مجلة جامعة كركوك للعلوم الزراعية ... المجلد (9) العدد (3) 2018
Journal of kirkuk University for Agricultural Sciences ...Vol (9) No. (3) 2018

التحري عن بعض المركبات الفينولية في عسل النحل بتقنية كروموتوغرافيا السائل عالي الاداء وتاثيره التثبيطي في مسبب مرض تقرح ساق الروبينيا

أياد جاجان الداؤودي[1] أنور نوري الخيرو[2] أمجد خليل المشهداني[3]

- **[1] جامعة الموصل ـ كلية التربية الاساسية للبنات**
- **[2] جامعة الموصل ـ كلية الزراعة الغابات**
- **[3] مديرية زراعة نينوى**
- تاريخ تسلم البحث 2016/9/20 وقبوله 2016/12/18

الخلاصة

شملت الدراسة تشخيص بعض المركبات الفينولية في نوعين من عسل النحل ولموقعين مختلفين وباستخدام تقنية كروموتوغرافيا السائل عالي الاداء (HPLC) High Performance liquid chromatography technique واظهرت النتائج تطابق قيم زمن احتجاز المركبات المشخصة مع قيم زمن الاحتجاز القياسية لنفس المركبات في نوعي عسل النحل وللموقعين، وكانت قيم زمن الاحتجاز لمركبات حامض الكاليك Gallic acid وهيدروكسي حامض السيناميك Hydroxycinnamic acid وريسورسينو Resorcinol (1.02 ، 1.46، 1.18) ثانية على التوالي متطابقة مع قيم زمن الاحتجاز القياسية لنفس المركبات في عينة عسل النحل غير الناضج / موقع الدندان، في حين تكرر تشخيص مركبات هيدروكسي حامض السيناميك وريسورسينول اضافة الى مركبي الكومارين Coumarin حامض السالساليك Salicyllic acid في عينة العسل الناضج ولنفس الموقع وكانت قيم زمن الاحتجاز لمركبي الكومارين وحامض السالساليك (1.67 ، 1.38) ثانية على التوالي . كذلك تكرر ظهور وتشخيص نفس المركبات المشخصة سابقا في عينة العسل الناضج / موقع الدندان اضافة الى مركب الكورستين Quercetin في عينة العسل غير الناضج / موقع كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل والذي كانت قيمة زمن الاحتجاز له (1.33) ثانية مطابقة لقيمة زمن الاحتجاز لنفس المركب، في حين تكرر ظهور وتشخيص مركبات هيدروكسي حامض السيناميك وريسورسينول وحامض السالساليك والكورستين في عينة العسل الناضج ولنفس الموقع وكانت قيم زمن احتجازها مطابقة مع قيم احتجاز نفس المركبات القياسية . واظهرت نتائج التشخيص الكمي للمركبات الفينولية تباين النسب المئوية للمركبات باختلاف نوعية العسل والمواقع حيث اظهر مركب الريسورسينول اعلى نسبة بلغت 47.23 % في عينة العسل غير الناضج / موقع الدندان، في حين اظهر مركب الكومارين ادنى نسبة بلغت2.13 % ولنفس عينة العسل غير الناضج ولنفس الموقع، وقد اقتصر وجود حامض الكاليك على عينة العسل غير الناضج / موقع الدندان اذ بلغت نسبته 6.41 % . واظهرت نتائج الاختبارات الحيوية لمقاومة مسبب تقرح ساق الروبينيا *Robinia pseudoacasia* تثبيطا ً للفطر *Nattrassia mangiferae* بنسبة 100 % عند التركيز 100 % من العسل الناضج .
الكلمات المفتاحية : المركبات الفينولية، نحل العسل، تقنية كروموتوغرافيا السائل، ساق الروبينيا.

Researching about some Phenolic compounds in bees honey by high performance liquid chromotography technique and its inhibition effect of *Robinia pseudoacacia* stem canker disease

Ayaad jajan aldawodi[1] Anwer noori alkhero[2] Amjaad khalil almashhadani[3]

- **[1]University of Mosul - College Girls Education**
- **[2]University of Mosul - Collage of agriculture**
- **[3]Ninava agriculture manegerment**
- Date of research received 20/9/2016 and accepted 18/12/2016.

Abstract

The study involved identification of some phenolic compounds for two kinds of honey bees in two positions by high performance liquid chromotography technique (HPLC). The results showed identical the retention time values of identificated compounds with the standard retention time values of the same compounds at the two kind of bees honey for two positions and the retention time values were for gallic acid, hydroxy cinnamic acid, Resorcinol (1.02 , 1.46 , 1.18) minutes respectively, it was Identical with standard retention time values of the same compounds in the sample of non-adult bees honey / Danadan position, while repeated identification of the compounds hydroxy cinnamic acid , Resorcinol as well as Coumarin and Salsalic acid in the sample of adult bees honey and for the same position , the values of retention time for Coumarin and Salsalic acid (1.67 , 1.38) minutes respectively. Then the same phenolic compounds whom identifacated previously in adult honey sample / Danadan position were repeated appear in the sample of non-adult honey / Agri & forestry college position additional Quercetin which its retention time value was (1.33) minutes and which identical with standard retention time value of the same compound The results of identification adult honey sample / Agri & forestry college position showed repeating appear of the compounds hydroxy cinnamic acid , Resorcinol , Salsalic acid and Quercetin and whom its retention time values identical with standard retention time values of the same compound. Qualitative identification for the phenolic compounds showed differ with ratios as difference of positions and kinds, Resorcinol showed maximum ratio (47.23%) in non-adult honey / Danadan position sample while Coumarin showed a minimum ratio (2.23%) in the same kind of honey an the same position .Gallic acid only identificated in non-adult honey / Danadan position sample and and its rasio was (6.41%). Bioassay results of honey samples showed inhibition the growth of *Nattrassia mangifera* which was the causal agent of *Robinia pseudoacacia* stem canker, Inhibition ratio was 100% at the concentration 100% of adult bees honey.
Key words: bees honey, HPLC, *Robinia pseudoacacia*.

المقدمة

يحتوي عسل النحل على الكاربوهيدرات والاحماض الامينية والبروتينات بضمنها الانزيمات والاحماض العضوية والفيتامينات ومعادن اخرى بشكل مركبات كيميائية نباتية اومايطلق عليها بالنواتج الطبيعية Natural products (Persano و Piro ، 2004) ويعد العسل من المنتجات الغذائية الطبيعية التي تنفرد باحتوائها على مركبات فعالة مشتقة من مصدرين رئيسيين وهما النبات والنحل وهو مركب غنيٍ بالاحماض الفينولية Phenolic acids والفلافينويدات Flavonoids والتي تؤثر بمدى واسع في العمليات الحيوية كونها مركبات طبيعية مضادة للاكسدة Antioxidant وقد تبين بان العسل يحتوي مركبات تعمل كمواد كانسة وذلك لما يحتويه من مركبات فينولية (Gheldof واخرون ، 2002) كذلك يمتلك مدى واسع من الصفات الكانسة للجذورالحرة الكيميائية Radical scavenging capacity (Baltrušaitytė واخرون ، 2007) اضافة لامتلاكه مواصفات مضادة للسرطان Anticancer والجروح (Tsiapara واخرون ، 2009). ان تركيب عسل النحل يعتمد على المصادر النباتية التي يمر بها النحل فضلا ًعن مواسم الجمع والعوامل البيئية والموقع الجغرافي وكذلك ظروف الخزن واخيرا العمليات الحيوية المتعلقة بتصنيع العسل في جسم النحل ومايحتويه من مركبات فينولية في تركيبه (Anklam ، 1998 و Joshi واخرون ، 2000)، وفضلا ًعن كون العسل من المنتجات الطبيعية الشائعة في معظم انحاء العالم كذلك يعد من المنتجات الشعبية الشائعة والمتوفرة والناتجة من النحل والذي ينتج بدوره بكميات كبيرة تعد غذاءاًمفضلاً للاستهلاك البشري (Kaškonienėواخرون ، 2009) وأثبتت الأبحاث العلمية الحديثة أن أنواع العسل لا تختلف فقط في اللون والطعم والرائحة ولكن تختلف أيضاً في الخواص الكيميائية والعلاجية، وان اختلاف خصائص العسل يعتمد وبدرجة كبيرة على النباتات التي جمع منها العسل، وكذلك على التربة التي تنمو فيها هذه النباتات ويحتوي عسل النحل العديد من الأحماض العضوية والمعدنية والأمينية، وبالرغم من أن هذه الأحماض تمثل نسبة ضئيلة جداً في تركيب العسل إلا أن لها تأثير على الطعم، كما أنها مسؤولة جزئياً عن قدرة العسل القوية على منع نمو الأحياء الدقيقة فيه. وأول الأحماض العضوية التي اكتشفت بالعسل هو حامض الفورميك، ثم أمكن التعرف إلى حوالي 18 حامض عضوي أهمها: حامض الغلوكونيك، حامض الماليك، حامض اللبن، حامض الليمون، حامض الخل، حامض الأوكزاليك. ويعد حامض الكلوكونيك Gluconic acid أهم الأحماض العضوية الموجودة في العسل ويوجد بكميات ملحوظة بالنسبة لباقي الأحماض، وينتج هذا الحامض عن طريق النشاط الأنزيمي لأنزيم غلوكوز أوكسيداز Glucose oxidaseعلى سكر الدكستروز (الكلوكوز) حيث يتكون بالإضافة لحامض الكلوكونيك الماء الأوكسجيني H_2O_2. (Anklam ، 1998 و Atrouse واخرون ، 2004) وقد بينت التحاليل الكيميائية في 37 عينة من اعسال كاليفورنيا ان متوسط نسبة حامض الفورميك بلغت 0.16، ووجد ان الحموضة في العسل (0.09 – 0.16) في صورة حامض الفورميك في حالة الاعسال الباكستانية وأن الاحماض الموجودة في العسل هي حامض الستريك، حامض الفورميك، حامض الماليك، حامض السكسنيك، حامض الخليك، حامض اللاكتيك، حامض البيروكلوتاميك، حامض الكلوتامبك، حامض الفسفوريك، حامض الهيدروكلوريك (عبد اللطيف واحمد ، 1974) .

المواد وطرائق البحث

تهيئة المواد الاولية

استخدمت عينات من عسل النحل الناضج وغير الناضج في الدراسة واللتان تم جمعهما من موقعين في محافظة نينوى وهما موقع الدندان جنوب مدينة الموصل وموقع كلية الزراعة والغابات في جامعة الموصل، وزنت اربعة عينات من عسل النحل بواقع 25 غم/عينة ثم نقلت الى المختبر لاجراء عمليات الاستخلاص عليها، ثم اجريت القياسات الكروموتوغرافية بوساطة تقنية كروموتوغرافيا السائل عالي الاداء(HPLC) في قسم الصناعات الغذائية/ كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل .

استخلاص المركبات الفينولية من عسل النحل

1 – الاستخلاص بالمذيبات العضوية

استخدمت طريقة (Harborne ، 1973) في الاستخلاص وذلك حيث نقلت كل من العينات السابقة الى وعاء زجاجي سعة 500 مل واضيف اليها 025 مل من الكحول الاثيلي (95 %) ثم رج المحلول باستخدام جهاز المازج الكهربائي Electric sterir مدة 48 ساعة مع مراعاة اكمال النقص في المحلول نتيجة التبخر، ثم اجريت عملية الترشيح للتخلص من المواد غير الذائبة وتم تركيز المستخلص الايثانولي بوساطة المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل الى حجم 15 مل ثم نقل المحلول الى مرحلة التحلل الحامضي Acid hydrolysis .

2 - التحلل الحامضي للمستخلص الكحولي للعسل

اجري التحلل الحامضي Acid hydrolysis لمستخلص عسل النحل الناضج وغير الناضج ولموقعي الدندان وكلية الزراعة وذلك لفصل المركبات الفينولية الحرة من الكلايكوسيدات الفينولية بعد استخدام 5 مل من كل عينة من عينات العسل، اضيف اليها 100 مل من 1 عياري من حامض الهيدروكلوريك والغليان في حمام مائي ولمدة 1 ساعة ثم ترك المحلول ليبرد ونقل منه 25 مل الى قمع فصل واضيف اليه 25 مل من خلات الاثيل Ethyl acetate مع الرج لمدة خمسة دقائق ثم ترك الخليط ليستقر وينفصل في قمع الفصل الى طبقتين فالطبقة العلوية تمثل طبقة خلات الاثيل الاحماض الفينولية العضوية والطبقه السفلى تمثل جزء السكر حيث كررت العملية مع خلات الايثايل مرة ثانية وبذلك تم الحصول على الطبقة العليا فقط 50 مل ونقلت الى قنانٍ مضللة لحين اجراء الاختبارات اللاحقة عليها .

3-الفصل والتشخيص النوعي والكمي باستخدام تقنية كروموتوغرافيا السائل العالي الاداء

استخدمت تقنية كروموتوغرافيا السائل العالي الاداء (HPLC) في فصل وتشخيص المركبات الفينولية الموجودة في عينات العسل الناضج وغير الناضج ولموقعين مختلفين (موقع الدندان وموقع كلية الزراعة والغابات / جلمعة الموصل)، نقلت

العينات الى الجهاز المستخدم في اظهار الاشكال البيانية للمركبات المفصولة ومقارنة قيم زمن الاحتجاز لها مع قيم زمن الاحتجاز القياسية للمركبات المفصولة واعتماداً على عمود الفصل الخاص في المركبات الفينولية (C 18)، وبعد اعداد المحاليل القياسية لكل من (حامض الكاليك، هيدروكسي حامض السيناميك، الكومارين، الريسورسينول، حامض السالساليك، الكورستين) والتي تم الحصول عليها وباستخدام تقنية كروموتوغرافيا السائل العالي الاداء في مختبرات كلية الزراعة والغابات والعلوم والتربية والطب البيطري في / جامعة الموصل اضافة الى كلية الطب البيطري / جامعة بغداد، حضرت عن طريق اذابتها في 100 مل من الايثانول ثم حقن (3 ميكروليتر) من كل محلول قياسي في جهاز HPLC باستعمال عمود الفصل C18 وقد استخدم الطور الناقل اسيتونايتريل : ماء مؤين بنسبة 8 : 2 حجم / حجم وبسرعة جريان 1.3 مل / دقيقة وكشف عن الاستجابات الكروموتوغرافية عند طول موجي 280 نانوميتر ونتج من عملية الفصل رسم منحنى لكل محلول .
كذلك حسبت النسبة المئوية لكل مركب فينولي بشكل منفصل في عينات العسل المستخدمة في الدراسة

4 – عزل وتشخيص الفطر

تم عزل الفطر *Nattrassia mangiferae* استناداُ الى طريقة Malloch واخرين مع بعض التحويرات (1981) في العزل من سيقان مصابة بالتقرح حيث جلبت عينات من ساق الروبينيا ر *Robinia psedoacacia* المصابة بالتقرح الى مختبر امراض الغابات / قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات لغرض عزل الفطر الممرض منها حيث غسلت الاجزاء المصابة بالماء الجاري لمدة نصف ساعة، وقطّعت المناطق المحاذية للاصابة الى اجزاء صغيرة لاتتجاوز 0.5 سم ثم عقمت سطحيا باستخدام محلول مائي من 1% هايبوكلورات الصوديوم ولمدة ثلاث دقائق ثم رفعت القطع من المحلول وغسلت بماء معقم وجففت بين ورقتي ترشيح معقمة، زرعت القطع في اطباق بتري معقمة حاوية على الوسط الغذائي اجار البطاطا والدكستروز Potato dextrose agar (PDA) المصنع من شركة Elimidia الهندية مضافاً اليه المضاد الحيوي سلفات الستربتومايسين بتركيز 50 ملغم / لتر لمنع نمو الملوثات البكتيرية بعد التعقيم، وزرعت القطع بمعدل 4قطع /طبق، حضنت الاطباق في ($25^{\pm}2$ سيليزية) ولمدة 3-5 ايام .

فحصت النموات الفطرية النامية حول القطع المعزولة ومن ثم نقيت في اطباق بتري معقمة قطر (8.5) سم حاوية على وسط مستخلص البطاطا والدكستروز والاكار Potato Dextrose Agar (PDA) المضاف اليه المضاد الحيوي سلفات ستربتومايسين بمعدل 50 ملغم/لتر. حضنت الاطباق في ($25^{\pm}2$ سيليزية) في حاضنة المانية الصنع .

نقيت الفطريات المعزولة في انابيب اختبار بابعاد (2×15) سم تحوي على الوسط المغذي اكار البطاطا والدكستروز المائل لحين الحاجة الى استخدامها في التجارب اللاحقة .

شخصت الفطريات المعزولة لمرتبة الجنس تبعا لما اورده Barnett و Hunter (2006) ولمرتبة النوع تبعا لمفاتيح التصنيف التي أوردت من قبل Sutton و Dyco، 1989 كما استخرجت نسب الفطريات المعزولة .

5 - الاختبارات الحيوية لعينات العسل

استخدمت اربعة تراكيز من عسل النحل الناضج بضمنها المقارنة في اختبار حيوية عينات العسل الناضج في تثبيط الفطر *Nattrassia mangiferae* المسبب لمرض تقرح اشجار الروبينيا، حضرت التراكيز (0 % ، 25 % ، 50 % ، 100 %) من عسل النحل الناضج، ثم اضيفت الى اطباق بتري معقمة ومزجت بشكل متجانس مع وسط اكار البطاطا والدكستروز PDA بعد تعقيمها مسبقاً ثم صبت في اطباق بتري صغيرة قطر (4.5) سم، لقحت الاطباق الحاوية على التراكيز السابقة بقرص قطره 5 ملم من الفطر السابق الذكر مأخوذ من حافة مستعمره نامية حديثاً واستخدمت ثلاث مكررات لكل تركيز، اخذت النتائج بحساب متوسط قياس قطرين متعامدين من النمو الميسليومي للفطر ولكل تركيز على انفراد.

النتائج والمناقشة

1 - عزل وتشخيص الفطر

اظهرت نتائج العزل من عينات من قطع من ساق الروبينيا المصابة بمرض تقرح الساق وبعد ازالة طبقة القلف ظهرت سبورات الفطر *Nattrassia mangiferae* H.&P. Sutten & Dyco وشخص الفطر من قبل الاستاذ المساعد (د. انور نوري محمد / امراض نباتات فطرية / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل) وذلك للفترة 1-25 / 4 / 2014 ميلادي حيث تميزت مستعمرة الفطر على الوسط المغذي مستخلص البطاطا والدكستروز والاكار بشكلها القطني وكانت عديمة اللون في بداية النمو ثم تحولت الى اللون الاسود الزيتوني ثم الاسود الداكن وبلغ قطر المستعمرة 8.5 سم بعد مرور (5) خمسة ايام من التحضين وفي درجة 25- 27 سيليزية وبعد اجراء الفحص المجهري تبين ان الفطر كَوَن ابواغ مفصلية arthospores نتيجة تجزئة الغزل الفطري وكانت الابواغ المفصلية شفافة في بادئ الامر ثم اصبح لونها داكناَ بتقدم العمر وتحتوي على اكثر من خلية احياناً وهذه الصفات تطابقت مع صفات الفطر المثبتة حتى مرتبة الجنس ومن قبل Barnett و Hunter، 2006 ولمرتبة النوع تبعا لمفاتيح التصنيف التي اوردت من قبل Sutton و Dyco، 1989 .

2 – الفصل والتشخيص للمركبات الفينولية باستخدام تقنية (HPLC)

تبين من نتائج فصل وتشخيص المركبات الفينولية باستخدام تقنية كروموتوغرافيا السائل العالي الاداء (HPLC) ومطابقة قيم زمن الاحتجاز للمركبات الظاهرة في الاشكال المرسومة من قبل الجهاز مع القيم القياسية لنفس المركبات تشخيص مركبات حامض الكاليك Gallic acid وهيدروكسي حامض سيناميك Hydroxy cinnamic والريسورسينول Resorcinol (جدول ، 1) في عينة عسل النحل غيرالناضج ولموقع الدندان في حين تكرر تشخيص مركبات هيدروكسي سيناميك والريسورسينول اضافة الى مركب كومارين Coumarin وحامض السالساليك في عينة العسل الناضج ولنفس الموقع، كما تكرر تشخيص نفس المركبات في عينة العسل الناضج / دندان اضافة الى مركب الكورسيتين Quercetin وفي

عينة العسل غير الناضج / موقع زراعة وغابات، في حين شخصت مركبات هيدروكسي سيناميك والريسورسينول والسالسليك والكورسيتين Salysalic acid في عينة العسل الناضج ولنفس الموقع.

اما بالنسبة لنسب المركبات الفينولية في عينات العسل فقد تباينت باختلاف المواقع ويتضح من الجدول السابق الذكر ان مركب الريسورسينول اظهر اعلى نسب مئوية من بين المركبات بلغت (47.23%) في عينة العسل غير الناضج / دندان، في حين كان لمركب كومارين ادنى نسبة (2.13%) من بين المركبات المشخصة لاسيما في نفس عينة العسل ولنفس الموقع وتباينت نسب بقية المركبات باختلاف المواقع ونوع عينات العسل فمثلا ً تقاربت نسب مركب الريسورسينول في عينات العسل الاربعة وكانت النسبة مرتفعة في عينة عسل / موقع زراعة وغابات مقارنة مع موقع الدندان، كما تقاربت نسبة الكورسيتين في عينة العسل / زراعة (ناضج وغيرناضج)، اما بالنسبة لحامض السالساليك فقد تقاربت نسبته في الموقعين خاصة العسل الناضج في حين اختلفت نسبته مابين الناضج وغير الناضج / زراعة، كما لوحظ وجود تقارب بين نسب مركب هيدروكسي حامض السيناميك في كلاً من عينتي العسل الناضج وغير الناضج ولكلا الموقعين، اما بالنسبة لحامض الكاليك فقد اقتصر وجوده في عينة العسل غير الناضج / دندان وبنسبة منخفضة بلغت (6.41%) .

ان وجود تباين في نوع المركبات الفينولية ونسبها في عينات العسل المختبرة لربما يعود الى تباين مصادر جمع العسل من قبل الشغالات وهذا ما اكده (Kaškonienė واخرون ، 2009) حيث ذكر ان طبيعة ونوع المركبات الفينولية في العسل تباين باختلاف المناطق التي يتم جمع حبوب القاح منها .

جدول (1) قيم زمن الاحتجاز القياسية Standared retention time والمقاسة والنسبة المئوية للمركبات المشخصة للمركبات الفينولية في عسل النحل بنوعيه الناضج وغير الناضج ولموقين مختلفين

المركبات	Gallic acid		Hydroxy cinnamic acid		Coumarin		Resorcinol		Salicyllic acid		Quercetin	
العينات	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	R_t	%	Rt	%
A1	1.019	6.41	1.465	30.35			1.178	22.43				
A2			1.427	26.04	1.67	4.15	1.192	40.49	1.388	28.26		
A3			1.429	19.82	1.63	2.13	1.19	47.23	1.429	19.82	1.333	28.22
A4			1.478	20.49			1.191	46.93	1.428	29.63	1.334	29.63
المركبات القياسية	1.087		1.402		1.54		1.181		1.380		1.292	

العينة A1 = عسل غير ناضج / دندان ، العينة A2 = عسل ناضج / دندان
العينة A3 = عسل غير ناضج / زراعة وغابات ، العينة A4 = عسل ناضج / زراعة وغابات

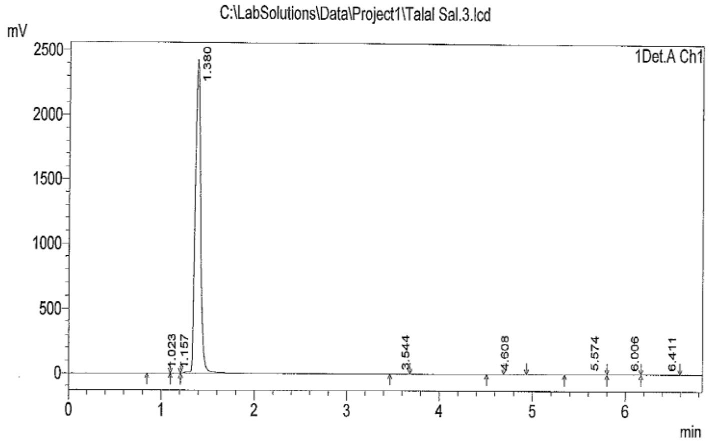
3 - الاختبارات الحيوية لعينات العسل في مكافحة فطر تقرح الروبينيا

تبين من نتائج الاختبارات الحيوية (جدول 2) لاربعة تراكيز من عسل النحل تثبيط نمو الفطر الفطر *Nattrassia mangiferae* المسبب لتقرح الروبينيا وبنسب متفاوتة بلغت اقصاها 100 % وبالاخص عند التركيز (100 %) في حين انخفضت هذه النسب لتبلغ 39.33 % عند التركيز (25 %) من عسل النحل .

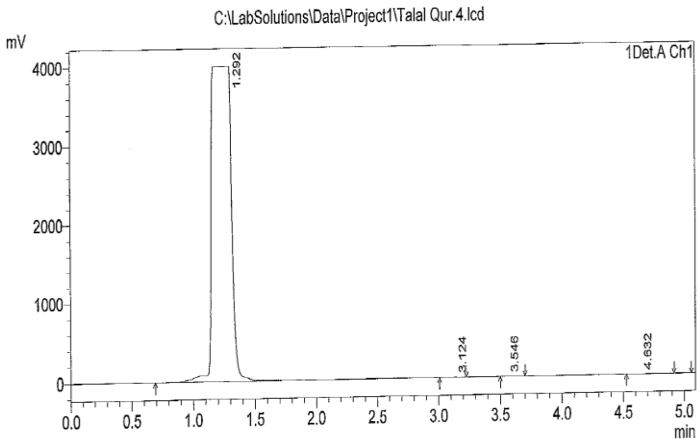
جدول (2) الاختبار الحيوي لتأثير تراكيز مختلفة من عسل النحل الناضج / موقع الزراعة في تثبيط نمو الفطر *Nattrassia mangiferae*

التراكيز / الفطر	% لتثبيط النمو			
	المقارنة	**25%**	**50%**	**100%**
Nattrassia mangiferae	**0**	**36**	**100**	**100**
	0	**40**	**100**	**100**
	0	**52**	**84**	**100**
% لمتوسط النمو	**0 ج**	**39.33 ب**	**94.66 أ**	**100 أ**

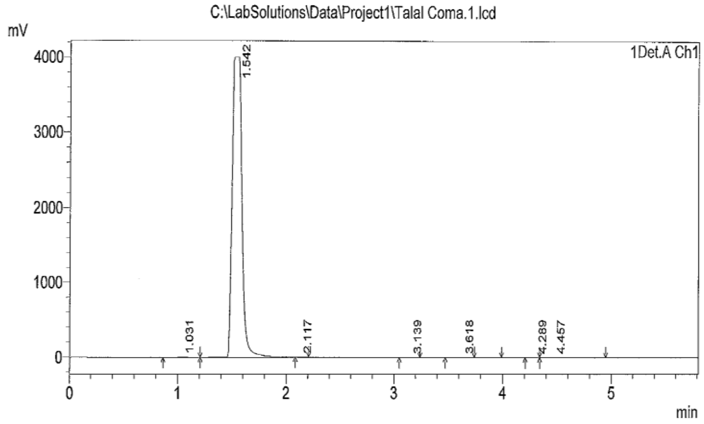
لقد سبق ان شخصت العديد من المركبات الفينولية في عسل النحل فقد بين (Watdam ، 1998) بتشخيص حامضي الكاليك Gallic acid والفيريوليك Ferulic acid ثم تلاه (Weston واخرون ، 1999) في تشخيص حامض السيناميك Cinnamic acid و البنزويك Benzeuic acid ، كما عزل مركب الكاتكين Catechin من عسل النحل المتغذي على نبات myrtle بنسبة 25و0 ومن نبات الروزبري Rosebery 0.21 (Cossu و Almanni ، 2008) ، وان اختلاف مكونات صفات العسل ومحتواه من المركبات الفينولية ولونه تختلف باختلاف الغطاء النباتي الذي تمر به النحل والظروف البيئية ية المحيطة وطبيعة العمليات الحيوية والخزن (Vazquez واخرون ، 2007) .



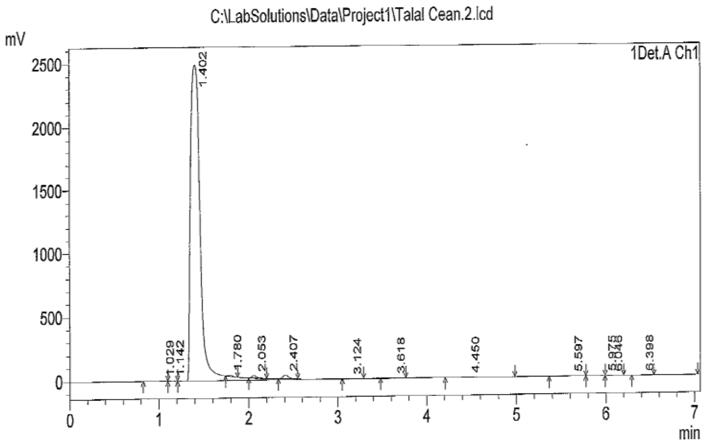
زمن الاحتجاز (دقيقة)
منحنى حامض السالسيلك القياسي



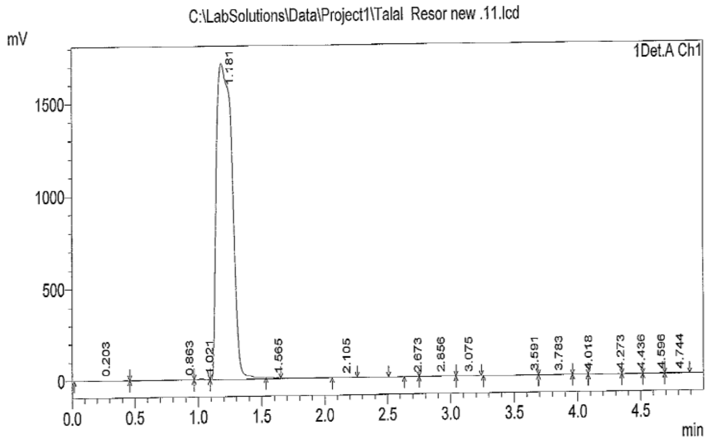
زمن الاحتجاز (دقيقة)
منحنى الكورسيتين القياسي



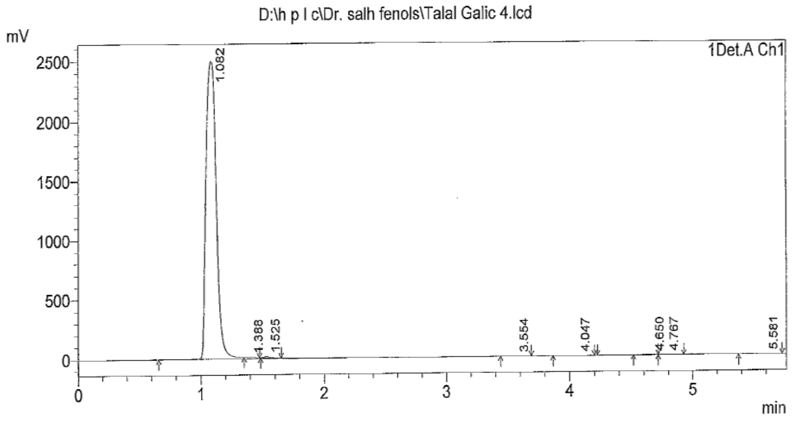
زمن الاحتجاز (دقيقة)
منحنى الكومارين القياسي



زمن الاحتجاز (دقيقة)
منحنى الهيدروكسي حامض السيناميك القياسي



زمن الاحتجاز (دقيقة)
منحنى الريسورسينول القياسي



زمن الاحتجاز (دقيقة)
منحنى حامض الكاليك القياسي

المصادر

1. عبد اللطيف ، محمد عباس (1974) . واحمد محمود ابو النجا . عالم النحل ومنتجاته . دار المطبوعات الجديدة . 310 ص.
2. Anklam,E.(1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey .Food Chemistry ,63:549-562

3. Atrouse, O.; Oran A. ; Al-Abbadi, Y. (2004) . Chemical analysis and identification of pollen grains from different Jordanian honey samples International Journal of Food Science & Technology .Vo.39 Issue 4 Page 413 – April .
4. Baltrušaitytė V., Venskutonis P. R., Čeksterytė V. (2007) . Radial scavenging activity of different floral organ honey and beebread phenolic extracts , food chemistry , Food Chemistry . Vol. 101. P. 502–514.
5. Barnett, H. L. and B. B. Hunter (2006) . Illestrated genera of Imperfect fungi . Burgess Publishing Company 241 pp .
6. Cossu M. and M. C.Alamanni(2008) dentification and quantification of antioxidant compounds and evalution of correlates physical-chemicail features of honey of honey from various flora soures . Massimo Dipartimento di Scienze del Farmaco ,30 Maggio , Aula Magna della Facoltà di Scienze – Sassari ,University of Sassari, Italy ,P2 , p. :56-57.
7. Gallander,J.(1985). Major organic acids in fruit , Department of Horticulture, Ohio State University : The Science Workbook: Student Research Projects in Food-Agriculture : C. F. Stein, W. H. and S. Moore . (1951) "Chromatography". Scientific American March
8. Gheldof N., Wang XH, Engeseth N.J. (2002).Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. J Agric Food Chem 50:5870–5877
9. Goncharova, I. A., A. N. Khomenko and A. D. Semenov (1974).Nasa, technical translation NASA TT F-,15942 ,Determination of nonvolatile carboxylic acids in naturar waters Translation of "K opredeleniyu neletuchikh, karbonovykh kislot v prirodnykh vodakh," Gidrokhimicheskiye Materialy,Vol. 41, 1966, pp. 116-120 .
10. Harborne, J. B. (1973) . Phytochemical Methods Halsed Press , A Division of John Wiley and Sons Inc. New York .
11. Joshi S. R., Pechhacker H., Willam W., von der Ohe W. (2000). Physic-chemical characteristics of Apis dorsata , Apis cerena and Apis melifera honey from chitwan district , Central Nepal Apidologie. (2000) Vol. 31. P. 367–375.
12. Kaškonienė,V. A. Maruška, O. Kornyšova . Charczun, M. Ligor,and wski (2009) Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey ISSN 1392 – 1231. Chemicaltechnologija .. Nr. 3 (52) .
13. Malloch, D. (1981). Moulds : their isolation, cultivation and identification University of Torento Press, Torento, Ont. From : Hutchison, L. J. (1999). Wood - I inhabiting microfungi isolated from Populus tremuloides from Alberto and Northeast British Columbia . Can. J. Box . 77 : 898-905 .
14. Michalkiewicz, A; Biesaga, M; Pyrzynska, K.(2008) . Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey. J Chromatogr A, 1187, 18–24 .
15. Persano Oddo L., R.Piro (2004) Main European honey : descriptive sheets- European unifloral honeys – Apidologie 35 (suppl 1) pp S38-S81 – 2004
16. Sutton, B. C. and B. J. Dyko (1989). Revision of Hendersonula .Mycol.Research, 93:466-488.
17. Tsiapara A. V., Jaakkola M., Chinou I., Graikou K.,Tolonen T., Virtanen V.,Moutsatsou,P.(2009).Compatibility and fruit-Set in cashew (Anacardium occidentale L.) Olawale Mashood,Food chem, vol. 116, no. 3, pp. 702-708, 2009.
18. Vazquez, Laura., Alexis Verdu, Ana Miquel, Francisco Burlo and Angel A.Carbonell-Barrachina ,(2007). Changes in physico-chemical properties, hydroxymethylfurfural and volatile compounds during concentration of honey and sugars in Alicante and Jijona turr. Eur Food Res Technol 225:757–767.
19. Watdam; R. J., Kevin R. and K. L. Allen (1998). Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey. Food Chemistry Vol.64 , Issue 3, Pages : 295–301
20. Weston RJ, Mitchell KR, Allen KL. (1999). Antibacterial phenolic components of New Zealand manuka honey. Food Chem Vol. 64: 295–301.