Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 29, No: 3, 2020 (157-177)

Determination of Phenolic Compounds in Leaves for Some Cultivars of Pyrus malus L. and Pyrus communis L. Cultivated in North of Iraq and Identification by Using HPLC and Spectral Characters

Muna O. M. Shehab[1*], Amer M. M. Al-Ma'thidy[2]

[1,2]Department of Biology, College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

E-mail: [1*]muna@uomosul.edu.iq, [2]dr.amer@uomosul.edu.iq

(Received May 07, 2020; Accepted June 09, 2020; Available online September 01, 2020)

DOI: 10.33899/edusj.2020.127061.1068, © 2020, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract:

The present work identified (8) cultivars belonging to the species *Pyrus malus* L. that included ("EarlyGold", "GrannySmith", "Royal Cala", "Red Delicious", "Golden Delicious", "Honey Crisp", "Mcintosh" and Cox") as well as (6) Cultivars of the species *Pyrus communis* L. namely ("Coneference", Decana", "Bonica", "Alkhatuni","Alothmani" and "William) by using spectral and chemical characteristics. The spectral study showed that different λmax appeared among all the cultivars of the species, and the result of chemical study identified (7) phenolic compounds in alcoholic extracts of leaves by using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) including (Apigenin, Kaempferol, Catichen, Rutin, Luteolin, Quercetin and Coumarin) using (7) standard compounds for comparison among the cultivars. The compounds Apigenin, Kaempferol, Catichen, Leuteolin and Quercetin found in all cultivars of the species *Pyrus communis* L. while Rutine, Leuteolin, Quercetin and Coumarin found in all cultivars of the species *Pyrus malus* L. but Kaempferol compound found only in "Early Gold", "Royal Cala" and "Honey Crisp". The cultivar "EarlyGold" showed that lowest concentration of the compound Rutin (1.13) µg/g and highest concentration of the compound Quercetin (685.96) µg/g.

The spectral and chemical characters showed a good taxonomic value in identification and separation the cultivars of the two species.

Keyword: *Pyrus malus* L., *Pyrus communis* L., Cultivars, North of Iraq, Spectral, Chemical characters.

تقدير المركبات الفينولية في أوراق بعض أصناف التفاح .Pyrus malus L والكمثرى Pyrus communis L. المزروعة في شمال العراق وتشخيصها باستخدام HPLC والصفات الطيفية

منى عمر محمد شهاب[1*]، عامر محسن محمود المعاضيدي[2]

[1و2]قسم علوم الحياة، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

تضمن البحث الحالي تشخيص (8) أصناف تابعة للنوع *Pyrus malus* L. وهي ("EarlyGold" و"GrannySmith" و"RoyalCala" و"Red Delicious" و"Golden Deliciou" و"Honey Crisp" و"Mcintosh" و"Cox") و(6) أصناف تابعة للنوع *Pyrus communis* L. وهي ("Coneference" و"Decana" و"Bonica" و"Alkhatuni" و"Alothmani" و"William") باستخدام الصفات الطيفية والكيميائية، أظهرت الدراسة الطيفية بجهاز المطياف الضوئي UV Spectrophotometer وجود تباين في قيمة الامتصاصية max للمستخلص الكحولي لجميع أصناف النوعين، وشخصت الدراسة (7) مركبات فينولية Phenolic compounds باستخدام تقانة كراماتوكرافيا السائل عالي الاداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) باستعمال (7) مركبات قياسية للمقارنة بين الأصناف. وقد تباينت هذه المركبات في تواجدها باختلاف الأصناف اذ شخصت المركبات Apigenin، Kaempferol، Catichen، Luteolin، Quercetin، في جميع أصناف الكمثرى *P.communis* L. في حين المركبات Rutin و Leuteolin و Quercetin و Coumarin تم تشخيصها في جميع أصناف التفاح *P.malus* L. في حين أن المركب Kaempferol وجد في الأصناف "Early Gold" و"Royal Cala" و"Honey Crisp".

تميز الصنف "EarlyGold" بامتلاكه اقل تركيز للمركب Rutin اذ بلغ (1.13) مايكروغرام/غرام بالمقارنة مع المركبات الأخرى كما سجل أعلى تركيز للمركب Quercetin وبلغ (685.96) مايكروغرام/غرام مما عزز حالة انعزاله بشكل واضح عن بقية الأصناف المدروسة. وتشير الصفات الطيفية والكيميائية بانها ذات قيمة تصنيفية مهمة في تشخيص وعزل أصناف النوعين.

الكلمات الدالة: *Pyrus malus* L.، *Pyrus communis* L.، الاصناف، شمال العراق، الصفات الطيفية والكيميائية.

المقدمة Introduction

تعد الخصائص الكيميائية مؤشراً للعلاقات بين المراتب التصنيفية المختلفة اكثر من الخصائص المظهرية وهي تظهر ارتباطاً عالياً مع الصفات الاخرى وتكون على جانب من الاهمية في رسم العلاقات الواسعة بين المراتب التصنيفية المختلفة ولكن لا يمكن اعتمادها دليلاً تصنيفياً وحيداً بعيداً عن الادلة الاخرى [1].

ومن المركبات الكيميائية التي حظيت باهتمام كبير من قبل علماء التصنيف هي الفلافونويدات Flavonoides باعتبارها احد مركبات التمثيل الغذائي الثانوي وبسبب نسبتها العالية في النباتات وثباتها وسهولة استخلاصها فضلاً عن اهميتها الطبية والاقتصادية [2]. توجد الفلافونويدات عادة في الاوراق والازهار والثمار والبذور وهي مركبات مهمة لتقييم العلاقة التطورية Evolutionary relationships بين المراتب التصنيفية [3، 4].

وتعد الـ Flavonoides أكبر مجموعة معروفة بين مجاميع المركبات الفينولية التي يزيد عددها على (1000) مركب وهي من المركبات الفينولية الاكثر انتشاراً في الاوراق [5]. وتعد الفلافونويدات من المركبات المهمة لاستعمالها في العلاجات الدوائية [6]. تقدمت اسس تقسيم النبات في استخدام الصفات الكيميائية وذلك لتقدم طرق الفصل الدقيق للمركبات وكان اساسها الكشف عن مركبات معينة للتمييز بين المراتب التصنيفية المختلفة Taxa وقد استعملت تراكيز المركبات الفينولية للتمييز بين انواعها [7]. كما اكد Musawi [8] ان المواد الكيميائية في النباتات تسهم اسهاماً فعالاً في الطبيعة في تحديد مذاق وطعم النباتات التي توجد فيها وفي احيان كثيرة يمكن تمييز النوع والضرب بطعم هذه النباتات بصرف النظر عن أية صفة اخرى.

وقد تعددت الدراسات لتحديد وتشخيص المركبات الفينولية بمختلف انواعها لدورها الكبير في تحديد وتصنيف مختلف الكائنات الحية ولكونها من المواد الايضية الاكثر انتشاراً في الطبيعة [9]. وعليه فقد ركزت العديد من الدراسات على استخلاص وتحديد ومعرفة تراكيز هذه المركبات [10، 11، 12].

ذكر Bubueanu و Pavaloiu [13] ان استخدام (HPLC) و(TLC) هي واحدة من الطرق البسيطة التي توفر معلومات مهمة بشأن التركيب الكيميائي والتعرف على المركبات الفينولية في النباتات حيث تم تحليل أربعة أنواع من ضمنها *Malus pumila* و*Pyrus communis* L. وهذه الأنواع يستخدم جزء منها لغرض التغذية والعلاج منها ثمار التفاح والكمثرى.

ينتمي الجنس *Pyrus* L. الى العائلة الوردية Rosaceae والتي يبلغ عدد اجناسها (122) جنسا ونحو (3370) نوعا، لها في القطر العراقي (19) جنسا و(50) نوعا والمزروع منها اقتصاديا (39) نوعا، ومن الاجناس الشائعة في هذه العائلة هي جنس *Pyrus* و*Prunus*، *Rosa* يضم الجنس *Pyrus* كل من التفاح والكمثرى [8، 14].

ويعد التفاح *P. malus* L, والكمثرى *P. communis* L. التابعين للعائلة الوردية من انواع الفاكهة ذات القيمة الغذائية والاقتصادية المهمة في هذه العائلة، حيث يعتبر التفاح من اشهر ثمار المناطق المعتدلة من حيث الاهمية وسعة الزراعة، موطنه الاصلي غرب اسيا وشرق اوربا وقد زرعه الانسان قبل اكثر من 3000 سنة عرف منه اكثر من 22 شكلاً في العهد الروماني. [14] اما الكمثرى فيزرع في اكثر من 50 دولة في المناطق المعتدلة ويعتبر من اهم اشجار الفاكهة في شرق اسيا، اوربا، شمال امريكا لأكثر من 300 سنة [15، 16].

ونظرا لدخول عدد من اصناف التفاح والكمثرى المستوردة إلى العراق وزراعتها فضلا عن اهميتها الاقتصادية والطبية ولكثرة الاختلافات بينها تم التوجه إلى دراسة هذه الاصناف والتي شملت:

التباين الطيفي المعتمدة على اجهزة الاشعة فوق البنفسجية أو تحت الحمراء منها جهاز المطياف الضوئي UV Spectrophotometer وتشخيص بعض المركبات الفينولية فيها باستعمال تقانة كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

اعتمدت الدراسة على العينات الطرية والمجففة للأوراق التي جمعت من خلال الجولات الحقلية خلال فترة التزهير من مواقع مختلفة في شمال العراق في محافظتي نينوى ودهوك لعامي 2018 و2019 إذ تم جمع العينات لـ (8) أصناف من التفاح *P.malus* L. وهي إيرلي كولد "EarlyGold "، كراني سميث "Granny Smith"، رويال كالا "Royal Cala"، ريد ديليشيص "Red Delicious"، كولدن ديليشيص "Golden Delicious"، هوني كريسب "Honey Crisp"، ماكنتوش "Macintosh" وكوكس "Cox".

و(6) اصناف للكمثرى *P. communis* L. كونفرس "coneference"، ديكانا "Decana"، بونيكا "Bonica"، الخاتوني "Alkhatuni"، العثماني "Alothmani" ووليم "William" والعائدة لجنس الـ *Pyrus* المستزرعة في العراق، والمصنفة حسب الشركة العامة للبستنة والغابات ومحطة بستنة زاخو ومحطة بستنة عقرة.

اولا: تقدير الطيف الامتصاصي

أجريت هذه الدراسة في مختبرات كلية التربية للعلوم الصرفة (وحدة البحوث) حيث تمت الدراسة الطيفية الكيميائية باستعمال جهاز الاشعة فوق البنفسجية UV spectrophotometer شركة SHIMADZU موديل UV-1800 المنشأ ياباني، حضر المستخلص الكحولي المراد قياس اعلى امتصاصية له على النحو الآتي حسب طريقة Ciser [17] وAl-Rajab وجماعته [18]:

1. تحضير مستخلص من الكلورفيل بوزن 0.3 غرام من عينة الورقة مع التأكد أن العينة تشمل جميع الالوان المختلفة على الورقة.
2. تمزيق الورقة إلى قطع صغيرة ووضعت في هاون خزفي.
3. اضافة 10 مل من الايثانول إلى كل عينة وطحنها بالمدقة حتى تبقى اجزاء صغيرة من انسجة الورقة.
4. اضافة 20 مل اضافياً من الايثانول إلى الهاون.
5. تصفية هذا السائل في دورق من خلال قمع بخنر الحاوي على ورق ترشيح من نوع (Whatmann No.1).

6. وضع الراشح في انابيب (tubes) لجهاز الطرد المركزي (Centrifuge- CL008) 3000 دورة/ دقيقة لمدة (10) دقائق بعدها يؤخذ الراشح ويهمل الراسب.
7. وضع جزء من الراشح في الحاويات الكوارتز الخاصة بجهاز الاشعة فوق البنفسجية Spectrophotometer والمدى كان من (400– 800) نانوميتر وبحرارة غرفة مقدارها 25م° والذي يعد منطقة مرئية وفوق بنفسجية تم رسم الامتصاصات مقابل الاطوال الموجية.

ثانيا: تشخيص المركبات الفينولية باستعمال جهاز (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography

1. تحضير المستخلصات الكحولية الخام .Preparation of Crude Alcoholic Extracts

اتبعت طريقة الباحث Grand وجماعته [19] في تحضير المستخلص الايثانولي والمحورة على الطريقة الاساسية لـ Verport وجماعته [20] وذلك بمزج (5)غرام من المسحوق النباتي في 50 مل من الكحول الاثيلي وبتركيز 95% داخل حمام ثلجي وباستخدام جهاز المحرك الكهربائي Stirrer ولمدة (10) ساعات بعدها ترك المزيج في الثلاجة لمدة (24) ساعة للنقع، رشح بعد ذلك بعدة طبقات من الشاش ومرر خلال قمع بخنر الحاوي على ورق ترشيح (Whatmann No.1) واخذ الراشح وتم تبخير الايثانول باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary Vacum Evaporator المجهز من شركة (Electrothermal) اذ يعمل الجهاز على اساس التبخير تحت ضغط مخلخل ودرجة حرارة لا تزيد عن (40)م واخذت الطبقة المتكونة من المستخلص الخام بعد التبخير اذ تم الحصول على (2)غرام وتحفظ بالتجميد في قناني معقمة ذات غطاء محكم لحين استخدامها في الدراسة

2. التحلل الحامضي للمستخلص الكحولي Acid hydrolysis

بالاعتماد على طريقة الباحث Harbone [21] وباستخدام (200) مل من حامض الهيدروكلوريك (HCL) وبتركيز (2) مولاري بوصفه مذيباً لـ(2)غرام من المستخلص الكحولي لأوراق التفاح والكمثرى اذ يتم تسخين المزيج في حمام مائي بدرجة(90–100) م ولمدة نصف ساعة مع التحريك يبرد المزيج بعد ذلك ويضاف (100مل×2) خلات الاثيل ويفصل بواسطة قمع الفصل، نلاحظ تكون طبقتين الطبقة العليا تمثل خلات الاثيل الحاوية على الحوامض الفينولية الحرة ويتم تركيزها باستخدام جهاز المبخر الدوار ثم يحفظ الراسب المتكون بعد اضافة (3) مل من الميثانول اليه اما الطبقة السفلى فهي الطبقة المائية ويعاد اضافة خلات الاثيل لها في قمع الفصل وجمع الطبقة العضوية الصلبة منها، بعد الحصول على مستخلص المركبات الفينولية يحفظ في علبة محكمة السد لحين اجراء تشخيص لها.

ارسلت عينات المستخلص الفينولي لأصناف النوعين قيد الدراسة الى مختبرات وزارة العلوم والتكنولوجيا/دائرة البيئة والمياه/ بغداد وتم فصلها حسب طريقة Mardu وجماعته [22]، إذ تم حقن (20) مايكروليتر من كل عينة والمحلول القياسي Standards بمعدل جريان 1 مل/دقيقة ولمدة (10)دقائق باستعمال جهاز HPLC المستخدم من نوع (SYKMN) الالماني المنشأ، وسجلت النسبة المئوية للمساحة (Area%) التي تشير الى نسبة كل مكون فينولي في المستخلص، واستخدمت المركبات القياسية الفينولية وهي: Apigenin، Kaempferol، Catichen، Rutin، Leuteolin، Quercetine و Cumarine، الموضحة صيغتها الكيميائية وزمن الاحتباس لها Retention time في الجدول (1) والشكل (1). والتي تم تحضيرها بإذابة 0.1 مل من المركب القياسي في 10مل من الايثانول وتم الفصل باستخدام طور متحرك (A وB)

A: (Methanol: D.W:Acetic Acid (85:13:2)ml.
B: (Methanol: D.W:Acetic Acid (25:70:5)ml.

مواصفات جهاز HPLC المستخدم :

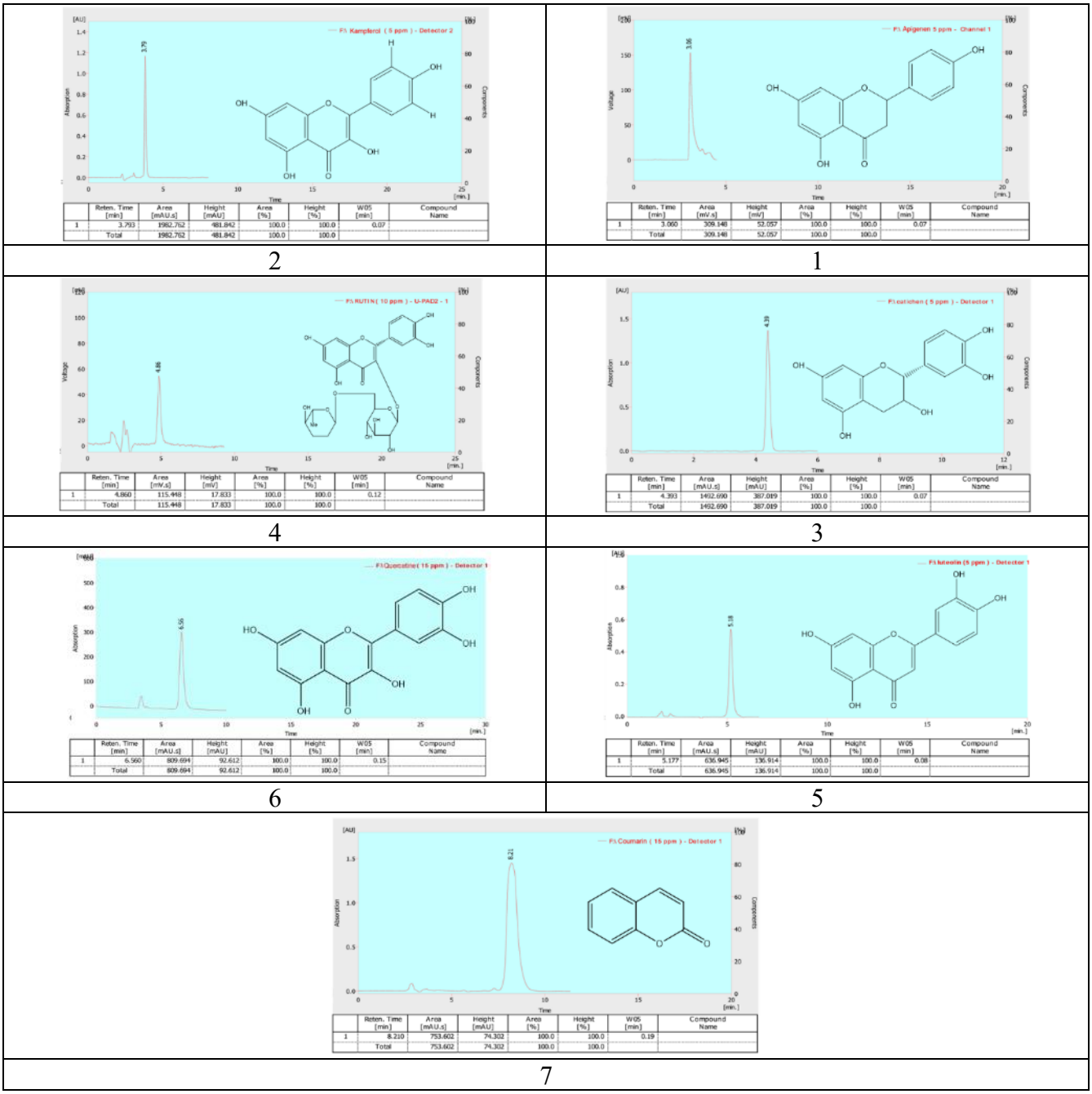
Auto sampler model:5200, Detector: UV (S2340), Pump model: S2100 Quaternary Gradient, Column is: C18-ODS (25CM*4.6mm), Detector: UV-360nm, Flow rate= 1ml/min

وتم حساب تراكيز ال المركبات الفينولية حسب المعادلة الاتية: [23].

$$\text{Concentration of sample } \mu g/l = \frac{area\ of\ sample}{area\ of\ standard} \times \text{conc.of standard} \times \text{dilution factor}$$

جدول (1) زمن الاحتباس للمركبات القياسية بتطبيق تقنية HPLC عليها

ت	المركبات القياسية	زمن الاحتباس Retention time
1	Apigenin	3.06
2	Kaempferol	3.79
3	Catichen	4.39
4	Rutin	4.86
5	Luteolin	5.18
6	Quercetin	6.56
7	Coumarin	8.21



2 | 1

4 | 3

6 | 5

7

الشكل (1): الصيغة الكيميائية ومنحني المركبات القياسية: 1. Apigenin 2. Kaempferol 3. Catichen 4. Rutin 5. Leuteolin 6. Quercetine 7. Cumarine

النتائج والمناقشة Results and Discussion

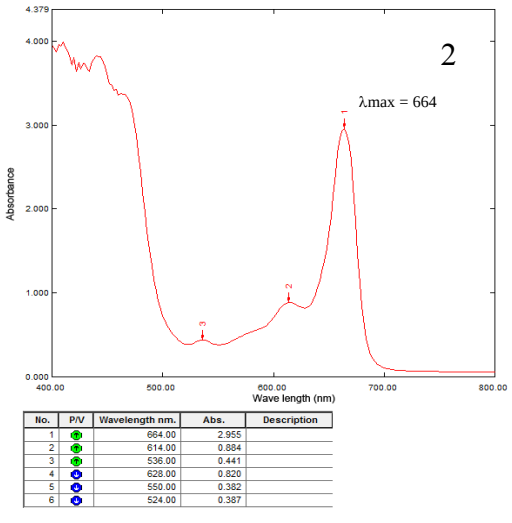
1. الدراسة الطيفية

اختلفت قيم λ max الذي يمثل أعلى قمة امتصاص لمستخلصات اصناف التفاح والكمثرى كما هو موضح بالجدول (2) والشكل (2) اذ بلغت أعلى قيمة امتصاصية (3.830) عند الطول الموجي (408) نانوميتر في الصنف "William" وأقلها في صنف "Al khatuni" وبلغت (1.178) عند طول موجي (664) نانوميتر، وتعد تلك القيم من الثوابت الفيزيائية التي ممكن ان تدعم وتسند

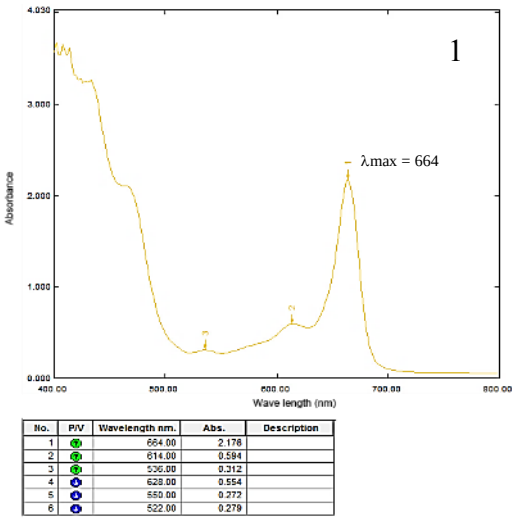
الصفات الاخرى في تصنيف النبات، ويمكن استغلال هذا الفرق الطيفي في التفريق والفصل بين الانواع والاصناف النباتية، وهذه النتائج تتفق مع Al-Rajab وجماعته [18]؛ Sayuf [24] الذين اشاروا إلى وجود اختلافات في الصفات الطيفية لمستخلصات الاوراق في نباتات مختلفة.

الجدول (2) أعلى امتصاصية عند طول موجي معين لاصناف التفاح والكمثرى المدروسة بأستخدام جهاز UV Spectrophotometer

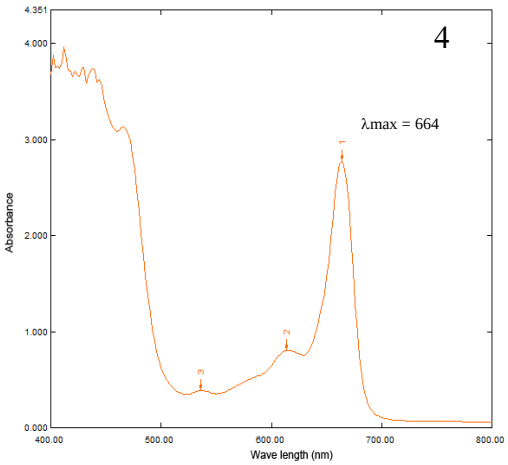
ت	النوع	الأصناف	اعلى امتصاص Abs	Wavelength (nm)
1	*Pyrus malus* L.	"Early Gold"	2.176	664.00
2		"Granny Smith"	2.955	664.00
3		"Royal Cala"	2.453	664.00
4		"Red Delicious"	2.778	664.00
5		"Golden Delicious"	2.690	664.00
6		"Honey Crisp"	2.923	664.00
7		"Mcintosh"	2.571	664.00
8		"Cox"	2.490	664.00
9	*Pyrus communis* L.	"Coneference"	1.733	664.00
10		"Decana"	2.234	664.00
11		"Bonica"	3.125	664.00
12		"Alkhatuni"	1.178	664.00
13		"Alothmani"	2.675	664.00
14		"William"	3.830	408.00



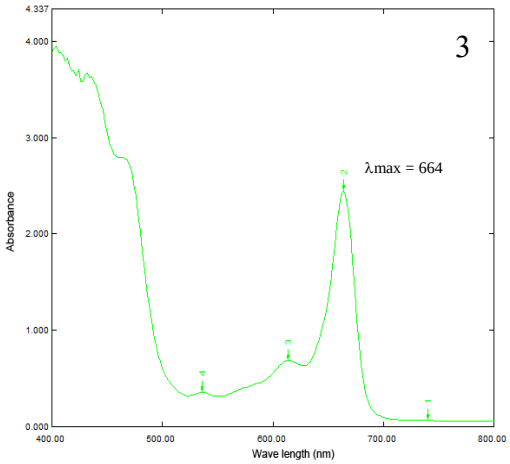
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	664.00	2.955	
2	P	614.00	0.884	
3	P	536.00	0.441	
4	V	628.00	0.820	
5	V	550.00	0.382	
6	V	524.00	0.387	



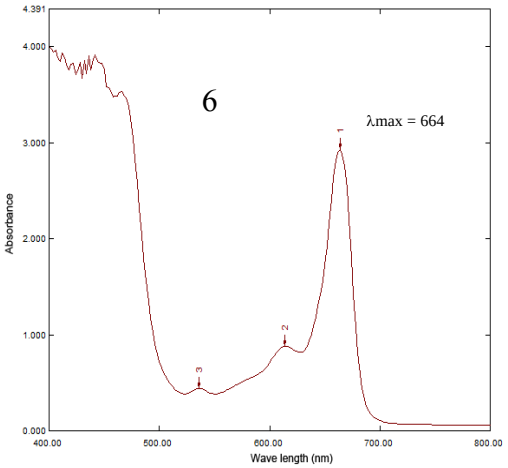
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	664.00	2.176	
2	P	614.00	0.594	
3	P	536.00	0.312	
4	V	628.00	0.554	
5	V	550.00	0.272	
6	V	522.00	0.279	



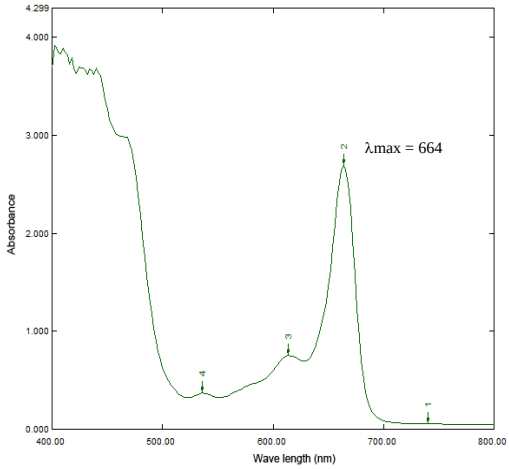
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		664.00	2.778	
2		614.00	0.806	
3		536.00	0.388	
4		628.00	0.755	
5		550.00	0.352	
6		522.00	0.345	



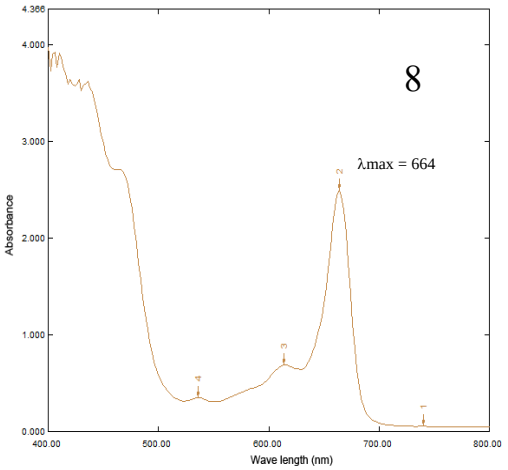
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		740.00	0.064	
2		664.00	2.453	
3		614.00	0.683	
4		536.00	0.361	
5		732.00	0.063	
6		628.00	0.637	
7		550.00	0.314	
8		524.00	0.321	



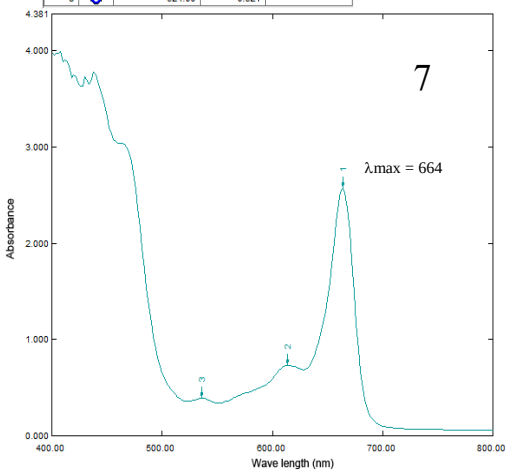
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		664.00	2.923	
2		614.00	0.878	
3		536.00	0.441	
4		628.00	0.818	
5		550.00	0.385	
6		522.00	0.383	



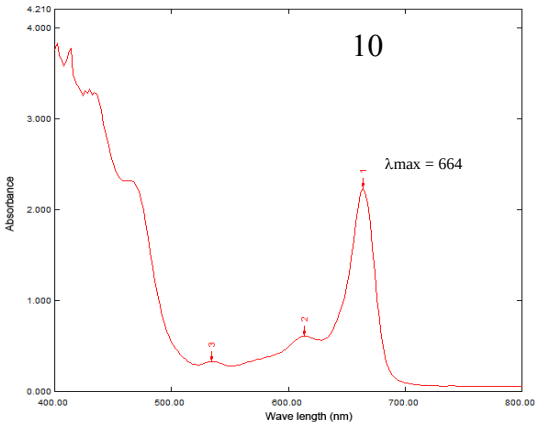
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		740.00	0.056	
2		664.00	2.690	
3		614.00	0.750	
4		536.00	0.369	
5		732.00	0.055	
6		628.00	0.695	
7		550.00	0.322	
8		524.00	0.321	



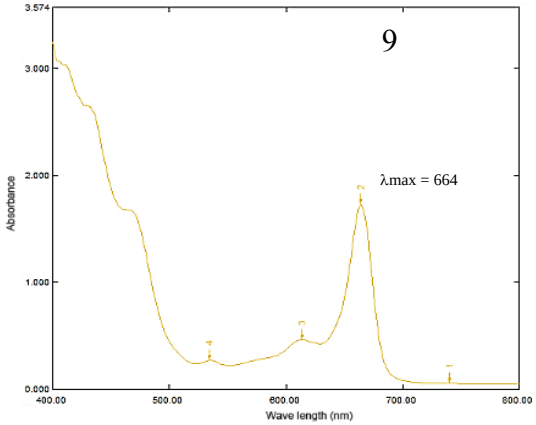
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		740.00	0.054	
2		664.00	2.490	
3		614.00	0.688	
4		536.00	0.348	
5		792.00	0.047	
6		732.00	0.053	
7		628.00	0.641	
8		550.00	0.307	
9		524.00	0.313	



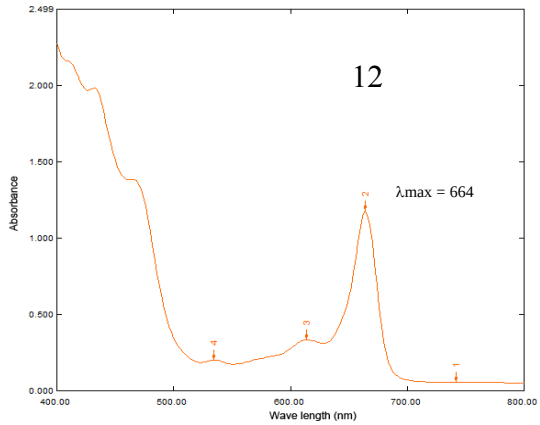
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1		664.00	2.571	
2		614.00	0.732	
3		536.00	0.389	
4		628.00	0.686	
5		550.00	0.343	
6		524.00	0.357	



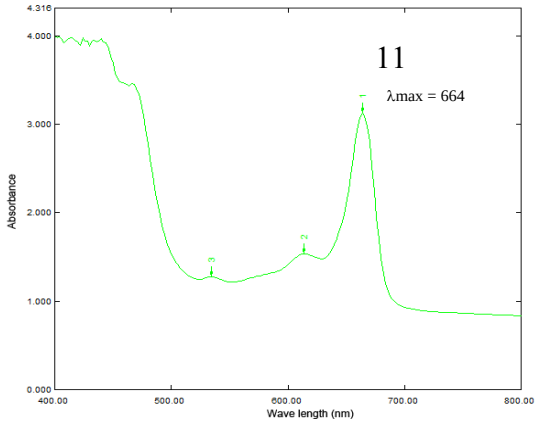
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	664.00	2.234	
2	P	614.00	0.607	
3	P	534.00	0.330	
4	V	628.00	0.564	
5	V	550.00	0.280	
6	V	522.00	0.293	



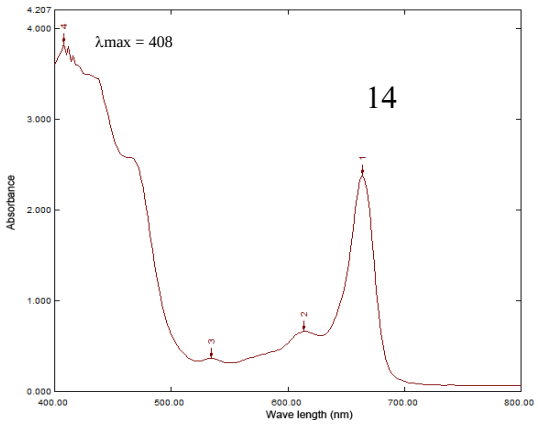
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	740.00	0.054	
2	P	664.00	1.733	
3	P	614.00	0.461	
4	P	534.00	0.267	
5	V	732.00	0.052	
6	V	628.00	0.424	
7	V	552.00	0.220	
8	V	522.00	0.238	



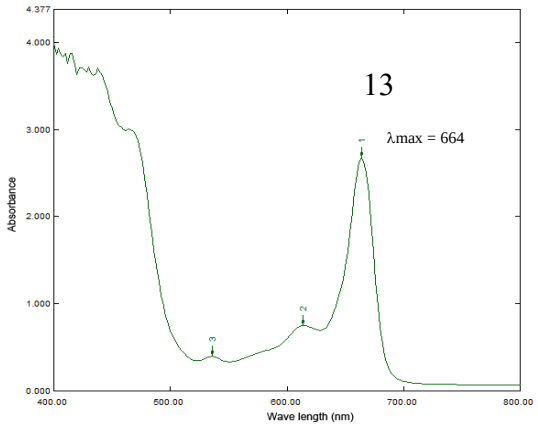
No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	742.00	0.058	
2	P	664.00	1.178	
3	P	614.00	0.334	
4	P	534.00	0.201	
5	V	730.00	0.056	
6	V	628.00	0.311	
7	V	550.00	0.175	
8	V	524.00	0.185	



No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	664.00	3.125	
2	P	614.00	1.535	
3	P	534.00	1.277	
4	V	628.00	1.480	
5	V	552.00	1.215	
6	V	524.00	1.247	



No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	664.00	2.387	
2	P	614.00	0.662	
3	P	534.00	0.367	
4	P	408.00	3.830	
5	V	628.00	0.616	
6	V	550.00	0.314	
7	V	522.00	0.333	



No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	P	664.00	2.675	
2	P	614.00	0.748	
3	P	536.00	0.395	
4	V	628.00	0.692	
5	V	550.00	0.334	
6	V	522.00	0.345	

الشكل (2): طيف الامتصاص λmax لاصناف التفاح والكمثرى المدروسة

" .6"Golden Delicious" .5 "Red Delicious".4 "Royal Cala" .3 "Granny Smith" .2 "Early Gold" .1
.13 "Alkhatuni" .12 " Bonica" .11"Decana" .10 "Coneference" .9 "Cox" .8 "Mcintosh" .7 HoneyCrisp"
. "William".14 "Alothmani"

2. المركبات الفينولية phenolic compounds

أظهرت نتائج تحليل كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء (HPLC) لمستخلصات اوراق الاصناف المدروسة تغايرا من حيث محتواها من المركبات الفينولية وتركيزها، اذ تم تشخيص سبعة مركبات تعود الى مجاميع فينولية Phenolic groups مختلفة وذلك استناداً للمركبات القياسية Standard compounds المستخدمة كما هو موضح في الجدول (3 و4) والشكل (3) وهذه المركبات هي:

1) Apigenin: وجد هذا المركب الفلافونويدي في اصناف الكمثرى "Coneference" و"Decana" و"Bonica" و"Alkhatuni" و"Alothmani" و"William".
2) Kaempferol: وهو من الفلافونويدات ظهر في "Early Gold" و"Royal Cala" و"HoneyCrisp" و"Coneference" و"Decana" و"Bonica" و"Alkhatuni" و"Alothmani" و"William".
3) Catichen: من المركبات الفينولية البسيطة سجل هذا المركب حضوراً في جميع أصناف النوع L. *P. communis* ولا وجود له في اصناف النوع *P.malus L.*
4) Rutin: وجد هذا المركب الفلافونويدي في أصناف التفاح "Gold Early" و "Granny Smith" و"RoyalCala" و"Red Delicious" و"Golden delicious" و"Honey Crisp" و"Mcintosh" و"Cox"
5) Luteolin: سجل هذا المركب الفلافونويدي حضوراً واسعاً في جميع اصناف النوعين المدروسة.
6) Quercetin: وجد هذا المركب ايضاً في جميع اصناف التفاح والكمثرى قيد الدراسة.
7) Coumarin: وهو من المركبات الفينولية وهو موجود في جميع اصناف التفاح ولا يسجل حضوراً في أصناف الكمثرى، الاختلافات بين الاصناف في المحتوى الكيميائي تعد دليلا على امكانية احتوائها مؤشرا تصنيفيا تدعم الدراسات التصنيفية الأخرى وأيضاً وجود مركبات فينولية في أصناف محددة دون غيرها في حين أن مركبات أخرى موجودة في أصناف اخرى، أي اختلف تواجدها باختلاف الاصناف والانواع، وهذا ينسجم مع ما توصل اليه Samuel وLuchsinger [25]، Al-Ma'thidy و Al-Ramdhani [26] الذين اثبتوا وجود عدد من المركبات الكيميائية في بعض الأنواع وعدم وجودها في انواع اخرى التي اعتمد عليها في التصنيف الكيميائي لوجودها المطلق في جميع النباتات الراقية وسهولة فصلها وتشخيصها، إذ سجل المركب الفلافونويدي Apigenin والمركب الفينولي Catichen وجوداً في جميع أصناف الكثمرى المدروسة ولا وجود لهما في أصناف التفاح قيد الدراسة، على العكس من ذلك سجل المركب الفلافونويدي Rutin والمركب الفينولي Coumarin حضوراً في جميع أصناف التفاح ولا وجود له في أصناف الكمثرى، وكان لهذا الاختلاف في تواجد المركبات الفينولية والفلافونويدية لأصناف النوعين المدروسة أهمية تصنيفية كبيرة في عزلهما، وتبين ايضاً أن وجود المركب الفلافونويدي Luteolin والفينولي Quercetin في جميع أصناف التفاح والكمثرى المدروسة دليل على أنها أنواع تعود لجنس واحد ويدل على وجود صلة قرابة بينهما ورابطة تطورية مشتركة بين أنواع الجنس من حيث خصائصها الكيميائية مما يعزز كونها عائدة إلى مرتبة تصنيفية واحدة، وتتفق مع ما أشار اليه Bubueanu وPavaloiu [13] ؛ Song وجماعته [27] واللذان اثبتا وجود المركبات الفينولية في اوراق التفاح والكمثرى وبنسب عالية، أما التغاير الذي لوحظ في المركب الفلافونويدي kaempferol بين اصناف التفاح المدرسة كما هو موضح في الجدول (3 و4) قد يعزى إلى إرتباطها بالنظام الجيني ولهذا فهي تعطي مؤشرات تصنيفية مهمة لكونها ليست مركبات أولية ومن ثم توفر معطيات جديدة لدراسة علاقة النباتات بعضها بالبعض الأخر وهذا ما اكده Harborne [28].

اما من حيث تراكيز المركبات الفينولية والفلافونودية في اوراق الاصناف المدروسة تباينت تبعاً لتباين الاصناف كما هو مبين في الجدول (5)، فالمركب Apigenin سجل أعلى تركيز له في صنف "Alothmani" وبلغ (259.58) مايكروغرام/ غرام أما اقل تركيز له فكان (75.17) مايكروغرام /غرام سجل في الصنف "Decana"، أما مركب Kaempferol فقد بلغ أعلى تركيز له (108.89) مايكروغرام/ غرام في صنف "Alkhatuni" واقل تركيز بلغ (10.79) مايكروغرام/غرام في الاصناف "Early Gold" و"RoyalCala" و"Honey Crisp"، وبالنسبة للمركب Catichen فقد بلغ اعلى تركيز له (49.23) مايكروغرام/غرام وذلك في صنف "Alkhatuni" اما أقل تركيز فكان في الصنف "Coneference" وبلغ (20.04) مايكروغرام/ غرام، وفيما يخص المركب Rutinفقد اعطى اعلى تركيز في الصنف "Golden Delicious" وبلغ (203.04) مايكروغرام/ غرام واقل تركيز ظهر في صنف "Early Gold" وبلغ (1.13) مايكروغرام/غرام، المركب الفلافونويدي Luteolin سجل أعلى تركيز له في "Alothmani" وبلغ (185.35) مايكروغرام/غرام اما أقل تركيز فسجل في الصنف "Granny Smith" بلغ (1.44) مايكروغرام/غرام، وكذلك الحال بالنسبة للمركب Quercetin الذي بلغ أعلى تركيز (685.96) مايكروغرام/غرام في الصنف "Early Gold" وأقل تركيز بلغ (30.79) مايركوغرام/غرام في الصنف "Royal Cala"، اما المركب الفينولي Coumarin فأعطى اعلى تركيز في الصنف "Early Gold" وبلغ (182.49) مايكروغرام/غرام في حين أن اقل تركيز له سجل في الصنف "Granny Smith" الذي بلغ (6.74) مايكروغرام/غرام.

إن التباين في تركيز المركبات الفينولية قد يعزى إلى تأثر أوراق وثمار التفاح والكمثرى بالزراعة، ومرحلة النضج، وموسم النمو، والعوامل البيئية، والمنطقة الجغرافية، وهذا ما اكده العديد من الباحثين [29، 30، 31].

الجدول (3) قيم زمن الاحتباس Retention time (RT) للمركبات الكيميائية التي ظهرت في تقنية HPLC لأصناف التفاح والكمثرى المدروسة.

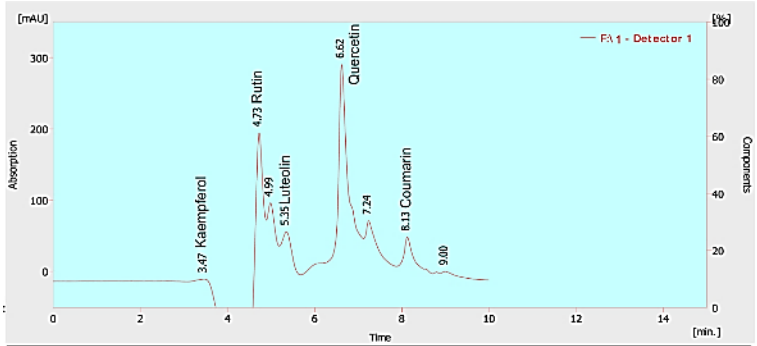
ت	النوع	الاصناف	المركبات القياسية						
			1	2	3	4	5	6	7
1	*Pyrus malus* L.	"Early Gold"	–	3.47	–	4.73	5.35	6.62	8.13
2		"Granny Smith"	–	–	–	4.73	5.36	6.62	8.13
3		"Royal Cala"	–	3.47	–	4.73	5.35	6.62	8.13
4		"Red Delicious"	–	–	–	4.73	5.35	6.62	8.13
5		"Golden Delicious"	–	–	–	4.73	5.35	6.62	8.13
6		"Honey Crisp"	–	3.47	–	4.73	5.35	6.62	8.13
7		"Mcintosh"	–	–	–	4.73	5.36	6.62	8.13
8		"Cox"	–	–	–	4.73	5.36	6.62	8.13
9	*Pyrus communis* L.	"Coneference"	3.11	3.67	4.31	–	5.16	6.77	–
10		"Decana"	3.13	3.66	4.32	–	5.13	6.73	–
11		"Bonica"	3.10	3.85	4.32	–	5.14	6.77	–
12		"Alkhatuni"	3.13	3.66	4.32	–	5.13	6.73	–
13		"Alothmani"	3.11	3.67	4.31	–	5.16	6.77	–
14		"William"	3.10	3.85	4.32	–	5.14	6.77	–

الجدول (4) توزيع المركبات الكيميائية في اصناف التفاح والكمثرى المدروسة

Coumarin	Quercetin	Leuteolin	Rutin	Catichen	Kaempferol	Apigenin	الأصناف	النوع	ت
+	+	+	+		+		"Early Gold"	*Pyrus malus* L.	1
+	+	+	+				"Granny Smith"		2
+	+	+	+		+		"Royal Cala"		3
+	+	+	+				"Red Delicious"		4
+	+	+	+				"Golden Delicious"		5
+	+	+	+		+		"Honey Crisp"		6
+	+	+	+				"Mcintosh"		7
+	+	+	+				"Cox"		8
	+	+		+	+	+	"Coneference"	*Pyrus communis* L.	9
	+	+		+	+	+	"Decana"		10
	+	+		+	+	+	"Bonica"		11
	+	+		+	+	+	"Alkhatuni"		12
	+	+		+	+	+	"Alothmani"		13
	+	+		+	+	+	"William"		14

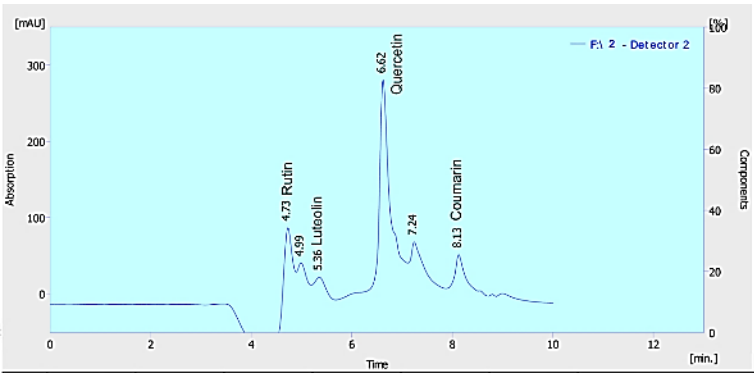
الجدول (5) تراكيز المركبات الفينولية في اوراق أصناف التفاح والكمثرى المدروسة مقاسة باالمايكروغرام/غرام.

تركيز المركبات							الأصناف	النوع	ت
Coumarin	**Quercetin**	**Leuteolin**	**Rutin**	**Catichen**	**Kaempferol**	**Apigenin**			
182.49	685.96	91.85	1.13	0	10.79	0	"Early Gold"	***Pyrus malus* L.**	1
6.74	51.62	1.44	97.26	0	0	0	"Granny Smith"		2
9.37	30.79	2.95	136.55	0	10.79	0	"Royal Cala"		3
28.33	59.98	2.46	199.14	0	0	0	"Red Delicious"		4
14.02	42.38	4.36	203.04	0	0	0	"Golden Delicious"		5
7.77	31.75	4.75	73.17	0	10.79	0	"Honey Crisp"		6
8.27	44.96	2.58	82.97	0	0	0	"Mcintosh"		7
28.05	72.91	5.04	128.99	0	0	0	"Cox"		8
0	185.54	51.36	0	20.04	15.49	171.33	"Coneference"	***Pyrus communis* L.**	9
0	220.35	33.63	0	30.64	25.34	75.17	"Decana"		10
0	172.99	59.34	0	26.70	50.18	186.36	"Bonica"		11
0	275.94	54.11	0	49.23	108.89	162.20	"Alkhatuni"		12
0	268.79	185.35	0	48.25	63.87	259.58	"Alothmani"		13
0	256.13	110.39	0	26.70	37.64	179.49	"William"		14



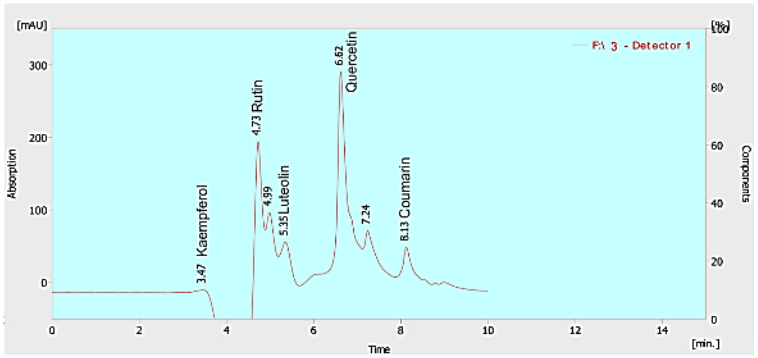
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.467	1426.708	43.984	4.2	3.2	0.60	
2	4.727	4350.716	312.131	12.8	22.9	0.26	
3	4.987	3260.173	208.757	9.6	15.3	0.30	
4	5.353	3900.244	160.905	11.5	11.8	0.49	
5	6.623	12342.490	370.277	36.3	27.1	0.25	
6	7.240	4290.354	138.310	12.6	10.1	0.76	
7	8.127	3056.060	97.600	9.0	7.2	0.76	
8	8.997	1376.376	31.886	4.0	2.3	1.27	
	Total	34003.122	1363.851	100.0	100.0		

1



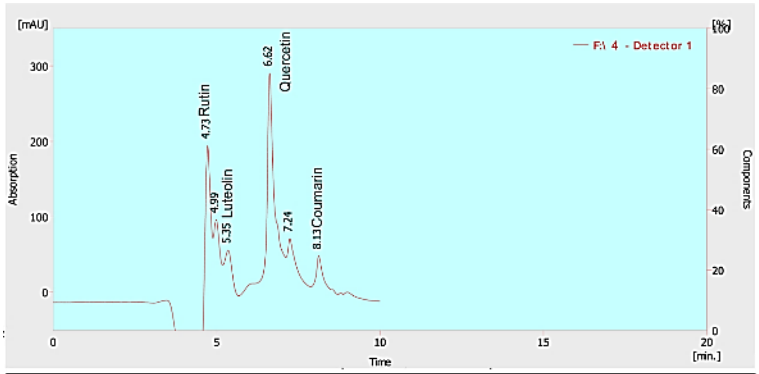
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	4.727	319.277	50.999	19.9	21.3	0.12	
2	4.990	121.449	15.856	7.6	6.6	0.12	
3	5.357	109.805	11.930	6.8	5.0	0.16	
4	6.620	808.939	117.437	50.4	49.0	0.10	
5	7.240	108.253	19.792	6.7	8.3	0.10	
6	8.127	138.562	23.505	8.6	9.8	0.11	
	Total	1606.285	239.519	100.0	100.0		

2



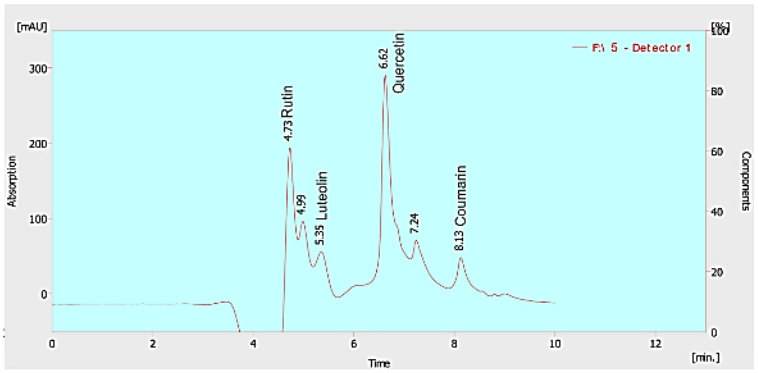
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.467	1426.708	43.984	45.4	14.4	0.60	
2	4.727	525.501	82.075	16.7	26.8	0.10	
3	4.987	216.705	30.256	6.9	9.9	0.11	
4	5.353	125.237	16.821	4.0	5.5	0.13	
5	6.623	554.154	87.186	17.6	28.5	0.08	
6	7.240	139.796	22.077	4.4	7.2	0.11	
7	8.127	156.942	24.050	5.0	7.8	0.11	
	Total	3145.044	306.449	100.0	100.0		

3



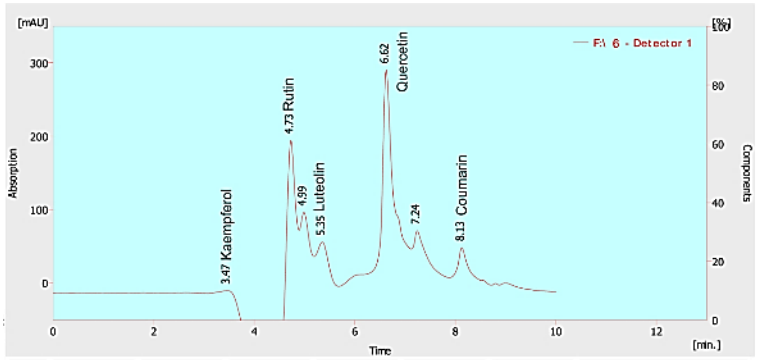
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	4.727	766.346	113.033	29.1	30.9	0.12	
2	4.987	110.317	18.924	4.2	5.2	0.09	
3	5.353	104.713	14.249	4.0	3.9	0.12	
4	6.623	1079.162	162.262	41.0	44.3	0.12	
5	7.240	97.144	18.265	3.7	5.0	0.09	
6	8.127	474.500	39.282	18.0	10.7	0.16	
	Total	2632.183	366.014	100.0	100.0		

4



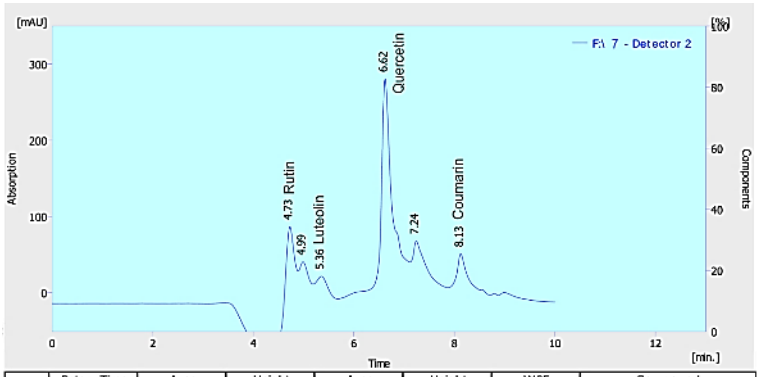
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	4.727	781.369	109.924	32.2	33.0	0.12	
2	4.987	251.854	32.123	10.4	9.7	0.12	
3	5.353	185.018	21.324	7.6	6.4	0.15	
4	6.623	762.464	113.236	31.5	34.0	0.10	
5	7.240	208.310	26.106	8.6	7.8	0.12	
6	8.127	234.812	29.937	9.7	9.0	0.13	
	Total	2423.827	332.649	100.0	100.0		

5



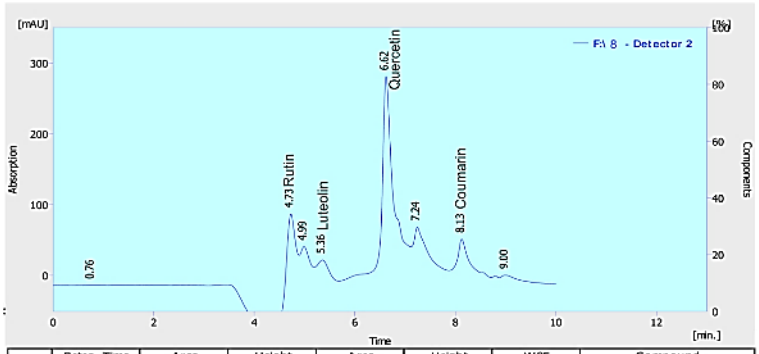
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.467	1426.708	43.984	51.4	16.9	0.60	
2	4.727	281.598	48.690	10.1	18.7	0.07	
3	4.987	68.089	15.546	2.5	6.0	0.08	
4	5.353	201.614	19.840	7.3	7.6	0.14	
5	6.623	571.266	93.612	20.6	35.9	0.09	
6	7.240	95.669	16.610	3.4	6.4	0.09	
7	8.127	130.202	22.329	4.7	8.6	0.11	
	Total	2775.146	260.571	100.0	100.0		

6



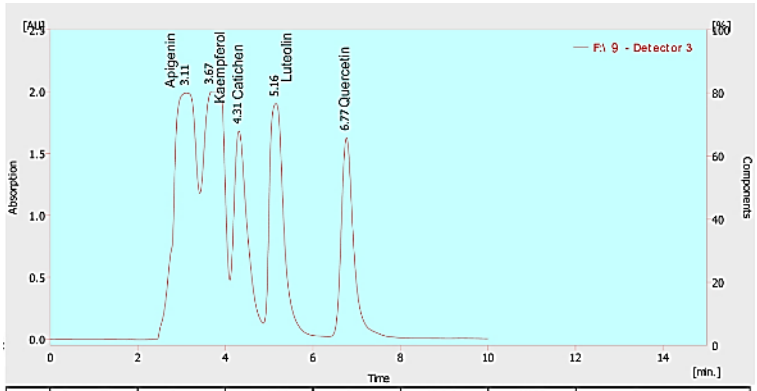
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	4.727	319.277	50.999	19.9	21.3	0.12	
2	4.990	121.449	15.856	7.6	6.6	0.12	
3	5.357	109.805	11.930	6.8	5.0	0.16	
4	6.620	808.939	117.437	50.4	49.0	0.10	
5	7.240	108.253	19.792	6.7	8.3	0.10	
6	8.127	138.562	23.505	8.6	9.8	0.11	
	Total	1606.285	239.519	100.0	100.0		

7



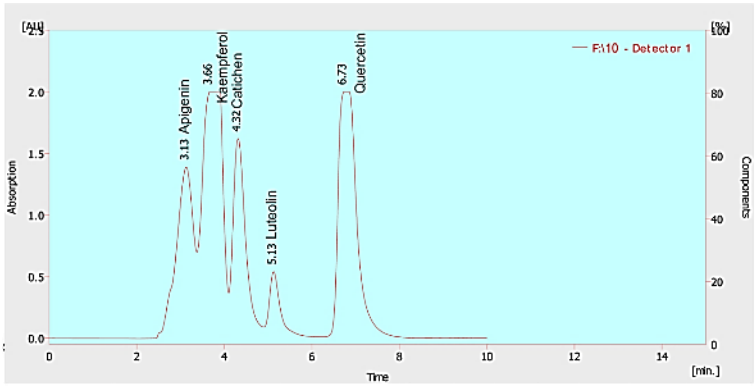
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	0.760	0.730	0.026	0.0	0.0	0.01	
2	4.727	496.394	66.429	16.1	19.0	0.14	
3	4.990	148.467	18.121	4.8	5.2	0.13	
4	5.357	214.260	17.220	7.0	4.9	0.21	
5	6.620	1311.982	168.020	42.6	48.0	0.12	
6	7.240	366.749	33.135	11.9	9.5	0.15	
7	8.127	469.827	42.485	15.2	12.1	0.16	
8	8.997	73.583	4.875	2.4	1.4	0.20	
	Total	3081.991	350.312	100.0	100.0		

8



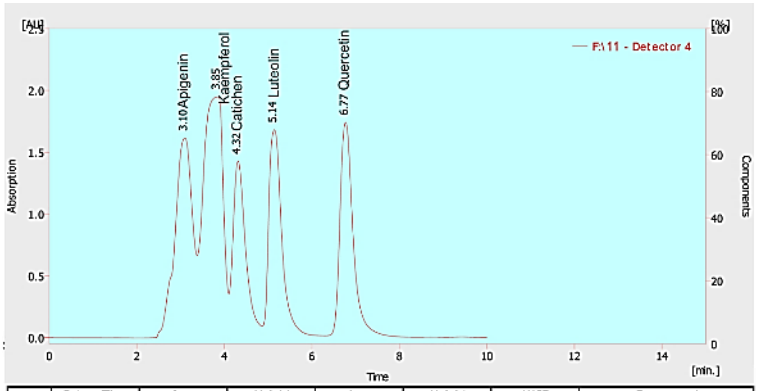
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.113	3531.224	201.357	27.0	16.7	0.33	
2	3.670	2048.444	130.520	15.6	10.8	0.32	
3	4.313	1994.639	234.448	15.2	19.5	0.11	
4	5.160	2181.098	206.617	16.7	17.2	0.15	
5	6.770	3338.602	430.494	25.5	35.8	0.13	
	Total	13094.008	1203.436	100.0	100.0		

9



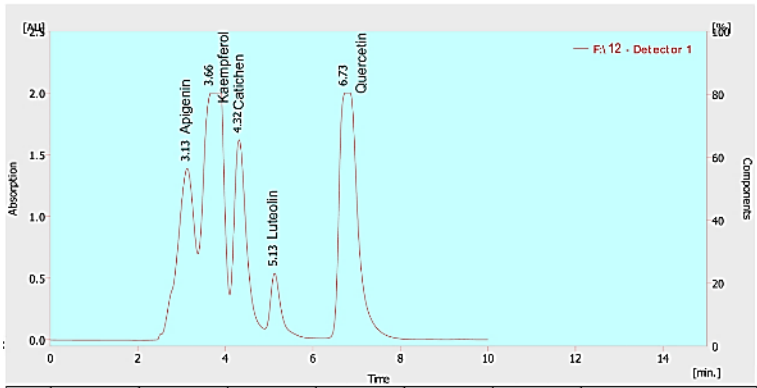
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.127	1549.278	193.129	11.6	17.7	0.14	
2	3.660	3349.350	66.248	25.1	6.1	0.29	
3	4.317	3048.687	401.897	22.9	36.9	0.14	
4	5.127	1427.883	196.777	10.7	18.1	0.13	
5	6.730	3964.761	230.345	29.7	21.2	0.24	
	Total	13339.959	1088.396	100.0	100.0		

10



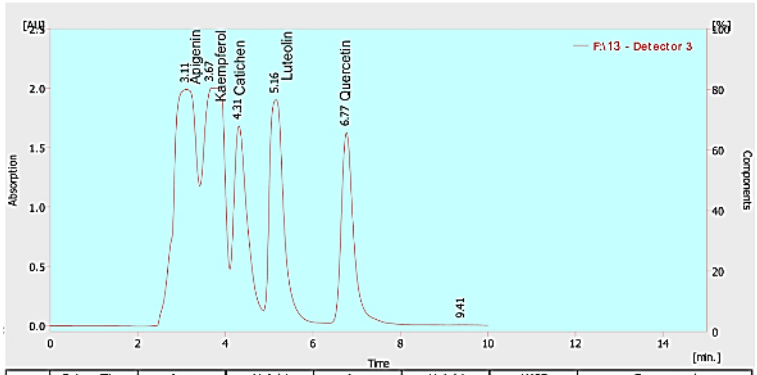
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.097	3840.825	346.392	20.5	18.8	0.20	
2	3.847	6632.557	451.434	35.3	24.5	0.33	
3	4.317	2657.406	344.883	14.2	18.7	0.13	
4	5.140	2519.725	308.816	13.4	16.8	0.15	
5	6.773	3112.716	389.900	16.6	21.2	0.14	
	Total	18763.228	1841.425	100.0	100.0		

11



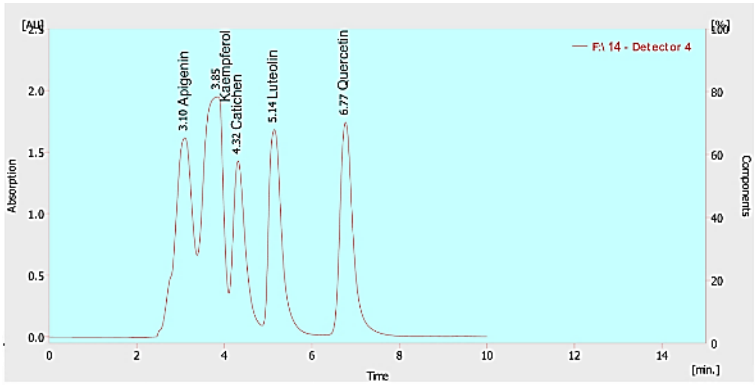
	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.127	3342.965	314.012	11.2	16.1	0.18	
2	3.660	14394.173	654.924	48.1	33.5	0.40	
3	4.317	4898.647	518.145	16.4	26.5	0.15	
4	5.127	2297.654	246.085	7.7	12.6	0.15	
5	6.730	4964.972	222.344	16.6	11.4	0.24	
	Total	29898.411	1955.510	100.0	100.0		

12



	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.113	5349.922	277.839	17.1	12.2	0.34	
2	3.670	8442.843	291.429	26.9	12.8	0.36	
3	4.313	4801.402	531.720	15.3	23.4	0.16	
4	5.160	7870.697	624.568	25.1	27.5	0.22	
5	6.770	4836.337	543.589	15.4	23.9	0.15	
6	9.407	58.420	2.127	0.2	0.1	0.39	
	Total	31359.621	2271.272	100.0	100.0		

13



	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	3.097	3699.341	325.739	17.9	17.0	0.20	
2	3.847	4974.821	342.186	24.1	17.9	0.31	
3	4.317	2657.406	344.883	12.9	18.0	0.13	
4	5.140	4687.431	420.850	22.7	22.0	0.15	
5	6.773	4608.628	480.767	22.3	25.1	0.15	
	Total	20627.629	1914.426	100.0	100.0		

14

الشكل (3) منحنى المركبات الفينولية المشخصة لاصناف التفاح والكمثرى المدروسة

.1"Early Gold" .2 "Granny Smith" .3 "Royal Cala".4 "Red Delicious" .5"Golden Delicious" .6 " HoneyCrisp" .7 "Mcintosh" .8 "Cox" .9 "Coneference" .10 "Decana" .11 " Bonica" .12 "Alkhatuni" .13 "Alothmani".14 "William".

الاستنتاجات Conclusion

1. شخصت العديد من المركبات الفينولية في أوراق بعض أصناف التفاح .*P.malus* L والكمثرى .*P.communis* L.
2. اعلى تركيز للمركب Quercetin هو (685.96) مايكروغرام/غرام واقل تركيز للمركب Rutin هو (1.13) مايكروغرام/غرام سجل في الصنف "EarlyGold".
3. عدم وجود مركب Apigenin وCatichen في أصناف التفاح والمركب Rutin وComarin في أصناف الكمثرى والمركب Kaempferol في الأصناف "GrannySmith" و"Red Delicious" و"Golden Delicious و"Mcintosh" و"Cox".
4. الطرق الطيفية مجدية في تشخيص الأصناف.
5. استخدام تقنية HPLC لتحديد المركبات وتراكيزها ونسبها المئوية.

المصادر

[1] Davis, P. H. and Heywood, V. H., Principles of Angiosperms taxonomy. Olive and Boyd, Edenburgh and London, 556 pp. (1973).

[2] Mehrotra, R.; Ahmed, B.; Vishwakarma, R. A. and Thakur, R.S., J. Nat. prodpittsburgh. Pa 52(3) P, 640- 643 (1989).

[3] Rizk, A. M., The phytochemistry of the flora of Qatar. Scientific and Applied Resarch center. University of Qatar. 582 pp. (1986).

[4] Al-Mashadani, A.N.; A comparative study of *Onosma* L. (Boraginaceae) In Iraq, Ph.D. Dissertation, College of Sciences, University of Baghdad (1992). (In Arabic).

[5] Mullen, W.; McGinn, J.; Lean, M. E. and Gardenar, P., J. Agric. Food chem. Aug. 28. 50(18): 5191- 5196 (2002).

[6] Calderon- Montano, J. M., Rev. Med. chem., 11(4): 298- 344 (2011).

[7] Al- Aroussi, H. and Wassfi, W., "Plant kingdom". Modern Knowledege Library/ Alexandria university: 9- 10 (2007).

[8] Al-Musawi, A.H., "Plant Taxonomy", Dar Al-Kutub for Printing and Publishing, University of Mosul, Iraq (1987). (In Arabic).

[9] Castellano, G.; Tena, J. and Torrens, F., Classification of phenolic compounds by chemical structural indicators and its relation to antioxidant properties of *posidouia oceanica* (L.). Delile. Match (2012).

[10] Al-Ma'thidy, A.M.M., A comparative systematic study of *Prunus* L. spp. (Rosaceae) in Iraq, Ph.D. Dessertation, College of Agriculture of Forestry, University of Mosul (2003). (In Arabic).

[11] Ozturk, I.; Ercisli, S.; Kalkan, F. and Demir, B., African Journal of Biotechnology, 8(4): 687- 693 (2009).

[12] Sowa, A.; Zgorka, G.; Szykula, A.; Franiczek, R.; Zbikowska, B.; Gamian, A. and Sroka, Z., Bio. Med. Research International. Article ID: 6705431:1-12 (2016).

[13] Bubueanu, C. and Pavaloiu, R., Malaysian Journal of medical and Biological Research. 3(1): 41- 44 (2016).

[14] Al-Katib, Y.M., "Taxonomy of Seed Plants". 2nd. Ed., Dar Al-Kutub for Printing and Publishing, University of Mosul, Iraq (2000). (In Arabic).

[15] Bell, R. L., Pears (*Pyrus*). In: Moore, J. N.; Ballington, J. R. (eds.) Genetic resources of temperate fruit and nut crops I. International Society for Horticultural Science, wageningen, 655- 697 PP (1990).

[16] Bell, R. L.; Quamme, H. A.; Layne, R. E. C. and Skirvin, R. M., Pears. In: Janick, J. and Moore, J. N. (eds.) fruit breeding, vol. I: Tree and Tropical fruits. John wiley and sons, London, 441- 514 pp (1996).

[17] Ciser, Plant graph to illustrate the absorption spectrum for the isolated pigment. ma. edu. Bio. 129 Lab, Texas Tech university. 1-8 pp (2010).

[18] Al-Rajab, A.T.H.; Al-Musawi, A.H. and Al-Aniw, W.Y., Anbar J. of Agri. Sien. 12: 173-181 (2014) (In Arabic).

[19] Grand, A.; woundergan, P. A.; Verporte, R and Pousset, J. L., J. Ethno pharmacology, 22: 25-31 (1988).

[20] Verport, R.; Tginastoi, A.; Vandoorn, H. and Svendsen, A. B., J. Ethnopharmacology, 5: 221-226 (1982).

[21] Harbone, J. B., Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant and lysis, London, New York, Chapman and Hall, 278 pp (1973).

[22] Mradu, G.; Saumyakanti, S.; Sohini, M. and Arup, M., International Journal of Pharmacognosy and phytochemical Research, 4(3): 162-167 (2012).

[23] Rovio, S.; Hartonen, K.; Holem, Y.; Hiltunen, R. and Riek, M., Flavourfragr. J. Vol. 14, pp. 399 (1999).

[24] Sayuf, F., Damascus University J. Agri. Scien. 25:221-232 (2009) (In Arabic).

[25] Samuel, B. J. and A. E. Luchsinger., plant systematics. 2nd. Ed. McGraw-Hill book CO. New York. San Francisco, 512 pp (1987).

[26] Al-Ma'thidy, A.M.; Al-Ramdhani, T.R., Rafidain Science Jorunal, College of Science, University of Mosul, Iraq. 17(9):40-50pp (2006). (In Arabic)

[27] Song, J. L.; Zhu, K.; Feng, X.; Zhao, X., J. koren soc Apple Biol chem 58(2): 249- 256 (2015).

[28] Harborne, J. B., The evolution of flavonad pigment in plant. In swain T. comparative phytochemistry, Academic Press, London: 271- 295 (1966).

[29] McGhie, T. K.; Hunt, M.; Barnet, L. E., J. Agric. Food chem, 53: 3065- 3070 (2005).

[30] Tsao, R.; Yang, R.; Xie, S.; Sockovie, E.; Khanizadeh, S., J. Agric. Food chem, 53: 4989-4995 (2005).

[31] Duda- Chodak, A.; Tarko, T.; Satora, P.; Sroka, P.; Tuszynski, T., J. Fruit Ornam. Plant Res, 18: 39- 50 (2010).