دراسة تصنيفية كيمياوية لبعض انواع أجناس العشيرة *Agrostideae* في العراق

خنساء عبد العالي شهيد
كلية العلوم– جامعة كربلاء
khansaash@yahoo.com

عبد الكريم خضير عباس البيرماني
كلية العلوم للبنات– جامعة بابل
drabdulkarim_2010@yahoo.com

الخلاصة

أفضت الدراسة الكشف عن سبعة مركبات فينولية مختلفة الأهمية مع تحديد تركيزها لكل نوع نباتي لبعض أجناس العشيرة Agrostideaeمما أظهر حالة من التباين والاختلاف ما بين الأنواع قيد الدراسة في تراكيزها من المركبات الفينولية المختارة وبالتالي ساهمت هذه المركبات في حالة العزل التصنيفي لتلك الأنواع وتعزيز الأهمية التصنيفية لهذه الدراسة كمفتاح تصنيفي مهم على مستوى الأنواع والأجناس للعشيرة.

استنادا للتراكيز العالية للمركبات الفينولية انعزل النوعين *Ca.pseudophragmites* و *Al.myosuroides* عن الأنواع الأخرى, في حين تباينت بقيه الأنواع فيما بينها بالتراكيز المنخفضة للمركبات الفينوليه.

الكلمات المفتاحيه:– العشيرة Agrostideae , المركبات الفينوليه , حامض الكاليك

Abstract

This study includes the detection of seven important phenolic compound, and the concentration of each component for each species of the genus for the tribe *Agrostideae* have been identified which showed a case of variation and differentiation between species under study regarding concentrations of selected phenolic compounds.

The results of the present study revealed that these phenolic compound contribute in the taxonomic isolation among species and enhance the taxonomic importance of this study as a key classification at the level of genera and species for the tribe *Agrostideae.*

Based on the high concentration of phenolic compound remained isolated two species *Ca. pseudophragmites* and *Al. myosuroides* other species while the rest of the species varied among low concentration of phenolic compounds .

Key words:- Agrostideae tribe , phenolic compound , Gallic acid

المقدمة

تعد العائلة النجيلية من أوسع النباتات الزهرية انتشاراً على سطح الكرة الأرضية لكثرة أنواعها وقدرتها على التكيف في البيئات المختلفة ولهذا حظيت باهتمام البشرية لأهميتها الاقتصادية والبيئية إذ توفر مستوى غذاء للإنسان وكذلك الحيوان وهي أيضاً تحتل 23% من مساحات العالم (Mensah,1990) و (Singh,2008) ، كما يشير Gibson (2009) ان الوضع التصنيفي لهذه العائلة في تغير مستمر لسعة انتشارها.

لهذا اعتمد الباحثون في دراساتهم العديد من الأسس فضلاً عن الصفات المظهرية والصفات التشريحية وصفات الأجنة وعدد الكروموسومات كذلك استخدمت الصفات الكيموحيوية بسبب تقدم طرق الفصل الدقيق للمركبات فأساسها هو الكشف عن مركبات معينة تكون مميزة لأقسام أو عائلات

أو أجناس، وبما أن بلدنا يمتلك ثروة نباتية طبيعية كبيرة كان لابد من التوجه لدراسة المستخلصات النباتية ومحتواها الكيمياوي ومعرفة دورها الفعّال على النبات، فالنباتات تحتاجها لغرض التصبغ Pigmentation والنمو والتكاثر ومقاومة الممرضات والعديد من الوظائف الأخرى Lattanizo *et al* (2006) .

بناءً على ذلك استندت الدراسة لاعتماد تقنية HPLC في استخلاص وتحديد المركبات الفينولية التالية

1- Gallic acid. 2- Catechin. 3- Cinnamic acid. 4- Chlorogenic acid. 5- Ferulic acid . 6- Coumarias . 7-Sinapic acid.

كما هدفت الدراسة لاستخلاص وتحديد بعض المركبات الفينوليه كأدوات تصنيفيه مهمه لعزل بعض أنواع اجناس العشيرة *Agrostideae*.

وتعد هذه الدراسة الوحيدة التي أجريت لبعض أجناس العشيرة Agrostideae في العراق.

جدول (1) الأجناس والأنواع التي تم دراستها للعشيرة Agrostideae في العراق

الأجناس	الأنواع
Alopecurus	*arundinaceus*
	myosuroides
Calamagrostis	*pseudophragmites*
Phleum	*boissieri*
Polypogon	*semiverticillatus*

1 - المواد وطرائق العمل Chemical study

استخدمت العينات النباتية المجففة والمجموعة خلال السفرات الحقلية ومن المعاشب النباتية فقد استخدمت الأوراق فقط في المرحلة الزهرية للنبات، وكما يلي

1- التحليل للمركبات الفينولية

ان المركب الرئيسي الذي يمكن فصله من خلال كروموتوغرافي السائل عالي الأداء وتحت الظروف المثالية للعمود C18 ، وحجم الجزيئة هو 3 مايكروميتر، أما الطور المتحرك فهو عبارة عن نسبة مئوية لكل من 0.1% لحامض formic acid (المذيب A) ، و (6:3:1) كنسب حجمية لكل من (acetonitrile: methanol: 0.1% Formic acid) بإضافة تدريجية من (0% ⟵ 100%) لمحلول B لمدة ثمانية دقائق حقنت بالعمود بحوالي (20 Vl) بسرعة جريان مقدارها 1.5 مل لكل دقيقة.

عليه فأن المركبات الفينولية التي تمت دراستها في بعض الأنواع قيد الدراسة هي :

1- Gallic acid . 2- Catechin. 3- Cinnamic acid . 4- Chorogenic acid . 5- Ferulic acid . 6- Coumarins 7- Sinapci acid

.

2- تحديد المركبات الفينولية Determination of phenolic compounds

اعتمدت طريقة Harbone(1973) في تحديد تركيز المركبات الفينولية في بعض الأنواع قيد الدراسة، إذ تم الفصل باعتماد تقنية الكروماتوغرافي السائل Liquid chromatography المصنع في شركة Shimadzu 2010 الذي تتضمن مضختين ناقليتين كذلك موديل 2010 إذ لوحظت المنحنيات Peak في جهاز المطياف الضوئي Spectro photo meter بواسطة الأشعة فوق البنفسجية.

3- استخلاص المركبات الفينولية Extraction of phenolic compounds

بداية أخذت الأوراق المجففة وطحنت بواسطة مطحنة EUROSUN –ITALIAN HOME ES-115 بعدها أخذ وزن (1gm) من العينة وأذيبت في (5ml) من مزيج (Ethanol-water) بنسبة حجمية (20:80) على التوالي في أنابيب زجاجية، بعدها وضع المحلول في حمام مائي (موجات فوق الصوتية) لمدة (25) دقيقة وبدرجة 25 م بعدها فصل الرائق من الراشح باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 7500 دورة لكل دقيقة لمدة 15 دقيقة، ثم تحويل الرائق المفصول مع الفحم المنشط لإزالة الأصباغ ومن تم تبخيره تحت الضغط المخلخل، بعدها عُوملت النماذج المخففة مع (1ml) من الميثانول عالي النقاوة ومُزجت ورشحت ثم خُزنت بدرجة 4 م لحين الاستعمال ثم أُخذ (20ml) من النموذج وحقن في جهاز الـ HPLC بالاعتماد على الظروف المثالية للعمود C18 وحجم الجزيئة هو 3 مايكروميتر، أما الطور المتحرك عبارة عن نسبة مئوية لكل من 0.1% لحامض الفورميك المذيب A و (6:3:1) نسب حجمية لكل من (Acetonitrile: methanol:0.1% formic acid) ومزجت لمدة ثمانية دقائق بسرعة جريان مقدارها 1.5 مل لكل دقيقة.

واستناداً للـ Suarez(2005) *etal.,* يتم حساب تركيز المادة في المستخلص وفق المعادلة الآتية

$$\text{تركيز المادة بالعينة} = \frac{\text{مساحة المادة بالعينة}}{\text{مساحة المادة القياسية}} \times \text{تركيز المادة القياسية} \times \text{عامل التخفيف}$$

ومن الجدير بالذكر ملاحظة ما يلي:

1- أن الأنواع النباتية التي تم تشخيص المركبات الفينولية فيها وحسب تسلسلها من (5 ⟵ 1) .

1- *Alopecurus arundinaceus.* 2- *Alopecurus myosuroides.*

3- *Calamagrostis pseudophragmites* 4- *Phleum boissieri*

5- *Polypogon semiverticillatus*

وذلك لتوفر الأوزان المطلوبة من الأوراق الجافة لهذا التشخيص.

2- تم تشخيص المركبات الفنيولية لأوراق الأنواع قيد الدراسة بواسطة تقنية HPLC في وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة بحوث المواد والعدد الطبية باستعمال جهاز الـ HPLC شركة Shimadzu اليابانية موديل LC=10A

النتائج

تضمنت الدراسة تحديد سبعة مركبات فينولية Phenolic compound في أوراق بعض أنواع أجناس العشيرة Agrostideae لتوفر الوزن المطلوب من المادة الجافة (الأوراق) لأجراء هذه الدراسة، فالهدف من كشف المركبات الفينولية هو دراسة التغايرات من حيث الوجود والكمية والاستفادة منها في الفصل والعزل ما بين الأنواع قيد الدراسة استناداً لتركيز تلك المركبات، فقد أظهرت الأنواع النباتية المختارة تغايرات واضحة ومهمة من حيث المحتوى والتركيز للمركبات الفينولية السبعة إذ اشتركت أغلب الأنواع باحتوائها على جميع هذه المركبات بتراكيز متباينة وذات أهمية تصنيفية وفق هذه الدراسة، إذ كشفت هذه المركبات استناداً الى المتوافر من المركبات القياسية Standard compounds .

الملاحظ في الجدول (3) الذي يوضح مساحة حزمة القياس إمكانية تقسيم الأنواع قيد الدراسة الى مجاميع استناداً لمساحة الحزمة التي تظهرها المركبات الفينولية فالمركب الأول Gallic acid يقسم الأنواع الى مجموعتين، مجموعة تكون فيها مساحة حزمة أقل من 1000 وتشمل الأنواع *Al. arundinaceus* و *Ca. pseudophragmites* و *Ph. boissieri* و مجموعة تكون مساحة الحزمة أكثر من 10,000 وتشمل النوعين *Al. myosuroides* و *Po. semiverticillatus* ، كذلك انعزل النوع *Ca. pseudophragmites* عن بقية الأنواع بخصوص مساحة الحزمة للمركب السابع Sinapic acid.

أما على مستوى النوع كذلك يمكن عزل النوع *Al. arundinaceus* عن نوع جنسه الآخر بمساحة الحزمة التي أظهرها بخصوص المركب Gallic acid فقد أعطى النوع الآنف الذكر مساحة حزمة أقل من 10,000.

جدول (2) تسلسل المركبات الفينولية الخام القياسية تركيز كل مركب هو 25 مايكروغرام

Concentration Mg/ml	Area m volt	Retention Time/minute	Subjects	Seq
25	21405	1.90	Gallic acid	1
	40417	2.65	Catechin	2
	39401	3.40	Cinnamic acid	3
	44356	4.23	Chlorogenic acid	4
	24014	5.14	Ferulic acid	5
	37268	5.88	Coumarins	6
	24472	6.97	Sinapic acid	7

جدول (3) مساحة حزمة المادة Material space pack للمركبات الفينولية في أنواع بعض أجناس العشيرة Agrostideae المدروسة

7 Sinapic acid	6 Coumarias	5 Ferulic acid	4 Chlorogenic acid	3 Cinnamic acid	2 Catechin	1 Gallic acid	الأنواع
5492	24434	67261	10148	33679	10204	25088	*Al. myosuroides*
7811	26762	34458	45454	19373	13653	4734	*Al. arundinaceus*
43838	41805	59094	90293	20865	36168	3006	*Ca. pseudophragmites*
6297	10149	32441	51601	46013	19105	3316	*Ph. boissieri*
–	30095	53604	64633	59378	39630	34356	*Po. semiverticillatus*

أما حالة التباين الأخرى التي سجلتها الأنواع قيد الدراسة استناداً لتركيز المركبات الفينولية فالجدول (4) يظهر أن النوع *Ca. pseudophragmites* قد سجل أقل تركيز للمركب Gallic acid إذ بلغ $14.04\ Mg/ml$ متقارباً بالتركيز النوع *Ph. boissieri* بتركيز بلغ $15.49\ Mg/ml$ منعزلين بذلك عن بقية الأنواع التي سجلت تفاوتاً ملحوظاً لبعضها في التركيز لهذا المركب، أما النوع *Al. myosuroides* سجل أقل تركيز له في المركبات Catechin و Chlorogenic acid بمعدل بلغ $25.25\ Mg/ml$ و $22.88\ Mg/ml$ و $22.44\ Mg/ml$ لكن المركب Cinnamic acid سجل اقل تركيز له في النوع *Al. arundinaceus* إذ بلغ $49.17\ Mg/ml$ محققين بذلك الانعزال التصنيفي عن بعضهم بعضا استناداً لهذه المركبات.

اما المركب Chlorogenic سجل أعلى تركيز له في النوع *Ca. pseudophragmites* بمعدل بلغ $203.56\ Mg/ml$ ، أما أعلى تركيز للمركب Ferulic acid سجل في النوع *Al. myosuroides* بمعدل بلغ $280.09\ Mg/ml$ منعزلاً بذلك عن الأنواع الاخرى قيد الدراسة بخصوص هذا المركب.

و تباينت الأنواع قيد الدراسة بتراكيز المركبات الفينولية السبعة كذلك تباينت بعض الأنواع باحتوائها على بعض هذه المركبات فقد انعزل النوع *Po. semiverticillatus* عن جميع الأنواع بفقدانه المركب السادسCoumarias مما سهّل انعزاله عن الأنواع الاخرى.

وبصورة عامة فالملاحظ ان هذه المركبات الفينولية قد عزلت وفصلت الأنواع قيد الدراسة بخصوص كل مركب على خدهِ مما أدى ذلك الى تعزيز القيمية التصنيفية لهذه الدراسة كمفتاح عزل على مستوى الأنواع والأجناس.

جدول (4) تراكيز المركبات الفينولية في أنواع جنس العشيرة Agrostideae المدروسة مقاسة بـ mg/ml

7 Sinapic acid	6 Coumarias	5 Ferulic acid	4 Chlorogenic acid	3 Cinnamic acid	2 Catechin	1 Gallic acid	الأنواع
22.44	65.56	280.09	22.48	85.48	25.25	117.20	*Al. myosuroides*
31.92	71.81	143.49	102.48	49.17	33.78	22.12	*Al. arundinaceus*
179.14	112.17	246.08	203.56	52.96	89.49	14.04	*Ca. pseudophragmites*
25.73	27.23	135.09	116.33	116.78	47.27	15.49	*Ph. boissieri*
–	80.75	223.22	145.71	150.70	98.05	160.50	*Po. semiverticillatus*

المناقشة

ان للمركبات الفينوليه دوراً مهماً في السيطرة على مختلف الفعاليات النباتيه مثل محفزات النمو ومثبطاته ...الخ (Willaims ,1963) مثلا وجودها في جسم النبات لاسيما خلايا الاوراق تعطي دوراً كبيرا في حمايه النبات من اضرار الاشعه فوق البنفسجيه (Karabourinotis & Fasseas,1996)

كما ركزت العديد من الدراسات على استخلاص وتحديد أنواع مختلف المركبات الفينولية ومعرفة تراكيزها منها دراسة Mckay *et al.* (2014) و Yordi *et al.* (2015) لأنها تعد من أهم المركبات الكيميائية المعروفة والمستخدمة في مجال تصنيف النبات وكذلك مهمة في إقامة العلاقات

التطورية Harbone (1984)، ولهذا فقد جرت دراسات متعددة في العراق لاستخلاص المركبات الفينولية من نباتات مختلفة لغرض استخدامها كمضادات أكسدة طبيعية بديلة عن مضادات الأكسدة الصناعية المستخدمة لمختلف المجالات منها دراسة Al-Murshidy (2012) ، Jabbar (2013) و Al-shemmary (2014) لكن هذه لم تشتمل العائلة النجيلية ولهذا صبت هذه الدراسة اهتمامها على كشف المركبات الفينولية وتحديد أنواعها وتراكيزها.

كانت المركبات الفينولية المشخصة Gallic acid و Catechin و Cinnamic acid و Chlorogenic acid و Ferulic acid و Coumarias و Sinapic acid ، فقد أظهرت هذه الدراسة تغايرات واضحة ومهمة في تراكيز المركبات الفينولية مما عزز الأهمية التصنيفية كمفتاح تصنيفي مهم للعزل والفصل على مستوى الأنواع والأجناس مثلما أكد عليه Arrieta & Hernandez (2005),كذلك أكدت دراسه AL-Khafaji(2015) لانواع العشيرة *Poae* ودراسه AL-Edhari (2015) لبعض اجناس العشيرتين *Aristideae* و*Stipeae* في العراق على الأهمية التصنيفية لمختلف المركبات الفينوليه

فأمتاز النوع *Po. semiverticillatus* بفقدانه المركب Sinapic acid دوناً عن بقية الأنواع قيد الدراسة مما أدى الى انعزالهِ عن جميع الأنواع بخصوص هذا المركب أما سبب فقدان بعض المركبات الفينولية من أنواع بعض أجناس العائلة النجيلية هو قصر دورة حياة بعض الأجناس التي تعود للعائلة النجيلية مما أدى ذلك الى مثل هذه التغايرات أو فقدان المركبات الفينولية Columbus (1999) .

ومن الجدير بالملاحظة ان المركبات الفينولية أظهرت حالات متباينة بالتراكيز لمختلف الأنواع المدروسة فعلى مستوى التراكيز المنخفضة لوحظ أن المركب Gallic acid سجّل في النوع *Ca. pseudophragmites*، أما المركبات Catechin و Chlorogenic acid و Sinapic acid انخفض تركيزها في النوع *Al. myosuroides* بينما النوع *Al. arundinaceus* سجل انخفاضاً بتركيز المركب Cinnamic acid، في حين أن النوع *Ph. boissieri* سجل انعزالاً عن الأنواع الاخرى بتسجيله انخفاضاً ملحوظاً بتركيز المركب Coumarias .

أما حالات الانعزال اعتماداً على التراكيز العالية للمركبات الفينولية فلوحظت في النوع *Ca. pseudophragmites* بتسجيله أعلى تركيزا للمركبين Chlorogenic و Sinapic acid ، بينما سجّل النوع *Al. myosuroides* أعلى تركيزا للمركب Ferulic acid مما يؤكد دراسة Harbone (1984)بعدّ المركبات الفينوليه من أهم المركبات الكيميائية المعروفة والمستخدمة في

مجال تصنيف النبات، وأن الاختلافات التي سجلتها المركبات الفينولية بين الأنواع قيد الدراسة يعود لتغاير الأنواع النباتية المدروسة حسب ما أشارت إليه دراسة Huang *et al*. (2014) و Svecova (2015) باختلاف تراكيز المركبات الفينولية يعود لاختلاف نوع المادة المستخلص منها المركب الفينولي.

References

AL-Murshidy, Z. R. K.(2012). Extraction and Purification of Flavonoids from Green Tea Leaves and Pomegranate Peels and determination of their Antioxidant Activities. M.Sc. thesis; College of Science – Univ. Karbala. (in Arabic).

AL-Shemmary,N.I.2014. Effect of leaves extracts of *Tamarix macrocarpa* (Eherb.)Bge. And *Zizphus spina-christi* L.(Willd) on plant growth and productivity of *Solanum melongena* L. var.Barcelone .M.Sc.thesis;College of Science –Uni.Babylon (in Arabic)

AL- Edhari, A. H. M. (2015) . Anatomical , Chemical and Molecular systematic study for the genera Aristida L., Stipagrostis Nees. And Stipa L. in the Poaceae (Gramineae) family in Iraq. Ph.D. thesis ; Univ. of Kufa (in Arabic) .

AL- Khafaji , B. Abdul- H. M.(2015). Comparative anatomical , chemical and molecular study of some genera of the tribe Poae R. Br. (Poaceae).in Iraq. Ph. D. Thesis ; Univ. Kerbala (in Arabic) .

Arrita Y.H. and Hemandez I.C. 2005;Flavonoids of the genus *Boutelouna* (Poaceae)from mexico.Num.20,pp.17-29.ISSN 1405-2768.Mexico.

Columbus J.T. (1999): An expanded circumscription of *Boutelouna* (Gramineae) : New combinations and names. *Aliso*; 18(1): 61 – 65.

Gibson, D. J. (2009) .Grasses and Grassland Ecology. Oxford Univ. Press. Oxford, New York. pp. 21-34.

Harborne, J.B. (1973). Phytochemical methods :a guide to modern technique of plant analysis. London New York Chapman and Hall.278 pp.

Harborne, J.B. (1984). Phytochemical methods. Chapman and Hall. New York;2nd Ed. :288 pp.

Huang, R.T. ; Lu, J.F. ; Inbaraj, B. S. and Chen, B. H. (2014) . Determination of phenolic acids and flavonoids in *Rhinacanthus nasutus* (L.) kurz by high-performance-liquid-chromatography with photodiode-array detection and tandem mass spectrometry. *j. Functional Foods*; 12: 498–508.

Jabbar,M.H.2013.Extraction and Partial purification of Proanthocyanidius from Grape (*Vitis vinifera*)and Date (*Phoenix dactylifera*) seeds and determination some of their Biological activities,M.Sc.thesis;College of Science –Uni.Karbala (in Arabic).

Karaburniotis,G.and Fasseas,C.(1996). The dense indumenthum epidermis in some young xeromorphic leaves.Con.J.Bot.,74:347-351.

Lattanzio, V.; Lattanzio, V. M. T.; and Cardinali, A.(2006). Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. Research Signpost, 37/661 (2), Fort P.O., Trivandrum-695 023, Kerala, India.

McKay, D. L. ; Chen, C.-Y. O.; Zampariello, C. A. and Blumberg, J. B.(2014). Flavonoids and phenolic acids from cranberry juice are bioavailable and bioactive in healthy older adults. *Food Chemistry*; 168: 233–240.

Mensah, J. K. (1990). Epidermal morphology in relation to the taxonomy of grasses . Journal of Plant Anatomy and Morphology; 1:1-8.

Singh, H.(2008). Importance of local names of some useful plants in Ethnobotanical study .Indian ; *J. Tradit. Knowl.* ; 7(2) :365-370.

Suarez,B.;**Palacios,N. and Rodriguez,R.(2005).**Liquid Chromatographic Method for quantifying polyphenols in ciders by direct injection . Journal of Chromatography , 1066, 105-110 .

Švecová, B.; Bordovská, M. ; Kalvachová, D. and Hájek, T.(2015). Analysis of Czech meads: Sugar content, organic acids content and selected phenolic compounds content. *Journal of Food Composition and Analysis*; 38: 80–88.

Williams,A.H**. (1963).**Enzme inhibition by phenolic compounds . In Enzyme Chemistry of Phenolic Compounds.(J.B.Pridham,ed.).pp.87-96.

Yordi, E. G. ; Matos, M. J. ; Pupo, R. C. ; Santana, L. ; Uriarte, E. and Pérez, E. M. (2015). In silico clastogenic activity of dietary phenolic acids**.** *Food Science and Technology* ; 61(1) :216–223.