بمحلول فولن ثم رشت بالأمونيا ووضعت في الفرن لمدة 15 قيقة، ثم تم تثبيت مواقع البقع للمركبات الكيميائية وتحديد سرعة الجريان لكل بقعة لغرض تشخيصها والكشف عنها.

14- تم استخدام الأشعة فوق البنفسجية (الـ UV) لتشخيص عدد من المركبات الكيميائية التي لم تظهر باستخدام الكواشف اذ تم استخدام الجهاز الموجود في مختبرات كلية التربية قسم الكيمياء وتعد هذه الطريقة من طرق الكشف الإضافية للمركبات الكيميائية في المستخلصات النباتية المفصولة من طبقة ال TLC وتقنية HPLC.

15- تم إعداد المركبات القياسية للمركبات الفعالة التي من الممكن الكشف عنها والتي تم الحصول عليها من مخازن كلية العلوم وكلية التربية وكلية الطب البيطري/ جامعة الموصل والمصنعة من شركة فلوكا السويسرية، اذ تم تحضير هذه المحاليل بإذابة 100ملغ في 30 مل من الايثانول وأجريت عليها نفس الخطوات السابقة التي أجريت مع المستخلصات النباتية للأنواع النباتية من خطوة (7-13) لغرض استخدامها بوصفها عينات قياسية. شخصت المركبات الفينولية اعتمادا على قيمة السريان النسبي Relative flow والخصائص اللونية للبقع المشاهدة في الضوء الاعتيادي والتغير اللوني الذي طرأ عليها بعد استعمال بخار اليود والأمونيا ومحلول فولن ومقارنة الجريان النسبي لهذه المركبات (Rf) مع الـRf للمركبات القياسية التي تم تحضيرها سابقا وكذلك مع قيم Rf لمثيلتها المنشورة في الأدبيات باستخدام الظروف نفسها. والجدول (2) يبين قيم السريان للمركبات القياسية المتوقع ظهورها والمحضرة مختبريا والتي سيتم تشخيصها بالاعتماد على سرعة الجريان لكل منها بعد استخدام تقنية TLC. وبالأعتماد على العديد من البحوث والأدبيات السابقة.

ب- طريقة الاستخلاص باستخدام جهاز Soxhlet أجريت هذه الطريقة بإتباع الخطوات الاتية:-

1- نقل 10 غم من كل عينة نباتية من العينات التي تم اختيارها لعملية الفصل والكشف عن المركبات الفينولية الى جهاز الاستخلاص نوع Soxhlet حجم 200 مل واضيف اليها 150 مل من الأيثر البترولي Petrolium ether.

2- تم ربط أجزاء الجهاز وتشغيله ولمدة 7 ساعات.

3- وضعت المادة المستخلصة في علبة زجاجية وتم تبخيرها لحين الوصول الى حجم 25 مل باستخدام جهاز المبخر الدوار وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال.

4- يتم إعادة العينة النباتية إلى جهاز الSoxhlete مع إضافة 150 مل من مادة الايثانول.

5- تم تشغيل الجهاز ثانية لمدة 7 ساعات اخرى لغرض جمع المستخلص.

6- جمع المستخلص ووضع في جهاز المبخرالدوار لغرض تركيزالحجم إلى25 سم^3 من المستخلص المركز والذي أصبح جاهزا للأختبار بتقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) بعد إجراء عملية التحلل الحامضي.

7- اعيدت نفس الخطوات السابقة في الفقرة أ (الطريقة البسيطة) وضعت بقع صغيرة من المستخلص المحضر (الخطوة 7) وتنتهي الطريقة بالخطوة 13 كما سبق.

8- من الناحية العلمية تعد الطريقة الثانية عملية وتعد من الطرائق الصحيحة لغرض الدقة في تشخيص المركبات الموجودة والتي تتواجد اغلبها بشكل كلايكوسيدات في الأنسجة النباتية، ونظرا لوجود الفينولات على شكل كلايكوسيدات مرتبطة ولغرض الحصول على الفينولات الحرة تم فصل المركبات السكرية عن المركبات غير السكرية بإجراء عملية التحلل الحامضي استنادا إلى (Harborne، 1973 باجراء العملية بإتباع الخطوات الاتية:-

عملية التحلل الحامضي Acid Hydrolysis:

- تم نقل 5 مل من المستخلص الخام للايثانول الى بيكر زجاجي وأضيف إليه 50 مل من حامض الهيدروكلوريك 1 عياري ووضع في حمام مائي.
- سخنت محتويات البيكر لمدة ساعة ودرجة حرارة 90 درجة مئوية.

الجدول (2): يمثل سرعة الجريان Rf للمركبات الفينولية القياسية التي تم تحضيرها مختبريا والمتوقع ظهورها بتطبيق تقنية TLC عليها.

Table (2): Retention flow for standard phenolic compounds prepares in laboratory and expected evidence application TLC technique

سرعة الجريان Retention flow	المركبات القياسية standard compounds	تسلسل النوع Number
0,64	Quercetin	1
0,44	Myricetin	2
0,61	Syringic acid	3
0,15	Ellagic acid	4
072	Catichol	5
0,78	Lutleolin	6
0,49	Esuliten	7
0,80	Kaempferol	8
0,42	Apicatichin	9
0,89	Apigenin	10
0,85	Ferulic acid	11
0,05	Gallic acid	12
0,73	Coumarin	132
0,67	Cinnamic acid	14
0,76	P- Hydroxybenzoic acid	15
0,83	Phenol	16
0,71	Resorcinol	17
0,69	Hydroquinone	18
0,46	Rutin	19
0,70	Vanillin	20
0,90	Salicylic acid	21
0,40	Catiechin	22
0,30	Gallocathechin	23
0,74	Afzelechin	24
0,62	Epiafzelechin	25
0,81	Thymol	26
0,96	Herniaren	27

- برد المحلول ثم رشح للتخلص من الرواسب إن وجدت.
- نقل الراشح الى قمع الفصل وأضيف إليه15 مل من خلات الأثيل ولمرتين وجمعت الطبقة السفلى لتعاد عليها العملية ثانية، اذ تم اضافة 15 مل من خلات الأثيل وترك لمدة10 دقائق لحين إكمال عملية الفصل وعملية التحلل الحامضي وبهذا فان مستخلص خلات الأثيل يحتوي على الفينولات الحرة التي أصبحت جاهزة لعملية الكشف باستخدام تقنية TL C، باعتماد المبدأ الذي ذكره (Harborne، 1973).

- تم تحضير اثني عشر مركبا قياسيا تم الحصول عليها من مخازن متعددة ومن القطاع الخاص اذ تم إذابة 100ملغ / 30 مل من الايثانول وتم ترشيحها Robbert وآخرون (2000) وأصبحت مركبات قياسية جاهزة لتقنية TLC.

النتائج والمناقشة

تقنية كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC: أظهرت نتائج تحليل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) للمستخلصات النباتية للأنواع النباتية التي تم اختيارها تغايرات من حيث محتوياتها من المركبات الفينولية بالاعتماد على قيمة السريان النسبي(Rf) بالمقارنة مع المركبات القياسية المحضرة من المركبات الفينولية القياسية. اذ تم فصل وتشخيص عدد من المركبات الفينولية المستخلصة بالأيثانول واستخدام محلول (الكلوروفورم: حاض الخليك الثلجي) ومحلول (BAW) (n-butanol: acetic acid: water) بنسبة (5: 1: 4) كطورين ناقلين كلا على حدة وان التشخيص الكيميائي يمكن ان يحقق صفة تصنيفية تدعم الصفات الأخرى التي تم اعتمادها في تشخيص وتصنيف تلك الأنواع كالصفات المظهرية والتشريحية واوضحت نتائج هذه الدراسة - ينظرالجدول (3)- ظهور مركبات فينولية معينة في أجناس معينة دون غيرها من الأجناس وكذلك لأنواع معينة داخل الجنس الواحد دون غيرها بينما ظهرت مركبات أخرى في بقية الأنواع وكان عدد البقع الظاهرة (136) بقعة تباينت أعدادها بتباين الأنواع والمذيب المستعمل والتي مثلت (27) مركبا كيميائيا تم تشخيص البقع المفصولة في الطور الناقل BAW والتي مثلت (12) مركب قياسيا تم تطبيق هذه التقنية عليه و(15) مركبا تم تشخيصها استنادا الى بحوث ودراسات سابقة بينما لم يتم تشخيص 40 بقعة منها لعدم وجود مركبات قياسية لها وتمت عملية التشخيص بالأعتماد على المركبات القياسية التي طبقت عليها تقنية TLC بعد ان تم قياس معدل الجريان لكل مركب قياسي والشكل (1) يبين معدل الجريان لأنواع المركبات القياسية ال (12) المدروسة والتي تم تشخيصها باستخدام تقنية TLC اذ تم اعتماد قيم السريان النسبي لهذه المركبات القياسية وبمقارنتها مع التي حصلنا عليها للمستخلصات الفينولية للأنواع النباتية ال(20) تم تشخيص المركبات الفينولية عن طريق مقارنة البقع الظاهرة في جميع الأنواع النباتية المدروسة والتي اعتمدت عليها عملية التشخيص وكذلك الأعتماد على البحوث والأدبيات والدراسات المنشورة سابقا ويوضح الشكل (1) بقع المركبات القياسية المفصولة بتقنيةTLC والتي تم تحضيرها مختبريا اذ تم قياس قيم معدل الجريان Rf لكل مركب قياسي وتم استخدامها للمقارنة مع البقع التي تم الحصول عليها للمركبات الفينولية للأنواع النباتية باستخدام محلول فولن والأمونيا كمادة مظهرة، بينما يوضح الشكل (2) البقع المفصولة بنفس التقنية من المستخلصات النباتية المدروسة واستخدام اليود كمادة مظهرة فيما يبين الشكل(3) هذه البقع باستخدام محلول فولن والأمونيا كمادة مظهرة اما الجدول(4) فيبين البقع المفصولة وقيم Rf للمركبات الفينولية المشخصة بتقنية TLC باستخدام الكلوروفورم وحامض الخليك كوسط ناقل، للأنواع النباتية التي شملت حشائش وأعشاب وأشجار وشجيرات فكان عدد البقع المفصولة في الطور الناقل(الكلوروفورم: حاض الخليك) (40) بقعة شخصت(30) بقعة منها، بينما لم يتم تشخيص بقية البقع لعدم توفر مركبات قياسية وبلغ عدد أنواع المركبات الفينولية التي شخصت بهذه الطريقة (7) أنواع وهي: (Salicylic acid, Gallic acid, p – Hydroxybenzoic acid,Gentistic acid Syringic، Protocatechiuic, ʿacid Hydroquinone (اذ احتوى النوع (*L. scariola*) على مركب Salicylic acid، بينما اشترك النوعان *Centaurea pallescens* و*C. calcitrapa* في احتوائهما مركب Salicylic acid واشتركت أنواع جنس النفل الثلاثة باحتوائها على (Gallic acid) واحتوى النوع *T.campestre* على أربعة مركبات هي (Salicylic acid، Genttistic acid، Gallic acid، Syringic acid).

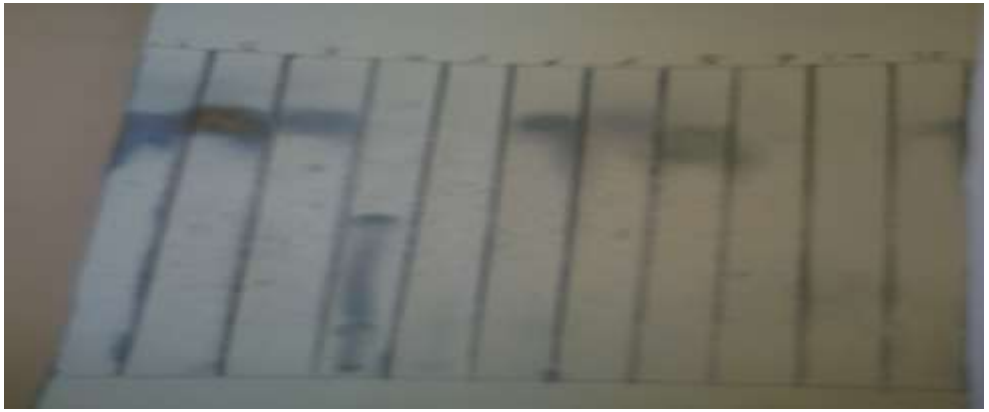
تم الأعتماد على الأشكال (3,2.1) في تحديد المركبات الفينولية المشخصة استنادا الى معدل الجريان لكل منها ومقارنتها مع البحوث والأدبيات فضلا عن تطبيق هذه التقنية على12 مركبا تم تحضيرها مسبقا واجريت عليها هذه التقنية لغرض الحصول على معدلات الجريان ومقارنتها مع المعدلات التي حصلنا عليها، اذ تم من خلال الشكل (1) قياس معدل الجريان ل12 نوعا من المركبات الفينولية المحضرة باستخدام تقنية TLC واعتمادها في تشخيص المركبات الفينولية التي حصلنا عليها من خلال تطبيق نفس التقنية على عشرين نوعا من المستخلصات النباتية، بينما تم اكمال تشخيص (27) نوعا من المركبات الفينولية في المستخلصات النباتية المدروسة عن طريق مقارنة البقع المفصولة بمعدلات الجريان من خلال الأطلاع على البحوث والأدبيات المنشورة. اما الجدول (4) فيبين البقع المفصولة وقيم Rf للمركبات الفينولية المشخصة بتقنية TLC باستخدام الكلوروفورم وحامض الخليك.

الجدول (3): المركبات الفينولية المشخصة باستعمال تقنيةTLC في المستخلص الخام للأيثانول للعينات النباتية المدروسة باستخدام المذيب (BAW) كوسط ناقل.

Table (3): Explain the evidence of phenolic compounds in crude plants species studied by using TLC technique (BAW).

Thymol	Salicylic acid	Catichin	Rutin	Ferulic acid	Apicatecen	Apigenin	Kaempferol	Esuliten	Lutleolin	Catichol	Ellagic acid	Syringic acid	myricetin	Quercetin	Herniaren	Gallocathechin	Vanillin	Epiafzelechin	Afzelechin	Resorcinol	Hydroquinon	Phenol	P- Hydroxy benzoic acid	Gallic acid	Cinnamic acid	Comarin	المركبات Compounds / الأنواع Species
	×					×		×	×			×									×						*Lactuca orientalis*
							×							×		×				×					×	×	*Lactuca scariola*
	×													×		×					×				×		*Centaurea pallescens*
×	×			×							×			×											×		*Centaurea solstitialis*
×	×				×					×						×					×						*Centaurea calcitrapa*
×						×									×			×			×			×		×	*Hordeum glaucum*
	×												×	×									×				*Hordeum bulbosum*
	×	×							×	×	×							×			×			×			*Trifolium purpurium*
×	×					×					×			×		×											*Trifolium campestri*
	×				×					×	×			×	×	×											*Trifolium pallascens*
	×			×		×	×				×	×		×	×		×										*Onobrychis crista -galli*
×	×	×			×		×		×					×		×		×									*Onobrychis caput-galli*
×	×				×						×			×		×									×		*Thymus kotschyanus*
×	×				×	×								×	×			×									*Thymus syriacus*

Thymol	Salicylic acidl	Catichin	Rutin	Ferulic acid	Apicatecen	Apigenin	Kaempferol	Esuliten	Lutleolin	Catichol	Ellagic acid	Syringic acid	myricetin	Quercetin	Herniaren	Gallocathechin	Vanillin	Epiafzelechin	Afzelechin	Resorcinol	Hydroquinon	Phenol	P- Hydroxy benzoic acid	Gallic acid	Cinnamic acid	Comarin	المركبات Compounds / الأنواع Species
×	×	×		×							×			×											×		*Salvia officinalis*
×	×													×					×								*Salvia aegyptiaca*
	×													×								×					*Crataegus monogyna*
×								×			×			×	×	×					×							*Crataegus azarolus*
		×	×	×							×											×		×			*Quercus infectoria*
	×										×			×													*Quercus aegilops*



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Figure (1): Standard phenolic compoundsn by using HPLC technique

الشكل (1) يبين استخدام تقنية TLC للمركبات القياسية

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

الشـكل (2): تقنيــة TLC للكشــف عــن المركبــات الفينوليــة فــي المســتخلص الكحــولي باســتخدام المــذيب BAW (n-butanol: acetic acid: water 4 :1 :5) وسط ناقل واستخدام اليود كمادة مظهرة

Figure (2): Evidence of phenolic compounds in crude plants species studied by BAW (n-butanol: acetic acid: water 4:1:5) using Ioiden I_2 indicater.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20

الشـكل (3): تقنيــة TLC للكشــف عــن المركبــات الفينوليــة فــي المســتخلص الكحــولي باســتخدام المــذيب BAW (n-butanol: acetic acid: water 4 :1 :5) وسط ناقل ومحلول فولن والأمونيا كمواد مظهرة.

Figure (3): Evidence of phenolic compounds in crude plants species studied by BAW (n-butanol: acetic acid: water 4 :1 :5) using ammonia and folen indicater.

بعد أن تم حساب قيم معدل الجريان Rf للمركبات الفينولية المفصولة وكما هي موضحة في الجدول (3) والتي قورنت مع قيم معدل جريان المركبات القياسية التي تم تحضيرها سابقا والتي حصلنا عليها من البحوث والأدبيات تم تشخيص المركبات الاتية:

Salicylic acid, Vanillin, Catechol, Gallic acid, p – Hydroxybenzoic acid Resorcenol,) Coumarin, Phenol, Cinnamic acid, Rutin, Quercetin, Kaempferol, Hydroquinone, Syringic acid, Ellagic acid, Myricetin, Apigenin, Ferulic acid, Lutelen, Catiechin, (Thymol ،Afzelechin, Epiafzelechin) Esuliten, Apicathichin, Gallocatechin, Herniaren, ويوضح الجدول (3) وجود اختلافات كبيرة بين أنواع الجنس الواحد في المركبات الكيميائية مما يعد تصنيفا

كيميائيا إضافيا وتعزيزا للتصنيف المظهري والتشريحي والخلوي اذ يوضح تواجد المركبات في الأنواع النباتية، وفيما ياتي تفصيل للمركبات الكيميائية المفصولة والمشخصة للأنواع النباتية المدروسة.

الجدول (4): يبين قيم Rf للمركبات الفينولية المشخصة في تقنية TLC لمستخلص الايثانول للعينات النباتية المدروسة باستخدام المذيب كلوروفورم: حامض الخليك كوسط ناقل

Table (4) Explain value of Rf for chemical compounds identified by using TLC for ethanol extract for plant samples by using chloroform and acetic acid solvent.

Hydroquinune	Protocatechuic	Syrringic acid	Genttistic acid	Salicylic acid	P-Hydroxy benzoic acid	Gallic acid	المركبات Compounds / الأنواع Species
							Lactuca orientalis
				0,88			*Lactuca scariola*
				0,89	0,51	0,04	*Centaurea pallescens*
							Centaurea solstitialis
				0,90			*Centaurea calcitrapa*
0,18			0,37			0,05	*Hordeum glaucum*
							Hordeum bulbosum
						0,05	*Trifolium purpurium*
		0,74	0,38	0,89		0,06	*Trifolium campestri*
				0,90		0,05	*Trifolium pallascens*
				0,90	0,52		*Onobrychis crista -galli*
				0,89	0,53		*Onobrychis caput-galli*
0,18	0,18			0,88		0,06	*Thymus kotschyanus*
							Thymus syriacus
	0,13					0,06	*Salvia officinalis*
							Salvia aegyptiaca
						0,05	*Crataegus monogyna*
	0,14			0,90			*Crataegus azarolus*
						0,06	*Quercus Infectoria*
						0,05	*Quercus aegilops*

أ- الحشائش والأعشاب: يتبين من الجدول (3) وجود اختلافات بين المركبات الفينولية ضمن الجنس الواحد وبين الأنواع مع اشتراك عدد من الأنواع النباتية ضمن الجنس الواحد في عدد من المركبات الكيميائية وكان مركبا (Quercetin، Salicylic acid) الأكثر تواجدا في جنسين من العائلة البقولية *Fabaceae* والمتمثلة بجنس *Trifolium* و جنس *Onobrychis* وهناك جنسان من العائلة الشفوية *Lamiaceae* والمتمثلة بجنس الزعتر *Thymus*, وشمل نوعين *Thymus kotschyanus* و *T. syriacus*، و جنس ال *Salvia* والذي تمثل بنوعين، الميرمية *Salvia officinalis* و *S. aegyptiaca*،، وفيما يتعلق بالعائلة المركبة *Asteraceaee* فقد تم اختيار جنسين متمثلة بخمسة أنواع نباتية الجنس الأول هو الخس البري *Lactuca* اذ تم اختيارنوعين الأول *Lactuca orientalis* والثاني *L. scariola* تم تشخيص ستة مركبات كيميائية في النوعين الأول والثاني

واختلف النوعان في المركبات الفينولية المشخصة مما يمكن عده إحدى الأسس التشخيصية والتصنيفية للنوع، أمـا الجـنس الثـاني لهـذه العائلـة فتمثـل بجـنس ال *Centaure*a والـذي تمثـل بـثلاث أنـواع وهـي *Centaurea pallescens* و*C . solstitialis* و *C. calcitrapa*، احتوى النوع الأول على خمسة أنواع من المركبات الفينولية،اشترك النوع الأول والثاني في ثلاثة انواع من المركبات هي (Cinnamic acid، Quercetin، Salicylic acid)، واحتوى النوعان الثاني والثالث على ستة مركبات فينولية واشترك النوع الثالث مع النوع الأول في (Salicylic acid،Gallocathechin, Hydroquinon) وتم تشخيص عشرة انواع من المركبات الفينولية للأنواع الثلاثةوهي (Hydroquinone، Cinnamic acid, Apicatichin, Ellagic acid, Ferulic acid,Salicylic acid,(Thymol ، Gallocatechin،Quercetin, Catechol واشتركت الأنواع الثلاثة في مركب Salicylic acid بينما لم تشخص مركبات أخرى بسبب عدم الحصول على المركبات القياسية، أما العائلة النجيلية *Poaceae* فقد تمثلت بجنس الشعير البري *Hordeum* أظهرت النتائج وجود اختلافات بين النوعين النوع الأول الشعير البري*Hordeum glaucum* والنوع الثاني الشعير البصلي *H. bulbosum* اذ شخصت سبعة مركبات فينولية في النوع الأول أما النوع الثاني فقد تم تشخيص اربعة مركبات فينولية اذ تعد هذه المركبات مركبات تشخيصية وتصنيفية للتمييزبين النوعين، أما العائلة البقولية *Fabaceae*والمتمثلة بجنسين هما جنس النفل *Trifolium* وجنس الكطب *Onobrychis*،فقد احتوى الجنس الأول على ثلاثة انواع وهي *Trifolium purpureum* و *T. campestre*والنوع *T. palaestina* اظهرت النتائج وجود ثمانية مركبات كيميائية في النوع الأول وستة مركبات في النوع الثاني وسبعة مركبات في النوع الثالث، وكانت المركبات المشتركة بين الأنواع الثلاثة (Salicylic acid، Ellagic acid) واشترك النوعان الأول والثالث في مركب (Catechol)، بينما اشترك االثاني والثالث في مركبات(Ellagic adid, Salicylic acid,Gallocathechin و Quercetin) ويعد الاختلاف في وجود هذه المركبات بين الأنواع النباتية لجنس ال *Trifolum* خير دليل على إمكانية اعتمادها في التشخيص والتمييز بين الأنواع، الجنس الثاني للعائلة البقولية وهو الكطب *Onobrychis* اظهر اختلافا بين النوعين في تواجد المركبات الفينولية فقد تم تشخيص تسعة مركبات فينولية في النوعين *Onobrychis crista-galli* و *Onobrychis caput-galli* وكانت المركبات المشتركة بين النوعين هي (Salicylic acid، Kaempferol، Quercetin).

فيما يتعلق بالعائلة الشفوية *Lamiaceae* تم تشخيص سبعة مركبات كيميائية لنوعي الزعتر *Thymus kotschyanus* و *Thymus syriacus* وكانت المركبات المشتركة بين النوعين (Quercetin، Salicylic acid، Thymol و Apicatichin) أما جنس ال*Salvia* فقد تم تشخيص سبعة مركبات في النوع الأول الميرمية *Salvia officinalis* بينما تم تشخيص اربعة أنواع في النوع الثاني *Salvia aegyptiaca* وكانت المركبات المشتركة للنوعين (Quercetin, Salicylic acid، Thymol). ان تواجد هذا العدد من المركبات الفينولية في نبات الميرمية يعزز الفوائد الطبية الكبيرة لهذا النوع، وكذلك فان الاختلافات في المركبات الفينولية تعد خير دليل على إمكانية استخدام التصنيف الكيميائي لتشخيص الأنواع المختلفة داخل الجنس الواحد.

ب- الأشجار والشجيرات:- تم اختيار عائلتين من الأشجار الغاباتية، الأولى هي العائلة الوردية *Rosaceae* متمثلة بجنس الزعرور*Crataegus* اذ تم اختيار نوعين: *Crataegus monogyna* و*Crataegus azarolus* و العائلة الثانية هي الزانية *Fagaceae* وتمثلت بجنس البلوط والذي شمل نوعين الأول*Quercus infectoria* والثاني *Quercus aegilops*، ويبين الجدول (3) انه في النوع الأول من الزعرور تم تشخيص ثلاثة أنواع من المركبات الفينولية وهي Phenol، Quercetin, Salicylic acid،أما النوع الثاني فتضمن وجود سبعة مركبات مشخصة وهي (Quercetin، Esuliten، Gallocataechin، Herniaren، Ellagic acid,Thymol، Hydroquinon) وكان مركب ال Quercetin مشترك بين النوعين، بالنسبة للعائلة الزانية *Fagaceae* جنس البلوط فأظهرت النتائج وجود ستة مركبات فينولية مشخصة في نوع البلوط *Quercus infectoria* من ضمنها مركب (Rutin) والذي يشخص قبل إجراء عملية التحليل الحامضي وبقيت الأنواع الأخرى كلايكوسيدات مجهولة علما أن هذا النوع لم نقم باجراء التحليل الحامضي عليه، أما النوع *Quercus aegilops* فقد احتوى على ثلاثة مركبات وهي (Salicylic acid، Quercetin, Ellagic acid) اما الجدول (4) فيبين ان نوع الزعرور *Crataegus monogyna* قد احتوى على المركب Gallic acidواحتوى النوع *Crataegus azarolus* على مركبين فينوليين هما(Protocatechuic acid، Salicylic acid)، أما نوعا البلوط *Quercus infectoria* والثاني *Quercus aegilop* فقد احتويا على المركب Gallic acid.

إن هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه العديد من الباحثين منهم احسان (1985)، Alessandro (1989)، Al-Daodi (1998)، الرجبـو (2004)، النائـب (2008)، Niina وآخـرون (2009)، التكـاي (2012) والهاشـمي (2012) والـذين اثبتـوا أهميـة هـذه النباتـات طبيـا نتيجـة احتوائهـا علـى المركبـات الفينوليـة المتوقعـة وحسب البحوث المنشورة.

STUDY OF TAXONOMICAL AND IDENTIFICATION FROM SOME PHENOLIC FOR SOME PLANT SPECIES GROWING AT ATRUSH REGION NORTHERN IRAQ USING THIN LAYER TECHNIQUE

A. Y. S. Al-Naman[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 / Uni. of Mosul.
[3] Science Dept. / College of Science / Uni. of Mosul.
E-mail: Shareefadeeba@yahoo.com

ABSTRACT

This study was carried out in the laboratory of college of agriculture and forestry to identifying the phenolic compounds for twenty kinds of plants used in plant identification, The crude lipid free extract was prepared by using soxhlet and Petroleum ether and Ethanol as a solvent, Thin layer technique was used for determine phenolic compounds in the extract. The results showed the isolation of 27 phenol compounds including Salicylic acid, Vanillin, Catechol, Gallic acid, p–Hydroxybenzoic acid Resorcenol, Coumarin, Phenol, Cinnamic acid, Rutin, Quercetin, Kaempferol, Hydroquinone, Syringic acid, Ellagic acid, Myricetin, Apigenin, Ferulic acid, Lutelen, Catiechin, Afzelechin, Epiafzelechin) Esuliten, Apicathichin, Gallocatechin, Herniaren, Thymol (phenolic compounds between the species, Salicylic acid was the purulent.

The results were showed many differences in the number and rates of Salicylic acid, Vanillin, Catechol, Gallic acid, p – Hydroxybenzoic acid Resorcenol,, Coumarin, Phenol, Cinnamic acid, Rutin, Quercetin, Kaempferol, Hydroquinone, Syringic acid, Ellagic acid, Myricetin, Apigenin, Ferulic acid, Lutelen, Catiechin, Afzelechin, Epiafzelechin) ،Esuliten, Apicathichin, Gallocatechin, Herniaren, Thymol)

The result showed many differences in phenolic compounds in the Genus and between the species and semelirty of species in same Genus in some of phenolic compounds (Salicylic acid, Quercetin) were the purulent in *Fabaceae* family (*Trifolium, Onobrychis) Genus*, also the result showed differences between *(Hordeum bulbosum, H. glaucum) in Poaceae* family,some differences showed between *(Quercus aegilops, Q. infectoria) in Fagaceae* family, the result appeared many differences in kind and number and percentage of phenolic compounds between species in chemical compounds could be used as an indicator for plant identification

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

Received: 23/4/2013, Accepted: 27/5/2013.

المصادر

إحسان، سعد علي (1985). دراسة كيميائية للزيوت الطيارة في اربعة انواع 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 السبحبح L. *Melia azedarach*، اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة والغابات جامعة الموصل.

الحمداني، رعد اسماعيل ومقداد توفيق العارف (1990). الكيمياء العضوية المتقدمة، مطابع التعليم العالي، جامعة الموصل، العراق، ص 236.

الرجبو، مها أكرم محمد علي (2004). دراسة تأثير مستخلصات نبات الزعتر *Thymus sp.* على بعض الفطريات، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

علي، طلال طه، قحطان العلوي، أنور عبد الحميد و فيصل العمري (2010). أطلس الغابات في الوطن العربي (الوضع الراهن للغابات وأهم ألأنواع ألشجرية في المنطقة العربية، المنظمة العربية للتنمية الزراعية.

الكاتب، يوسف منصور (2000). تصنيف النباتات البذرية، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق.

لفته، عبد الله حمد (1988) دراسة تصنيفية لجنس *Plantago* (*Plantaginaceae*) في العراق، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة البصرة.

المشهداني، عذيه ناهي (1992). دراسة مقارنه لأنواع الجنس Onosma L (Boraginaceae)، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة بغداد.

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

المنديل، فتحي عبدالله (2010). مقاربة الصفات ذات ألأهمية المظهرية والتشريحية والكيماوية بعض النباتات المائية في نهر دجلة في محافظة نينوى، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

النائب، إسراء محمد عبد الله (2008). التأثير التثبيطي لمستخلصات نبات الكركديه ونبات السماق والمضادات الحيوية في بعض أنواع الجراثيم، رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.

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

Al-Daody, A. Ch. (1998). Chemical Study On Some Iraqi plants.ph.D Thesis, Science College, Mosul Univ. Iraq.

Alessandro, (1989), Medicinal, aromatic and culinary herbs *Agricularal Research Center of Finland,* 4: 305 -330.

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, Stracture 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 *Joensuu Finland.*

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

Robbert, W.O.; B.M. Helmut, G.; Attilio.; 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.Titt 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.*