

تقدير المركبات الفينولية الكلية في أوراق الزيتون كمعلم حيوي لتقييم التلوث بالرصاص في منطقة بانياس

د. كامل خليل¹

د. شهيد مصطفى²

عبير محفوض³

(تاريخ الإيداع 8 / 7 / 2018. قُبِلَ للنشر في 5 / 11 / 2018)

□ ملخص □

هدف البحث إلى تعيين كمية المركبات الفينولية الكلية لأوراق شجر الزيتون *Olea europaea* L كمعلم حيوي لتقييم التلوث الجوي بالرصاص في منطقة بانياس كونها النوع السائد في منطقة الدراسة. جمعت عينات الأوراق من 6 مواقع على مسافات مختلفة من محيط مصفاة بانياس (0.1، 0.5، 2، 4، 6، 10) كم باتجاه الشرق على اعتبار أن الرياح السائدة في المنطقة غربية - جنوبية غربية خلال فصلي الشتاء (آذار) والصيف (أيلول)، تم أخذ الشاهد من منطقة تبعد حوالي 20 كم عن المصفاة باتجاه الشمال-الشرق (ريف القرداحة). تراوح تركيز المركبات الفينولية الكلية خلال فصل الصيف (45.6-70.85) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف وفي منطقة الشاهد (40.4) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف، وفي فصل الشتاء (35.6-52.9) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف وفي منطقة الشاهد (25.8) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف، أما بالنسبة لقيم الرصاص في الأوراق غير المغسولة كانت خلال فصل الصيف (0.879-2.170 ppm) وفي منطقة الشاهد (0.005 ppm) وخلال فصل الشتاء (0.479-1.023 ppm) وفي منطقة الشاهد (0.0008 ppm). لوحظ من النتائج وجود فروق معنوية في تركيز كل من المركبات الفينولية الكلية والرصاص بين المواقع (اختبار Anova)، وارتفاع في تركيز كل من الفينولات الكلية والرصاص في فصل الصيف مقارنة مع القيم في فصل الشتاء في جميع المواقع (اختبار *t-test*)، كما بينت النتائج وجود علاقة ارتباط سالبة بين تراكيز كل من المركبات الفينولية الكلية وكذلك تراكيز الرصاص مع المسافة عن مصفاة بانياس، كما بينت النتائج وجود علاقة ارتباط موجبة بين تراكيز المركبات الفينولية الكلية وتراكيز الرصاص بين الصيف والشتاء في جميع المواقع. وأخيراً، بينت النتائج إمكانية الاعتماد على تركيز المركبات الفينولية الكلية كمعلم حيوي لتلوث الهواء بالرصاص في منطقة بانياس.

الكلمات المفتاحية: معلم حيوي، المركبات الفينولية الكلية، الرصاص، التلوث الجوي، أوراق الزيتون، مصفاة بانياس، سورية.

¹أستاذ - قسم الوقاية البيئية - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

²أستاذ - قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية .

³طالبة ماجستير - قسم الوقاية البيئية - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

Estimation of Total Phenolic Compounds In Olive Leaves As Biomarker For Assessing The Lead Pollution At Banias Area.

Dr. Kamel Khalil¹
Dr. Chahid Moustapha²
Abeer Mahfoud³

(Received 8 / 7 / 2018. Accepted 5 / 11 / 2018)

□ ABSTRACT □

The aim of this study was to estimate the total amount of phenolic compounds of olive trees leaves (*Olea europaea* L.) as Biomarker for the assessment of lead air pollution at Banias area. Olive trees were selected as the predominant species in the study area. The samples were collected from 6 locations at different distances from the vicinity of the Banias refinery (0.1, 0.5, 2, 4, 6, 10) Km. The dominated wind in the region is western - southwesterly during the winter (March) and summer (September), The control was taken from an area about 20 km from the refinery to the north-east (al-Qardahah rural). The concentration of total phenolic compounds (TPC) during the summer was (45.6-70.85) mg GAE/g dw and in the control (40.4) mg GAE/g dw, and during the winter the content of TPC was (35.6-52.9) mg GAE/g dw and in the control (25.8) mg GAE/g dw. The concentration of Lead (Pb) in unwashed leaves during the summer was (0.879 – 2.170) ppm and in the control (0.005) ppm, whilst during the winter was (0.479-1.023) ppm and in the control (0.00083) ppm. The results showed significant differences in the concentration of total phenolic compounds and lead between sites (Anova test). High concentration of total phenols and lead in the summer compared to values in winter at all sites (*t*-test). The results also showed a negative correlation between the concentration of total phenolic compounds and lead with the distance from the refinery of Banias. Finally, The results showed that the TPC can be used as biomarker of lead air pollution in Banias area.

Keywords: Biomarker, Total phenolic compounds, Lead, Air pollution, Olive leaves, Banais refinery. Syria.

¹ Professor, Department of Environmental Protection, Higher Institute of Environmental Research, Tishreen University, Lattakia, Syria

² Professor, Chemistry Department, Science Faculty, Tishreen University, Lattakia, Syria.

³ Master students, Department of Environmental Protection, Higher Institute of Environmental Research, Tishreen University, Lattakia, Syria

مقدمة:

يعد تلوث الهواء والأراضي الزراعية أحد أهم المشاكل البيئية في العالم، وقياس ورصد الملوثات الجوية في الهواء المحيط خطوة أساسية للحد من التلوث، حيث تتعدد التقنيات المتبعة لرصد التلوث الجوي ومنها جمع الجسيمات العالقة بالهواء Airborne particles بواسطة مرشحات خاصة، حيث يتم إتباع عدة طرائق حساسة ودقيقة لقياس تركيز المعادن الثقيلة Heavy metals المجمعة (Hassanien, 2011; Ghelich et al., 2012)، أو عن طريق قياس تركيز العناصر الثقيلة في مياه الأمطار (ALQutob et al., 2016). ونظراً لكون الطرائق السابقة لا توفر معلومات شاملة حول تأثير هذه العناصر على المكونات الحية للنظم البيئية (Ristic et al., 2013)، زاد استعمال الكائنات الحية وخاصة النباتات في رصد وتقييم المخاطر الناتجة عن التلوث بشكل غير مباشر بما يعرف بالرصد الحيوي للتلوث Biomonitoring. ركزت دراسات الرصد الحيوي على استعمال النباتات باعتبار الغطاء النباتي من المكونات الأساسية للنظم البيئية ولسهولة جمع العينات وتوافرها، ولما للغطاء النباتي من دور في تحسين جودة الهواء (Burzynski & Klobus, 2004; Anzar et al., 2009, Norouzi & Khademi, 2015).

يعرف الرصد الحيوي بأنه استعمال استجابات حيوية Biological response (على مستوى الكائن الحي أو المجتمع الحيوي) لتقييم حالة البيئة Environmental assessment، ويعتمد على التغيرات الكمية والنوعية أو كليهما. يشمل الرصد الحيوي استعمال مؤشرات حيوية Bioindicators، ومعالم حيوية Biomarkers أو مراكمات حيوية Bioaccumulators (Klumpp et al., 1994; McCarty et al., 2002; Balasooriya et al., 2009). اعتمدت الأوراق النباتية في مجموعة كبيرة من الدراسات كمراكمات حيوية باعتبارها خزان لتجميع العناصر الثقيلة مباشرة من الجو (Oliva & Mingorance, 2006; Norouzi & Khademi, 2015)، واستعملت مركبات الاستقلاب الثانوية النباتية كالمركبات الفينولية كمؤشرات أو معالم حيوية للتلوث الجوي (Pasqualini et al., 2003; Lattanzio et al., 2006).

يعد الرصاص (Pb) من أكثر المعادن الثقيلة المعروفة بتلويثها للبيئة (Ghelich et al., 2012). يوجد مصادر عديدة للتلوث بالرصاص منها وسائل المواصلات، ومصافي النفط...وما إلى ذلك (Sharma & Dubey, 2005)، حيث تطلق مصافي النفط بالإضافة إلى الملوثات الغازية (أكاسيد كبريت وأزوت) العديد من المعادن الثقيلة: كادميوم، ونحاس، وزنك يعد الرصاص من أهم هذه العناصر (Alonso-Hernandez et al., 2011). فالرصاص عنصر غير أساسي للعمليات الاستقلابية للنبات، (Sharma & Dubey, 2005). يسبب الرصاص آثار سلبية سامة للعديد من العمليات الحيوية مثل منع إنبات البذور، واصفرار الأوراق، و كبح نمو الأوراق والجذور، و يؤثر على اصطناع الـ DNA و في الفعاليات الانزيمية (Azad Noorani et al., 2011). يكون الرصاص متاح Available للنبات إما عن طريق التربة حيث يتراكم في الجذور أو عن طريق الجو عبر ترسب Deposition الجسيمات الهوائية الدقيقة على الأوراق حيث أن 95% من الرصاص في المجموع الخضري للنباتات عائد للأخذ Uptake الجوي (Zhelyjzakov & Nielson, 1996; Hu et al., 2014). وبالرغم من آثاره السلبية على النسيج النباتية لوحظ من خلال مجموعة كبيرة من الدراسات قدرة بعض النباتات على التأقلم مع التراكيز العالية من الرصاص (≤ 1000 ppm)، بلغ تركيز الرصاص في دراسة (Pais & Jones, 1997) قيم أكبر من 10000 ppm ضمن نسيج البراعم وهذا يفوق الحدود المسموحة، وفي دراسة (Ghaderian et al., 2007) بلغ تركيز الرصاص في أوراق الزيزفون والصنوبر 660 و 740 ppm على التوالي، وفي أوراق مجموعة من أشجار الحمضيات بلغ تركيز الرصاص (20 - 47 ppm)، أما في

الثمار فبلغ (600 ppm) (Habib *et al.*, 2012)، ويمكن تفسير القدرة العالية لبعض الأنواع النباتية في تحمل التراكيز العالية من الرصاص بأليتين، الأولى عائدة لقدرة النبات على حجز الرصاص في الجدران الخلوية وبالتالي نسبة قليلة من الرصاص قد تؤثر على المكونات الخلوية ، الآلية الثانية تتمثل بتحفيز استجابات دفاعية مضادة للتأكسد كنتيجة للتركيز العالي من الرصاص المسببة بدورها لزيادة في تركيز المركبات الأوكسجينية النشطة ROS (Sahrma & Dubey, 2005).

تنتج كل النباتات مركبات استقلابية ثانوية Secondary metabolites، تعد المركبات الفينولية من أهم هذه المركبات حيث أشارت العديد من الدراسات إلى زيادة تركيز المركبات الفينولية الكلية Total phenolic compounds (TPC) في النبات كرد فعل تجاه التراكيز العالية من المعادن (Michalak, 2006; Ghelich *et al.*, 2012; Stancheva, 2015; Pazoki, 2015; *et al.*، 2014)، حيث تسبب المعادن الثقيلة (التركيز العالي من الرصاص) إنتاج وتراكم المركبات الأوكسجينية النشطة (Reactive oxygen species: ROS) كالجذور الحرة Free radicals في الخلايا والأنسجة النباتية والتي تسبب إجهاد تأكسدي Oxidative stress يمكن أن يضر بمكونات الخلايا مثل اللبيدات و السكريات و البروتينات، و الـ DNA (Sharma *et al.*, 2007; Kovacik *et al.*, 2005; Reddy *et al.*, 2000; Pietta, 2000; Reddy *et al.*, 2005; Kovacik *et al.*, 2007; Sharma *et al.*, 2008)، ولكن في دراسة (Najafi & Jamei, 2014) لوحظ انخفاض في تركيز المركبات الفينولية عند التراكيز العالية من الرصاص (120 ppm) مقارنة بالشاهد.

أهمية البحث وأهدافه:

- أهمية البحث:

تعد شركة مصفاة بانياس من أهم مصادر التلوث الجوي في المنطقة الساحلية السورية. حيث أقيمت المصفاة بموجب العقد رقم /20/ لعامين 1974 - 1976 الموقع مع شركة اندستريال اكسبورت امبورت الرومانية بهدف تكرير النفط الخام وإنتاج المشتقات النفطية بطاقة تكريرية سنوية مقدارها 6 مليون طن (https://ar.wikipedia.org). لا بد من التنكير بوجود مصادر صناعية أخرى في المنطقة (الشركة السورية لنقل النفط، المحطة الحرارية) يضاف إلى ذلك الطريق الدولي بين طرطوس واللاذقية (وسائل المواصلات) والتي تسبب تلوث الهواء في مدينة بانياس. تأتي أهمية هذا البحث في استعمال الرصد الحيوي لتحديد كفاءة أوراق الزيتون في تقييم نوعية الهواء من خلال تعيين تركيز المركبات الفينولية الكلية كرد فعل حيوي لتراكم الرصاص في الأوراق.

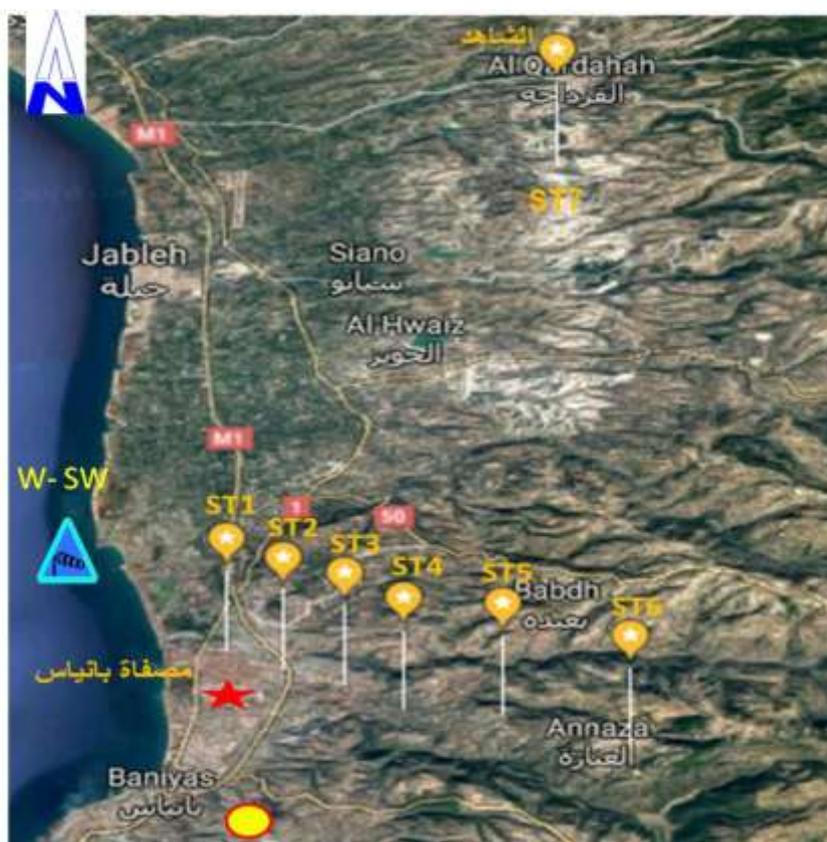
- أهداف البحث:

- ❖ تقدير تركيز المركبات الفينولات الكلية والرصاص في أوراق الزيتون.
- ❖ إيجاد العلاقة بين تركيز كل من المركبات الفينولية و تركيز الرصاص في أوراق الزيتون مع المسافة (الابتعاد عن المصفاة).

طرائق البحث ومواده:

1- منطقة الدراسة:

تقع منطقة الدراسة (مصفاة النقط) إلى الشمال من مدينة بانياس ("N 35°13'19" – E 35°57'55") (شكل 1) وتقدر مساحة المصفاة (3.5) كم² وتتميز منطقة الدراسة بمناخ متوسطي معتدل حيث متوسط درجة الحرارة السنوي 19.3 درجة مئوية ومعدل الأمطار السنوية 600-1200 مم (<https://ar.climate-data.org>) والرياح السائدة هي رياح غربية- جنوبية غربية بنسبة حدوث تصل لـ 40% (إبراهيم، 2008). ويحيط بها أراضي زراعية تسود فيها بشكل أساسي بساتين الزيتون إضافة إلى زراعة الخضار الحقلية والمحمية.



الشكل (1): مناطق جمع العينات، تظهر المصفاة بالنجمة الحمراء والمواقع (ST) مرقمة ومحددة بالأصفر

(صورة قمر صناعي مأخوذة من Google-map)

2- النوع النباتي المختار:

تعد شجرة الزيتون (*Olea europaea* L.) واحدة من أقدم النباتات المعروفة في منطقة المتوسط، يوجد أكثر من 8 مليون هكتار من أشجار الزيتون المزروعة حول العالم 98% منها يوجد في حوض البحر المتوسط (Peralbo- Molina & Luque de Castro, 2013) يقدر عدد الأشجار في سورية بـ 105 مليون شجرة (<http://www.thaweaonline.sy>)، وعلى اعتبار أن أشجار الزيتون هي من الأنواع السائدة في الساحل السوري فقد اعتمدت أوراق الزيتون (OL) Olive leaves لإجراء هذا البحث.

3- مواقع جمع العينات:

اختيرت 6 مواقع (ST) Stations على أبعاد مختلفة (جدول 1) إلى الشرق (E) من مصفاة النفط على اعتبار أن الرياح السائدة هي رياح غربية- جنوبية غربية وأختير موقع الشاهد (ST7) في ريف القرداحة على بعد 20 كم من موقع المصفاة (الشكل 1).

جدول (1): مواقع جميع العينات، بعدها عن مصفاة بانياس، الاتجاه، الارتفاع عن سطح البحر (تم تحديدها من Google earth)

اسم الموقع	المسافة عن المصفاة (كم)	الاتجاه بالنسبة للمصفاة	الارتفاع عن سطح البحر (م)	Latitude and Longitude
ST 1	0.1	*E	30	35°13'39"N 35°57'54"E
ST 2	0.5	E	56	35°13'18"N 35°58'53"E
ST 3	2	E	145	35°12'59"N 35°59'53"E
ST 4	4	E	127	35°12'32"N 36°00'51"E
ST 5	6	E	406	35°12'20"N 36°02'24"E
ST 6	10	E	535	35°11'42"N 36°04'23"E
ST 7 (الشاهد)	20	**NE	235	35°24'59"N 36°03'14"E

*شرق E

**شمال شرق NE

4- جمع عينات أوراق الزيتون:

جمعت عينات أوراق الزيتون من المواقع المختارة (جدول 1)، أخذ ثلاث مكررات من كل موقع (جمع كل مكرر من شجرة واحدة) مع مراعات جمع الأوراق من جميع الجهات للشجرة الواحدة بهدف الحصول على عينة ممثلة للموقع وإلغاء تأثير الرياح ومراعاة أن تكون الأوراق بنفس الحجم (نفس العمر) وعدم وجود أي إصابات ظاهرة عليها (Norouzi & Khademi, 2015). وُضعت العينات في أكياس بلاستيكية معقمة ونظيفة نقلت العينات للمختبر بنفس اليوم. جُمعت العينات في بداية شهر آذار (2016/3/6) كتعبير عن فصل الشتاء الماطر Winter وفي بداية أيلول (2016/9/3) كتعبير عن فصل الصيف الجاف Summer.

5- تحضير العينات والتحليل:

1.5.3 تَعْيِين المَرَكَبَات الفِينُولِيَّة فِي أَوْرَاقِ الزَّيْتُون:

❖ تجفيف العينات:

تركبت العينات لتجف طبيعياً مع مراعاة عدم تعرضها للحرارة والرطوبة أو الإضاءة بدرجة حرارة الغرفة (Stankovic, 2011)، طُحنت الأوراق المجففة ونُخلت بمنخل بقطر 2 مم

❖ عملية الاستخلاص بالنقع:

استُخلصت المركبات الفينولية الكلية من الأوراق المطحونة باتباع طريقة النقع بالميتانول لكل عينة مدة 48 ساعة ثلاث مرات بدرجة حرارة الغرفة (Stankovic, 2011). يعد الميتانول أفضل المذيبات العضوية لاستخلاص المركبات الفينولية الكلية (Brahmi et al., 2012)، وُشحت الخلاصة خلال ثلاث مراحل (أي بالاستخلاص المتتابع للعينة بالميتانول كل 48 ساعة) باستعمال أوراق ترشيع. تم تبخير الميتانول بواسطة جهاز المبخر الدوار في المعهد العالي لبحوث البيئة، عند درجة حرارة 32 م°، ثم حُفظت الخلاصة بأوعية زجاجية معقمة و مغلقة بالبراد لحين التحليل.

❖ تحديد تركيز الفينولات الكلية بطريقة كاشف فولن (Folin–Ciocalteu reagent FCR):

حُد تركيز المركبات الفينولية الكلية باتباع طريقة (Singleton *et al.*, 1999) مع بعض التعديل حسب Spectrophotometer (Ainsworth & Gillespie, 2007; Stankovic, 2011) وسُجّل الامتصاص بجهاز الـ عند طول موجة $\lambda_{max} = 765 \text{ nm}$ ، في بالون معايرة أُضيف 0.5 مل من الخلاصة الميتانولية بتركيز 1 ملغ/مل و2.5 مل من كاشف فولن 10% (الممدد بالماء المقطر)، وبعد دقيقتين أُضيف 2.5 مل من 7.5% من NaHCO_3 (أُضيف كاشف فولن قبل NaHCO_3 لمنع حدوث أكسدة للمركبات الفينولية بالهواء)، حُضرت عينة الـ الشاهد Blank بنفس الطريقة دون إضافة الخلاصة الميتانولية بل أُضيف بدل منها 0.5 مل من الميتانول. تُركت العينات لمدة دقيقتان دون تعرضها للإضاءة (حيث أن الكاشف حساس للإضاءة)، ثم وُضعت بحمام مائي بدرجة حرارة 40 م° لمدة ساعة (لُوحظ أن الحمام المائي يُسرّع التفاعل ويُلاحظ ذلك من خلال تغير لون العينة). عُينت الامتصاصية ثلاث مرات لكل عينة وتم تحديد المتوسط الحسابي للمعاملات الثلاث، بالاعتماد على منحني معايرة حمض الغاليك.

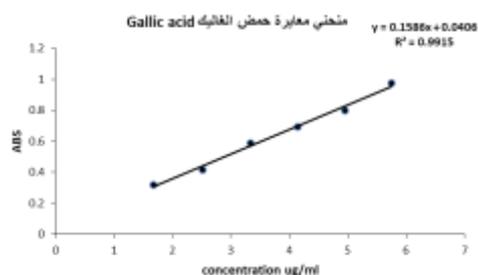
2.5.3 تعيين الرصاص في أوراق الزيتون:

❖ تجفيف العينات:

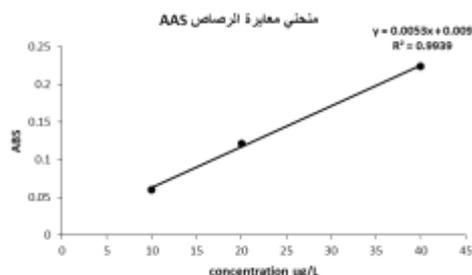
جففت العينات بالفرن الكهربائي بدرجة حرارة 105 م° حتى ثبات الوزن ثم طحنت العينات بخلاط ذو شفرات غير معدنية ومغسولة بالماء المقطر ثم نخلت بمنخل بقطر 250 ميكرومتر (0.25 مم) للحصول على أجزاء صغيرة، ثم حفظت المادة المطحونة لكل عينة ضمن عبوة خاصة من البولي إيثيلين إلى حين التهضيم (Chang *et al.*, 2014)

❖ تهضيم وقياس العينات:

هُضمت العينات بإتباع طريقة (Zheljzakov & Nielsen, 1996) مع التعديل حسب (Hseu, 2004). أخذ 0.2 غرام من كل عينة وأُضيف له 3 مل من حمض الأزوت (55–57%) في ارلنماير، ترك لمدة خمس دقائق، ثم وضع على سخان كهربائي وضبط على حرارة ثابتة 150 م° حتى تهضيم كامل المادة المطحونة وزوال اللون بدون وجود أي راسب، تم غسل الجدران الداخلية للارلنماير بماء مقطر لمنع فقدان أي جزء من العينة، ثم مددت العينات بـ 25 مل من الماء ثنائي التقطير. حفظت العينات بعبوات بولي إيثيلين بالبراد لحين التحليل. تم قياس تركيز الرصاص باستخدام جهاز الامتصاص الذري Atomic absorption spectrometer VARIAN 220 بتقنية الفرن الغرافيتي في المعهد العالي للبحوث البحرية حسب الشروط التحليلية المعتمدة لتحليل عنصر الرصاص.



(b)



(a)

الشكل (2): (a) منحني معايرة الرصاص بجهاز الامتصاص الذري تقنية فرن الغرافيت AAS graphite furnace، (b) منحني معايرة حمض الغاليك UV-Vis Spectrophotometer

جدول (2): البرنامج الحراري لتقنية الفرن الغرافيت - جهاز الامتصاص الذري graphite furnace AAS

البرنامج الحراري لتقنية الفرن الغرافيتي	مرحلة التجفيف	مرحلة الترميد	مرحلة التحليل	مرحلة التنظيف
درجة الحرارة	120 درجة مئوية	400 درجة مئوية	2100 درجة مئوية	2100 درجة مئوية
المدة	55 ثانية	8 ثانية	3 ثانية	2 ثانية
تدفق الغاز	3 لتر/ دقيقة	3 لتر/ دقيقة	-	3 لتر/ دقيقة
عرض الشق	0.5			
تيار اللمبة	10			
نوع اللمبة	HCL			
نوع الغاز الحامل	Argon			

التحليل الإحصائية:

تم حساب المتوسط الحسابي Mean (لثلاث مكررات) مع حساب الانحراف المعياري Standard deviation. وإجراء اختبار (t -test) لتحديد معنوية الفروقات بين المتوسطات، واختبار فرق التباين (Anova- one-way analysis of variance) وحساب أقل فرق معنوي LSD (Protected least significant difference) عند مستوى المعنوية (0.05). كما تم حساب علاقات الارتباط بين قيم المتغيرات المدروسة Pearson correlation coefficient (r) بالاستعانة بالبرنامج الإحصائي Minitab 16.

النتائج والمناقشة:

1- تركيز الرصاص في أوراق الزيتون:

جرى تقدير تركيز الرصاص في عينات أوراق الزيتون خلال فصلي الشتاء والصيف، وعرضت النتائج كمتوسط حسابي (3 مكررات) مع الانحراف المعياري حسب الأشكال (3-4-5). تراوح تركيز الرصاص خلال فصل الصيف (0.879-2.170 ppm) وفي منطقة الشاهد (0.005 ppm) وخلال فصل الشتاء (0.479-1.023 ppm) وفي منطقة الشاهد (0.00083 ppm)، مع العلم أن التراكيز الطبيعية للرصاص في النبات هي أقل من 3 ppm (Allen, 1989) أو 0.1-10 ppm (Kabata-Pendias & Pendias, 2001). تشير الأحرف المتشابهة (الشكل 2-3) إلى عدم وجود فرق معنوي في قيم الرصاص بين المواقع حسب اختبار تحليل التباين في اتجاه واحد عند مستوى المعنوية $p < 0.05$. وكانت قيم المواقع (ST1-ST6) أعلى من قيم الشاهد (ST7) في كلا الفصليين. تختلف الأنواع الشجرية بقدرتها التراكمية من حيث النوع الشجري ومصدر التلوث (Sawidis *et al.*, 2011)، ففي دراسة (Turan *et al.*, 2011) قدر الرصاص في أوراق الزيتون في مدينة أضنة (تركيا) وكان 33 ppm بجوانب الطرق وفي المدينة 42 ppm مع قيمة عظمى 87 ppm، كما قدر الرصاص في أوراق الدفلة *Nerium oleander* بـ 2.9 ppm في مناطق حول مصفاة النفط في المنامة (البحرين) (Salih *et al.*, 2017)، أما

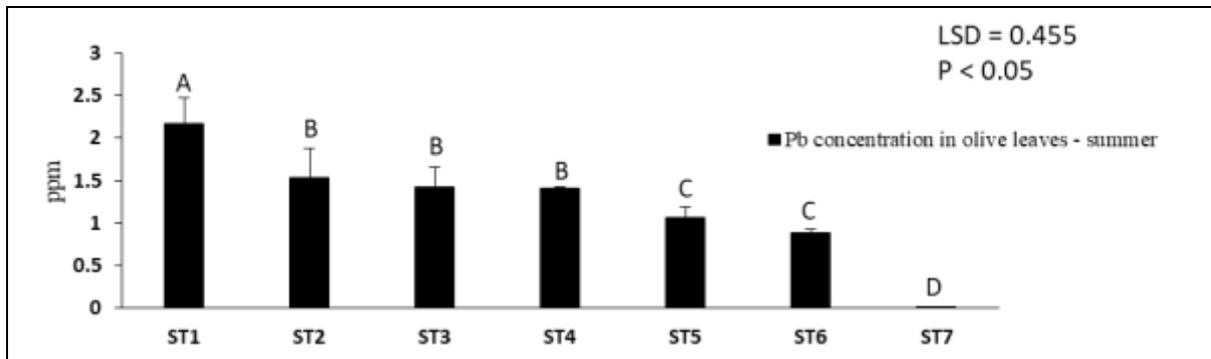
في أوراق أشجار الصنوبر البروتي *Pinus brutia* والسرو الدائم الاخضرار *Cupressus sempervirens* في مناطق حول مصفاة بانياس كانت القيم 30 ppm و 31 ppm على التوالي (إبراهيم، 2014) توافقت النتائج مع دراسة (Al-Dabbas *et al.*, 2012) التي بينت ارتفاع في تركيز الجسيمات العالقة بالهواء PM أو suspended particles (TSP) الحاملة للعناصر الثقيلة في الهواء المحيط بمصفاة كركوك خلال فصل الصيف- الخريف (تشرين الأول) بالمقارنة مع فصل الشتاء-الربيع (آذار). أيون الرصاص ضعيف الحركة في النبات وبالتالي قليل الانتقال من الجذور إلى الأجزاء العلوية، حيث تعمل الجذور كحاجز ضد انتقال المعادن الثقيلة كالرصاص Translocation إلى الأفرع الهوائية وهذا يعد آلية دفاع ميكانيكية تحصل في الجذور كعامل حماية لمنع تلوث الأجزاء الهوائية (Kastori *et al.*, 1998) ولكن في حال التراكيز العالية من الرصاص في التربة يتم انتقال جزء أكبر من الرصاص من الجذور إلى الأفرع كنتيجة إلى اضطراب بلازما الأغشية الخلوية (Ghelich *et al.*, 2012) ولكن تبقى النسبة الأكبر من الرصاص المتراكم بالأجزاء الهوائية نتيجة للترسب الجوي (Hu *et al.*, 2014)، يضاف إلى ذلك وجود اختلاف في تركيز الرصاص بين الأوراق المغسولة وغير المغسولة والذي قد يصل في بعض المناطق المعرضة للتلوث لأكثر من 85% وهذا يؤكد أثر التلوث الجوي في تراكم الرصاص ضمن الأجزاء الهوائية (Udosen *et al.*, 2017) كما هو الحال في دراستنا، حيث لم يتم غسل الأوراق بهدف دراسة التلوث الجوي المترسب للجسيمات العالقة في الهواء PM، من ناحية أخرى، نلاحظ انخفاض تركيز الرصاص بالابتعاد عن المصفاة (المسافة) أي أن هناك علاقة ارتباط معنوية سالبة بمعامل ارتباط (r) في فصل الصيف (-0.941) وفي فصل الشتاء (-0.935).

بينت النتائج (الشكل 5) وجود فروق معنوية في تركيز الرصاص لكل موقع من المواقع بين فصلي الصيف والشتاء (حسب اختبار t-test عند مستوى معنوية 0.05) حيث كان تركيز الرصاص خلال فصل الصيف أعلى من فصل الشتاء في جميع المواقع المدروسة وهذا يتوافق مع بعض الدراسات التي تبين وجود اختلافات فصلية في تركيز العناصر الثقيلة وخاصة عنصر الرصاص حيث يزداد تركيزها في فصل الصيف (Khattak & Jabeen, 2012, Mansour, 2014). توافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة (Al-Dabbas *et al.*, 2015) حيث كانت قيم الرصاص في أوراق الاوكالبتوس *Eucalyptus camaldulensis* في مدينة كركوك (العراق) حول مصفاة كركوك، ضعيفة في فصل الشتاء ppm (0.01-4) مقارنة مع فصل الخريف (0.2-10 ppm) وهذا عائد إلى تأثير سرعة الرياح العالية والأمطار في فصل الشتاء في إزالة وغسل الملوثات عن سطح الأوراق وذكر بأن قيم الرصاص ليست عائدة لتأثير مصفاة النفط في مدينة كركوك فقط بل أن لحركة المواصلات تأثير واضح.

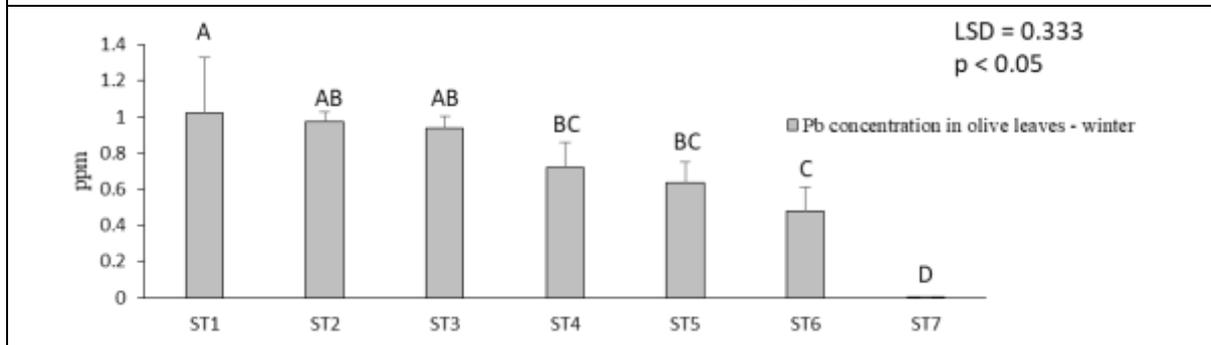
2- تركيز المركبات الفينولية الكلية في أوراق الزيتون:

تم حساب تركيز المركبات الفينولية الكلية في أوراق الزيتون مقدرة بالـ (ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف) في كل موقع كمتوسط حسابي لثلاث مكررات مع الانحراف المعياري حسب كل فصل (شكل 6-7-8). تراوح تركيز المركبات الفينولية الكلية خلال فصل الصيف (45.6-70.85) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف وفي منطقة الشاهد (40.4) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف وفي فصل الشتاء (35.6-52.9) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف وفي منطقة الشاهد (25.8) ملغ مكافئ حمض الغاليك/غرام للوزن الجاف وتشير الأحرف المتشابهة (الشكل 6-7) إلى عدم وجود فرق معنوي في قيم المركبات الفينولية الكلية بين المواقع حسب

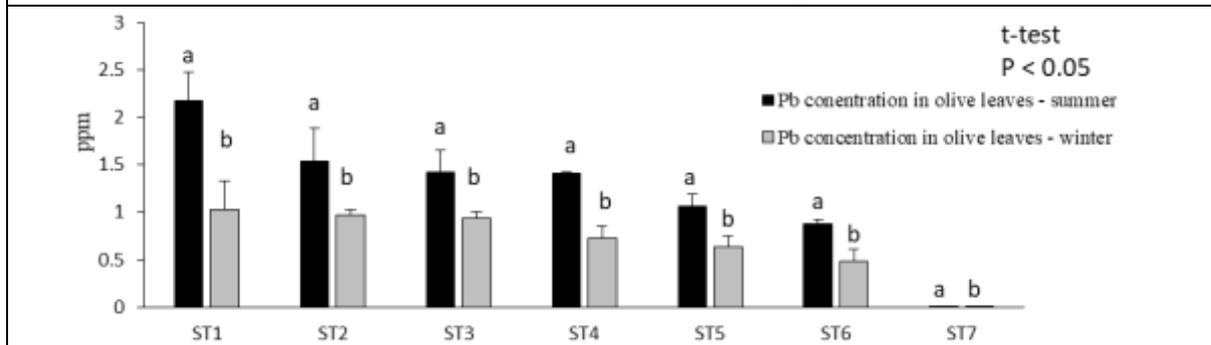
اختبار تحليل التباين في اتجاه واحد عند مستوى المعنوية $p < 0.05$. وكانت قيم المركبات الفينولية الكلية في المواقع (ST1-ST6) أعلى من قيم الشاهد (ST7) في كلا الفصلين.



الشكل (3): تركيز الرصاص (متوسط مع الانحراف المعياري) في أوراق الزيتون خلال الصيف، الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين المواقع حسب اختبار فرق التباين Anova عند مستوى المعنوية $p < 0.05$



الشكل (4): تركيز الرصاص (متوسط مع الانحراف المعياري) في أوراق الزيتون خلال الشتاء، الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين المواقع حسب اختبار فرق التباين Anova عند مستوى المعنوية $p < 0.05$



الشكل (5): تركيز الرصاص (متوسط مع الانحراف المعياري) في أوراق الزيتون خلال الصيف والشتاء، الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين الفصول لكل موقع حسب اختبار t-test عند مستوى المعنوية $p < 0.05$

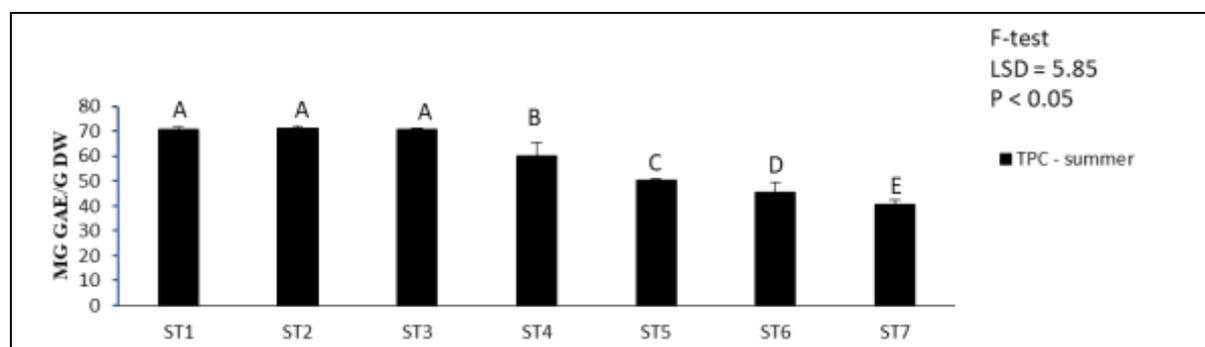
من ناحية أخرى، لوحظ انخفاض تركيز المركبات الفينولية الكلية بالابتعاد عن المصفاة (المسافة) أي أن هناك علاقة ارتباط معنوية سالبة بمعامل ارتباط (r) في فصل الصيف (-0.96) وفي فصل الشتاء (-0.893). وهذا يتوافق مع بعض الدراسات التي بينت ارتفاع في تركيز المركبات الفينولية الكلية في الأوراق النباتية بالاقتراب من مصدر التلوث الجوي المدروس (تلوث ناتج عن نشاطات بشرية، مواصلات، صناعة وغيرها) حيث تفسر هذه النتيجة بأن النسيج النباتية (الأوراق) تستجيب للإجهادات البيئية التي تتعرض لها كالتلوث الجوي عن طريق آليات دفاعية أهمها زيادة

تصنيع المركبات الفينولية الكلية التي يزداد إنتاجها كرد فعل لمنع تأكسد المركبات الخلوية بفعل المركبات الأوكسجينية النشطة التي يزداد إنتاجها تحت تأثير التلوث الجوي (Zobel & Nighswander, 1991; Furlan *et al.*, 1999;) (Pasqualini *et al.*, 2003).

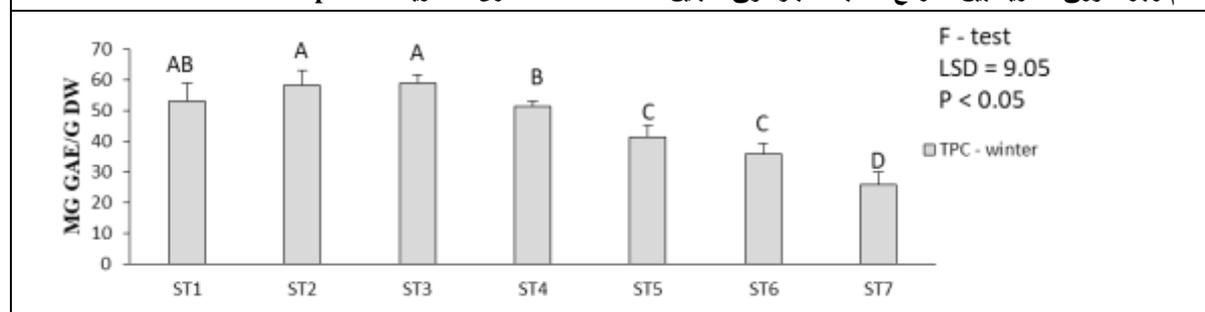
بينت النتائج (الشكل 8) وجود فروق معنوية في تركيز المركبات الفينولية الكلية لكل موقع من المواقع بين فصلي الصيف والشتاء (حسب اختبار t-test عند مستوى معنوية 0.05)، حيث كان تركيز المركبات الفينولية الكلية خلال فصل الصيف أعلى من فصل الشتاء في جميع المواقع المدروسة وهذا يتوافق مع نتائج بعض الدراسات التي بينت زيادة تركيز المركبات الفينولية بتأثير بعض العوامل غير الإحيائية abiotaic خلال فصل الصيف كالتلوث والجفاف (Bacelar *et al.*, 2006; Siatka & Kasparova, 2010; Deepika *et al.*, 2014; Talhaoui *et al.*,) (2015). في دراسة (Muszynska *et al.*, 2014) كان تركيز المركبات الفينولية الكلية في أوراق أشجار نبق البحر (*Hippophae rhamnoides* L.) خلال الخريف أعلى من الربيع في منطقة معرضة لتلوث بالرصاص.

3- علاقات الارتباط بين تركيز المركبات الفينولية الكلية والرصاص خلال فصلي الشتاء والصيف:

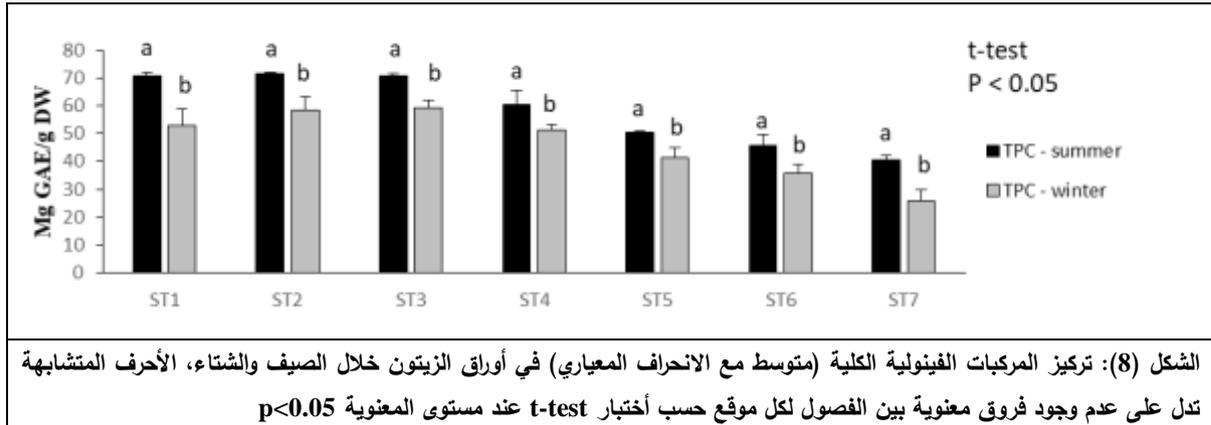
بينت النتائج وجود علاقة ارتباط موجبة معنوية بين تركيز المركبات الفينولية وتراكم عنصر الرصاص في أوراق الزيتون خلال فصلي الدراسة مع معامل ارتباط (r) للصيف (0.879) وللشتاء (0.949)، أي أن هناك زيادة في تركيز المركبات الفينولية مع زيادة تركيز الرصاص وهذا ما تؤكد بعض الدراسات: عند معاملة نباتات السبانخ (*Spinacea oleracea* والبندورة *Lycopersicum esculentum* بمحلول كلوريد الرصاص وبتراكيز مختلفة ppm (-50-10) زاد تركيز المركبات الفينولية الكلية وخاصة عند التركيز 150 ppm عند كلا النوعين (Hameed *et al.*,) (2001).



الشكل (6): تركيز المركبات الفينولية الكلية (متوسط مع الانحراف المعياري) في أوراق الزيتون خلال الصيف، الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين المواقع حسب اختبار فرق التباين Anova عند مستوى المعنوية $p < 0.05$



الشكل (7): تركيز المركبات الفينولية الكلية (متوسط مع الانحراف المعياري) في أوراق الزيتون خلال الشتاء، الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بين المواقع حسب اختبار فرق التباين Anova عند مستوى المعنوية $p < 0.05$



عند معاملة نبات الفصاة *Medicago sativa* بمحلول غذائي يحتوي تراكيز مختلفة من الرصاص ppm (120-220-500-1000) لمدة 10 أيام لوحظ أن هناك زيادة في قيم المركبات الفينولية في أفرع نبات الفصاة مع زيادة تركيز الرصاص (Galich et al., 2012). عند معاملة نبات القمح *Triticum aestivum* بـ تركيز من الرصاص (300-600-900) ppm وجد بأن كمية المركبات الفينولية الكلية ازدادت بمقدار 17.5 % عند المعاملة 900 ppm (Pazoki, 2015). نستنتج مما سبق أن التراكيز العالية من العناصر الثقيلة بشكل عام والرصاص بشكل خاص تؤثر على المستوى الخلوي في النبات مسببة حدوث إجهاد تأكسدي يتمثل بزيادة إنتاج الجذر الحرة ROS وكنتيجة لذلك تستجيب النباتات بآليات دفاعية محددة من أهمها المركبات الفينولية الكلية التي تأسر هذه الجذور الحرة وتمنعها من التسبب بتلف مكونات الخلايا والنسج النباتية (Siatka & Kasparova, 2010; Charoenprasert & Mitchell, 2012; Kisa et al., 2016).

الاستنتاجات و التوصيات:

❖ تبين بنتيجة الدراسة امكانية اعتماد أوراق الزيتون كدليل حيوي للتلوث الجوي حيث لوحظ ازدياد تركيز المركبات الفينولية الكلية وتركيز وعنصر الرصاص في جميع المواقع صيفاً مقارنة بالشتاء، ووجود علاقة ارتباط معنوية سالبة مع المسافة أي انخفاض تركيز كل من المركبات الفينولية الكلية والرصاص كلما ابتعدنا عن مصفاة بانياس. وهناك علاقة ارتباط موجبة معنوية بين تركيز المركبات الفينولية وتركيز الرصاص وهذا يؤكد دور المركبات الفينولية الكلية كمضادات أكسدة للإجهاد البيئي المتمثل بالرصاص في هذه الدراسة. كما بينت النتائج امكانية استعمال المركبات الفينولية الكلية كمعلم حيوي Biomarker للتلوث البيئي بالرصاص. بالنتيجة، لا بد من متابعة الدراسة من خلال استعمال أنواع نباتية أخرى وأجزاء نباتية أخرى (قلف، جذور، ثمار)، ودراسة تأثير ملوثات أخرى (غازية: SO₂, NO₂, O₃، عناصر ثقيلة: نيكيل، كادميوم...) لما لها من تأثير في مراكمة المركبات الفينولية.

المراجع:

- إبراهيم، بهجت. دراسة بعض خصائص الرياح والأمواج البحرية على شاطئ مدينة طرطوس (سورية). مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية، 30، 2008، 9-21.
- إبراهيم، دينا. دراسة إمكانية مراكمة بعض الأنواع المزروعة في حرم مصفاة بانياس للعناصر الثقيلة. رسالة ماجستير في كلية الزراعة جامعة تشرين، (2014)، 60 صفحة.
- AIQUTOB, M.A; SHQAIR, H; MALASSA, H; DAVIS, J-M; AI-RIMAWI, F. *Determination of trace metals in harvested rain water after the November 2012 bombing in Gaza by using ICP/MS*. Journal of Materials and Environmental Science. 7(9), 2016, 3477-3488.
- ALLEN, S. E. *Analysis of Ecological Materials*. 2nd ed., Oxford: Blackwell Scientific Publication. 1989, 380 pages.
- ANZAR, J; RICHER, M; BEGIN, C; BEGIN, Y. *Lead Exclusion and Copper Translocation in Black Spruce Needles*. Springer, Water Air Soil Pollut. 203, 2009, 139-145.
- AINSWORTH, E; GILLESPIE, K. *Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent*. NATURE PROTOCOLS. 2(4), 2007, 875-877.
- AL-DABBAS, M; ALI, L; AFAJ, A. *The effect of Kirkuk Oil Refinery on Air pollution of Kirkuk City-Iraq*. Iraqi Journal of Science, Proceeding of the 1st Conference on Dust Storms and their environmental effects. 17-18 Oct, 2012.
- AL-DABBAS, M; ALI, L; AFAJ, A. *The chemistry of the leaves of plant Eucalyptus camaldulensis as environmental contamination indicator of selected locations at Kirkuk – Iraq*. Bull Iraq nat Hist Mus. 13(2), 2015, 39-50.
- ALONSO-HERNANDEZ, C.M; BERNAL-CASTILLO, J; BOLANOS-ALVAREZ, Y; GOMEZ-BATISTA, M; DIAZ-ASENCIO, M. *Heavy metal content of bottom ashes from a fuel oil power plant and oil refinery in Cuba*. Fuel. 90, 2011, 2820-2823.
- AZAD NOORANI, H.; SHIVA, A.H; MALEKPOUR, R. 2011. *Toxic Effects of Lead on Growth and Some Biochemical and Ionic Parameters of Sunflower (Helianthus annuus L.) Seedlings*. Current Research Journal of Biological Sciences. 3(4), 398-403.
- BRAHMI, F; MECHRI, B; DABBOU, S; DHIBI, M; HAMMAMI, M. *The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations*. Industrial Crops and Products. 38, 2012, 146-152.
- BURZYNSKI, M; KLOBUS, G. *Changes of photosynthetic parameters in cucumber leaves under Cu, Cd, and Pb stress*. Photosynthetica. 42(4), 2004, 505-510.
- BALASOORIYAA, B.L.W.K; SAMSON, R; MBIKWA, F; VITHARANA, U.W.A; BOECKX, P; VAN, M. *Biomonitoring of urban habitat quality by anatomical and chemical leaf characteristics*. ELSEVIER, Environment and Experimental Botany. 65, 2009, 386-394.
- BACELAR, E; SANTOS, D; MOUTINHO, J; GONCALVES, B; FERREIRA, H; CORREIA, C. *Immediate responses and adaptative strategies of three olive cultivars under contrasting water availability regimes: Changes on structure and chemical composition of foliage and oxidative damage*. ELSEVIER, Plant Science. 170, 2006, 596-605.

- CHAROENPRASERT, S; MITCHELL, A. *Factors Influencing Phenolic Compounds in Table Olives(Olea europaea)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 60, 2012, 7081-7095.
- DEEPIKA, C; VERMA, P.U; SOLANKI, H.A; PATEL, Y.M. *Role of total phenol in the resistance mechanism of plants against air pollution*. 2(2), 2014, 586-592.
- FURLAN, C; SALATINO, A; DOMINGOS, M. *Leaf contents of nitrogen and phenolic compounds and their bearing with the herbivore damage to Tibouchina pulchra Cogn. (Melastomataceae), under the influence of air pollutants from industries of Cubatão, São Paulo*. Revta brasil. Bot., São Paulo. 22(2), 1999, 317-323.
- GHADERIAN, S.M; HEMMAT, G.R; REEVES, R.D; BAKER, A.J.M. *Accumulation of lead and zinc by plants colonizing a metal mining area in Central Iran*. Journal of applied Botany and Food Quality. 81, 2007, 145-150.
- GHELICH, S; ZARINKAMAR, F; NIKNAM, V. *Determination of peroxidase activity, total phenolic and flavonoid compounds due to Lead toxicity in Medicago sativa L*. Advances in Environmental Biology. 6(8), 2012, 2357-2364.
- HASSANIEN, M. *Atmospheric Heavy Metals Pollution: Exposure And Prevention Policies In Mediterranean Basin*. Springer, Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development: Risk Assessment and Prevention Strategies. 2011, 287-307.
- HABIB, H; AWADH, S; MUSLIM, M. *Toxic heavy metals in soil and some plants in Baghdad, Iraq*. Journal of Al-Nahrain University. 15(2), 2012, 1-16.
- HAMEED, N; SIDDIQUI, Z; AHMED, S. *Effects of Copper and Lead on Germination, Accumulation and Phenolic Contents of Spinacea oleracea and Lycopersicum esculentum*. Pakistan Journal of Biological Sciences. 4(7), 2001, 809-811.
- HSEU, Z. *Evaluating heavy metal contents in nine composts using four digestion methods*. ELSEVIER, Bioresource Technology. 95, 2004, 53-59.
- HU, Y; WANG, D; WEI, L; ZHANG, X; SONG, B. *Bioaccumulation of heavy metals in plant leaves from Yan'an city of the Loess Plateau, China*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 10, 2014, 82-88.
- KABATA-PENDIAS, A; PENDIAS, H. *Trace elements in soil and plants*. 3rd Edition, CRC Press Boca Raton. 2001, 403 pages.
- KAIMOYO, E; FARAG, M; SUMNER, L; WASMANN, C; CUELLO, J; VANETTEN, H. *Sub-lethal levels of electric current elicit the biosynthesis of plant secondary metabolites*. Biotechnol. 24, 2008, 377-384.
- KASTORI, R; PLESNICAR, M; SAKAC, Z; ARSENJEVIC-MAKSIMOVIC, I. *Effect of excess lead on sunflower growth and photosynthesis*. Journal of Plant Nutrition. 21(1), 1998, 75-85.
- KHATTAK, M. I; JABEEN, R. *Detection of heavy metals in leaves of Melia azedarach and Eucalyptus Citriodora as biomonitoring tools in the region of Quetta valley*. Pakistan Journal of Botany. 44(2), 2012, 675-681.
- KLUMPP, A; KLUMPP, G; DOMINGOA, M. *Plants as bioindicators of air pollution at Theserra Do Mar near the industrial complex of Cubatao, Brazil*. Environmental Pollution. 85, 1994, 109-116.
- KOVACIK, J; BACKOR, M. *Phenylalanine Ammonia-Lyase and Phenolic Compounds in Chamomile Tolerance to Cadmium and Copper Excess*. Springer, Water Air Soil Pollut. 185, 2007, 185-193.

- KISA, D; ELMASTAS, M; OZTURK, L. *Responses of the phenolic compounds of Zea mays under heavymetal stress*. Springer, Appl Biol Chem .59(6), 2016, 813-820.
- LATTANZIO, V; LATTANZIO, V.M.T; CARDINALI, A. *Role of phenolics in theresistance mechanisms ofplants against fungalpathogens and insects*. Research Signpost, Phytochemistry: Advances in Research. 2006, 23-67.
- MANSOUR R. *The pollution of tree leaves with heavy metal in Syria*. *International Journal of ChemTech Research*. 6(4), 2014, 2283-2290.
- MCCARTY, L.S; MUNKITTRICK, K.R. *Bioindicators Versus Biomarkers in Ecological Risk Assessment*. Human and Ecological Risk Assessment. 8(1), 2002, 159-164.
- MICHALAK, A. *Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress*. Polish J. of Environ. Stud. 15(4), 2006, 523-530.
- MUSZYNSKA, E; KALNZNY, K; HANUS, E. *Phenolic compounds in Hippophae Rhamnoides leaves collected from heavy metals contaminated sites*. Plants in Urban Areas and Landscape. 2014, 11-14.
- NAJAFI, S; JAMEI, R. *Effect of Silver Nanoparticles and Pb(NO₃)₂ on the Yield and Chemical Composition of Mung bean(Vigna radiata)*. Journal of Stress Physiology & Biochemistry. 10(1), 2014, 316-325.
- NOROUZI, S; KHADEMI, H. *Source identification of heavy metals in atmospheric dust using Platanus orientalis L. leaves as bioindicator*. Eurasian Journal of Soil Science. 4(3), 2015, 144-152.
- OLIVA, S; MINGORANCE, M.D. *Assessment of airborne heavy metal pollution by above ground plant parts*. ELSEVIER, Chemosphere. 65, 2006, 177-182.
- OLIVARES, E. *The effect of lead on the phytochemistry of Tithonia diversifolia exposed to roadside automotive pollution or grown in pots of Pb-supplemented soil*. Braz. J. Plant Physiol. 15(3), 149-158, 2003
- PAZOKI, A. *Evaluation of flavonoids and phenols content of wheat under different Lead, PGPR and Mycorrhiza levels*. Biological forum. 7(1), 2015, 309-315.
- PERALBO-MOLINA, A; LUQUE DE CASTRO, M.D. *Potential of residues from the Mediterranean agriculture and agrifood industry*. Trends in Food science & Technology. 2013, 1-9.
- PASQUALINI, V; ROBLES, C; GARZINO, S; GREFF, S; BOUSQUET, A; BONIN, G. *Phenolic compounds content in Pinus halepensis Mill. needles:a bioindicator of air pollution*. Chemosphere. 52, 2003, 239-248.
- PIETTA, P.G. *Flavonoids as Antioxidants*. J. Nat. Prod. 63, 2000, 1035-1042.
- PAIS, I; JONES, B. *The handbook of trace elements*.1997, 240 pages.
- RISTIC, M; PERIC, A; ANTANASIJEVIC, D; RISTIC, M; UROSEVIC, M; TOMASEVIC, M. *Plants as Monitors of Lead Air Pollution*. Pollutant Diseases, Remediation and Recycling. 2013, 387-431.
- REDDY, A.M; KUMAR, S.G; JYOTSNAKUMARI, G; THIMMANAYAK, S; SUDHAKAR, C. *Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (Macrotyloma uniflorum (Lam.) Verdc.) and bengalgram (Cicer arietinum L.)*. Chemosph. 2005, 60, 97-104.
- SALIH, A.A; MOHAMED, A.A; ABAHUSSAIN, A.A; TASHTOOS, F. *Use of Some Trees to Mitigate Air and Soil Pollution Around Oil Refinery, Kingdom of Bahrain*. Journal of Environmental Science and Pollution Research. 3(2), 2017, 167-170.

- SAWIDIS, T; BREUSTE, J; MITROVIC, M; PAVLOVIC, P; TSIGARIDAS. *Trees as bioindicator of heavy metal pollution in three European cities*. Environmental Pollution. 159, 2011, 3560-3570.
- SHARMA, P; DUBEY, R. *Lead toxicity in plant*. Plant physiology. 17, 2005, 32-52.
- SHARMA, R.K; AGRAWAL, M; AGRAWAL, S.B. *Physiological, biochemical and growth responses of Lady's Finger (Abelmoschus esculentus L.) plants as affected by Cd contaminated soil*. Bull Environ Contam Toxicol. 84, 2010, 765-770.
- STANKOVIC, M. *Total phenolic content, flavonid concentration and antioxidant activity of Marrubium peregrinum L. Extracts*. Kragujevac J. Sci. 33, 2011, 63-72.
- STANCHEVA, I; GENEVA, M; MARKOVSKA, Y; TZVETKOVA, N; MITOVA, I; TODOROVA, M; PETROV, P. *A comparative study on plant morphology, gas exchange parameters, and antioxidant response of Ocimum basilicum L. and Origanum vulgare L. grown on industrially polluted soil*. Turkish Journal of Biology. 38, 2014, 89-102.
- SINGLETON, V; ORTHOFER, R; LAMUELA, R.M. *Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent*. Methods In Enzymology. 299, 1999, 152-178.
- SIATKA, T; KASPAROVA, M. *Seasonal Variation in Total Phenolic and Flavonoid Contents and DPPH Scavenging Activity of Bellis perennis L. Flowers*. Molecules. 15, 2010, 9450-9461.
- TURAN, D; KOCAHAKIMOGLU, C; KAVCAR, P; GAYGISIZ, H; ATATANIR, L; TURGUT, C; SOFUOGLU, S. *The use of olive tree (Olea europaea L.) leaves as a bioindicator for environmental pollution in the Province of Aydin, Turkey*. Environ Sci Pollut Res. 18, 2011, 355-364.
- TALHAOUI, N; TAAMALLI, A; GOMEZ, A.M; FERNANDEZ, A; SEGURA, A. *Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits*. Food Research International. 77, 2, 2015, 92-108.
- UDOSEN, E.D; UWAH, E.I; JONATHAN, I.I. *Levels of trace metals in washed and unwashed leaves of roadsides Vernonia amygdalina obtained in Abak, Akwalbom state, Nigeria*. International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry. 6(2), 2017, 131-138.
- ZHELJAZKOV, V; NIELSEN, N. *Effect of heavy metals on peppermint and cornmint*. Plant and Soil. 178, 1996, 59-66.
- ZHENG, W; WANG, S. *Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs*. J Agric Food Chem. 49(11), 2001, 5165-5170.
- ZOBEL, A; NIGHSWANDER, J. *Accumulation of phenolic compounds in the necrotic areas of Austrian and red pine needles after spraying with sulphuric acid: a possible bioindicator of air pollution*. New Phytol. 117, 1991, 565-574.
- ZHOU, Z; HUANG, S; GUO, K; MEHTA, S; ZHANG, P; YANG, Z. *Metabolic adaptations to mercury-induced oxidative stress in roots of Medicago sativa L*. Journal of Inorganic Biochemistry. 101, 2007, 1-9.
- <<https://ar.climate-data.org>>[(accessed on 20 October 2016)].
- <<https://earth.google.com/web/>>[(accessed on 1 November 2017)].
- <<https://www.google.com/maps/@35.2159007,35.9733386,12.54z>>[(accessed on 5 March 2018)].
- <<http://www.thaweonline.sy>>[(accessed on 19 August 2016)].