تقييم الفعالية المضادة للبكتريا المعزولة من لحوم الابقار للمستخلص الكحولي لثمار وبذور نبات الخرنوب (*Ceratonia siliqual.*)

أ.م. كريم ناصر طاهر أ.م. هيفاء جمعة حسن م.م. زينة فؤاد صالح

كلية الطب البيطري / جامعة القادسية

الكلمات الافتتاحية: الخرنوب، المستخلص الكحولي، الفعالية المضادة، لحوم الابقار

رقم الهاتف: 07810162988

البريد الالكتروني dr.msj82@ yahoo.com

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة لغرض تقييم الفعالية المضادة للبكتريا المعزولة من لحوم الابقار للمستخلص الكحولي لكل من ثمار وبذور نبات الخرنوب كلاً على انفراد ضد مجموعتين قياسيتين من البكتريا (البكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل *Staphylococcus lentus* والبكتريا السالبة لصيغة كرام *مثل pseudomonas aerugirosa*، *E. coli* ، *klebsiella pneumonia* . اظهرت النتائج بان المثبط الادنى (MIC) للمستخلص الكحولي لثمار الخرنوب بلغ (١٢.٥ ملغم / مل) بالنسبة لبكتريا (*E.coli*،*P.aeruginosa*) بينما كان *(٢٥ ملغم / مل) بالنسبة لبكتريا (Klebsiella pneumonia) مقارنة مع* المستخلص الكحولي للخرنوب حيث بلغ (MIC) (٥٠ ملغم / مل) لجميع انواع البكتريا المختبرة (*pseudomonas aerugirosa , Ecoli*) *klebsiella pneumonia* . ، *Staphylococcus lentus*) فيما كانت قيمة التركيز القاتل الادنى (MBC) لمستخلص ثمار الخرنوب بين (٢٥ ملغم / مل) بالنسبة لبكتريا (*Pseudomonas aerugirosa, Ecoli*) و (٥٠ ملغم /مل) بالنسبة لبكتريا *(. Klebsiella pneumonia*) اما بالنسبة لبكتريا *Stap.lentus* لم يتم الحصول على قيمة MBC للمستخلص الكحولي لبذور الخرنوب .

Evaluation of antibacterial activity of beef meet of Alcoholic extract of fruit and seeds of Ceratonia Siliual

Assist. PhD. Taher K. N Assist.phD. Hassan H. J Assist.techer. Saleh .F.Z

College of Veterinary Medicine, AL-Qadisiya University

Key word: Ceratonia Siliual, Alcoholic extract, antibacterial activity , beef meet

Mobile:07810162988

E. mail: dr.msj82@ yahoo.com

Abstract

This study was undertaken to evaluate antibacterial activity of beef meet of alcoholic extract of fruct and seeds of ceratonia siliqual .against two standard groups of bacteria gram negative such as staphylococcus lentus and gram negative such as Ecoli, klebsilla preumonia and pseudomonas aeruginosa.

The results showed that the minimum inhibitory concentration (Mic) for alcoholic extract of carob fruit against (Ecoli and pseudomonas acruginosa) was (12.5 mg/ml) while was 25mg/ml against klebsilla preumonia as compered to alcoholic extract of carob seeds which was (50 mg/ml) against all strains of bacteria.

The minimum bacterial concentration (MBC) for fruit extract varied from 25 mg/ml against (Ecoli and pseudomonas acruginosa) to (50) mg/ml against klebsilla preumonia.

المقدمة

ان الأحياء المجهرية مثل البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام تعتبر من المسببات الرئيسية لمختلف الاصابات المرضية للإنسان وتلف الاغذية خلال عملية خزنها اضافة الى ان مقاومة البكتريا للأدوية المعروفة المضادة للبكتريا اصبحت مشكلة عالمية خطيرة حيث ان الاصابات البكترية مسوؤلة عن ٩٠% من الإصابات في مراكز الرعاية الصحية (١).وعلى هذا الاساس بدا العاملين في مجال الصناعات الدوائية باللجوء الى استخدام النباتات الطبية لكل بديل وذلك بسبب كفاءة هذه المنتجات النباتية في معالجة الامراض المختلفة وقلة تأثيراتها الجانبية او انعدامها حيث ان النباتات تعتبر مخزنا هائلا للمركبات الكيمياوية والفيزياوية مثل (الفلافينات ، الصابونيات والتربينات) ذات الكفاءة العالية التي تخدم كمواد دوائية (٢) ومن بين هذه النباتات نبات الخرنوب المسمى (*Ceratonia Siliqual*) او Miditerranean Carob وهو شجرة متوسطية واسعة الانتشار تتبع االفصيلة البقمية Caesalpinieae وهي واحدة من الفصائل التي تضمها رتبة البقوليات leguminales وجنس *Ceratonia* وحيد النوع (٣) ويمتاز نبات الخرنوب بأهمية طبية تتجلى في استخدام البذور كمضاد قوي للإسهال ، ان المكونات الرئيسة لثمار الخرنوب هي اللب (٩٠%) والبذور (١٠%) وقد استخدم الـلب في معالجة الاسهال البكتيري او الفيروس عند الاطفال (٤) ، اما البذور فتتكون بشكل رئيسي من سكر كالاكتومانات وهو سكر متعدد يتالف من وحدات سكر المانور والكالاكتوز (١:٤) (٥) . ان اللب يمتلك خاصية مضادة للاكسدة (٦) وخاصية مضادة للجراثيم (٧) وفي الوقت الحاضر فان الذين يعمل ون في مجال النباتات الطبية يعتبرون النباتات اكبر مصانع كيمياوية حية تجهز عدد كبير من المركبات الكيمياوية غير الاعتيادية التي تظهر فعالية حيوية متنوعة (٨) ، وان اكثر هذه المركبات الكيمياوية الفينولات ، الفلافينات وال كلايكوسيدات التي يعتقد بأنها ذات كفاءة ضد البكتريا والأنشطة المسببة لتسمم الخلية (٩ ، ١٠) وبالنظر لقلة او انعدام الدراسات المتعلقة باستخدام نبات الخرنوب كمضاد للبكتريا في العراق فقد اجريت هذه الدراسة لغرض تقييم الفعالية المضادة للبكتريا للمستخلص الكحولي لثمار وبذور نبات الخرنوب .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات :

تم شراء ثمار الخرنوب من الاسواق المحلية في مدينة الديوانية وجرى تنظيفها من الشوائب وغسلها بالماء النظيف ثم تجفيفها بالفرن وبعدها تم طحنها وجرى فصل البذور عن الثمار ثم طحنت كلا على انفراد بواسطة بالمطحنة الكهربائية لتحويلها الى مسحوق .

تحضير المستخلص الكحولي :

اخذت كمية من المسحوق تقدر ب (١ كغم) لكل من اللب والبذور كلا على انفراد وعمل منها مستخلص باستخدام الكحول الاثيلي تركيز (٩٥ %) بطريقة الاستخلاص البارد حسب ما جاء في (١١)، اذ تم الحصول على ٨غم من اللب و٤غم من البذور حيث تم تحضير التراكيز باذابة ٥٠ ملغم \ مل من كل جزء (اللب والبذور) وقد جرى عمل تخافيف ثنائية ١:١٠٠٠ لكل جرثومة ولكل جزء من ثمار الخرنوب .

الاحياء المجهرية المختبرة :

تم الحصول على جراثيم الاختبار السالبة والموجبة لصبغة كرام التي تم عزلها م ن لحوم الابقار الطازجة و السليمة من مناطق مختلفة من الذبيحة وتم تشخيصها عن طريق تقنية . PCR حيث بلغ عدد الجراثيم (٣×١٠٨) جرثومة \مل حسب قياس ماكفرلاند وهذا الحد يعتبر مرضيا .

تحضير العالق الجرثومي : تم تحضير العالق الجرثومي بالاعتماد على الطريقة المذكورة من قبل (١٢) .

تحديد التركيز المثبط الادنى والتركيزالقاتل الادنى :

تم تحديد التركيز المثبط الادنى بإتباع طريقة التخافيف المدرجة من خلاصة ثمار وبذور الخرنوب الاثيانولية في انابيب الاختبار باستخدام المرق المغذي تراوحت قيمها (٠.٠٩٧ ، ٠.١٩٥ ، ٠.٣٩ ، ٠.٧٨١ ، ١.٥٦٢ ، ٦.٢٥ ، ١٢.٥ ، ٢٥ ، ٥٠) وحسب ما ذكره (١٣) فيما صدرت قيمة التركيز القاتل الادنى (MBC) على انه اقل تركيز من الخلاصة يقلل عدد المستعمرات بمقدار ٩٩.٩% من المزروع الاصلي وكما ورد في (١٤) .

النتائج

١ -التركيز المثبط الادنى : Minimum Inhibitory concentration (MIC)

٢ - يتضح من الجدول (١) بان التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي لثمار الخرنوب بلغ (١.٢٥ ملغم / مل) بالنسبة لبكتريا *pseudomonas) aerugirosa* و *E.coli*) في حين بلغ ٢٥ ملغم / مل بالنسبة لبكتريا . *klebsiella pneumonia* مقارنة مع المستخلص الكحولي لبذور الخرنوب حيث بلغ تركيز المثبط الادنى (MIC) ٥٠ ملغم \ مل لجميع انواع البكتريا المختبرة (*klebsiella pneumonia* ، *E.coli* ، *pseudomonas aerugirosa* ، *Staphylococcus lentus*) .

٣ -التركيز القاتل الادنى : Minimum bactericidal concentration (MBC)

يظهر الجدول (١) بان التركيز القاتل الادنى (MBC) لمستخلص ثمار الخرنوب تراوح بين (٢٥ ملغم / مل) بالنسبة لبكتريا (*pseudomonas aerugirosa*، *E.coli*) و(٥٠ملغم / مل) بالنسبة لبكتريا (*klebsiella pneumonia*) اما بالنسبة لبكتريا (*Staphylococcus lentus*) فلم تظهر قيمة (MBC) مقارنة مع المستخلص الكحولي لبذور الخرنوب الذي لم يتم اختباره ايضا . وقد اظهرت النتائج بأن المستخلص الكحولي لثمار الخرنوب كان اكثر فاعلية ضد البكتيريا من المستخلص الكحولي لبذور الخرنوب .كما مبين بالجدول (١).

جدول (١) يبين تركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي لثمار الخرنوب ضد الجراثيم المعزولة م ن لحوم الابقار.

الثمرة	البكتريا	50	25	12.5	6.25	3.125	1.562	0.781	0.390	0.195	0.097	MIC ملغم/مل	MBC ملغم/مل
القشرة	EC	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+	12.5	25
	PS	—	—	±	+	+	+	+	+	+	+	12.5	25
	SA	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50	NT
	K	—	±	+	+	+	+	+	+	+	+	25	50
البذور	EC	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50	NT
	PS	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50	NT
	SL	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50	NT
	K	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	50	NT

النمو= +

عدم وجود نمو=-

EC= *E.coli*

Ps= *Pseudomonas aeruginosa*

SL= *Staphylococcus lentus*

K= *Klebsiella pneumonia*

NT= not لاتوجد نتيجة

المناقشة

لقد اثبتت الدراسات السابقة التي اجريت من قبل العديد من الباحثين بأن الاجزاء المختلفة لنبات الخرنوب الافريقي (Locust Bean) (Parkia Biglobosa) (الجذور ، السيقان ، الاوراق) لها فعالية ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام (١٥ ، ١٦) وقد اظهرت الدراسة التي اجريت من قبل (١٦) بان الحد المثبط الادنى (MIC) للمستخلص الميثانولي لسيقان وأوراق وجذور نبات الخرنوب الافريقي تتراوح بين (١.٥٦٢- ٢٥ ملغم / مل) ، وقد يعزى التأثير المثبط لنمو البكتريا في هذه الاجزاء من نبات الخرنوب الى ال مركبات

الكيمياوية (الفينولات المتعددة) التي تحفز التأثير المضاد للأكسدة والتي تعمل كمضاد للبكتريا او مضاد للالتهابات اضافة الى المتأيضات الثانوية الاخرى الموجودة في الاجزاء المختلفة للنبات والمسؤ ولة عن الفعالية المضادة للبكتريا مثل الصابونيات ، التانينات ، الفلافينات . (١٨، ١٩) ، في حين اعزى (٢٠) الفعالية القوية المضادة للبكتريا للخرنوب ضد البكتريا المختبرة الى احتوائه على نسبة عالية من الهيدروكاربون

(٥١.٠٦%) والتربين الاحادي (٠.٩%) والتربين الاحادي الموكسج (١.١٩%) وقد اتفقت النتائج التي تم التوصل في الدراسة الحالية مع ما اشار اليه (٢١) الذي افاد بان المستخلص الميثانولي لثمار الخرنوب اظهر فعالية مضادة للبكتريا المختبرة سواء كانت موجبة او سالبة لصبغة كرام . كما اشار (٢٢) الا ان التركيز المثبط الادنى للمستخلص الميثانولي لقرنات الخرنوب ضد بكتريا (*Staphylococcus aureus*) بلغ (٠.٣١٢ ملغم / مل) فيما بلغ (٢.٥ ملغم/ مل)ضد بكتريا Ecoli و ٢.٢٥ ملغم/ مل)ضد بكتريا *pseudomonas aerugirosa* و (١.٢٥ ملغم /مل ضد بكتريا *klebsiella pneumonia* وقد افاد(٢٣) بان التركيب الكيماوي لقرنات الخرنوب يتميز باحتوائه على انو اع من المركبات الفينولية . كما توصل (٢٤) الى ان قيمة التركيز المثبط الادنى للمستخلص الميثانولي لقرنات الخرنوب بلغت ٢٤.٧٤٥ مايكروكرام/ مل ضد بكتريا *pseudomonas aerugirosa*.

المصادر

1-Tim Cushnie,T.P and Lamb,A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoides.Int.J.Antimicrob Agent.36:343-356.

2-Sibonda,T. and Okoh,AI.(2007). The challenges of overcoming antibiotic; plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents.Afri.J.Biotech.,6:2886-2896.

٤ ـ نحال ،ابراهيم ومحمدنبيل شلبي واديب رحمه .(١٩٩٦).الجراح والمشاكل الجراحية. مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، جامعة حلب، ٦٠٠ صفحة.

4-Loeb, H.,Vanden plas,Y.and Warsch,P.(1989). Tannin-rich carob pod for treatment of acute-onset diarrhea.J of Pediatric Gastroenterology nutrition.,8:480-485.

5-Batlle ,I.and Tous , J.(1997). Carob tree (Ceratonia Siliqual.)promoting the conservation and use of under utilized and neglected crops.17.institute of plant,Genetic and crop plant research,catersleben- international plant genetic resources institute , Roma ,Italy.

6-Custodio,L., Fernandes,E., Escapa, A.L. ,Lopez- Aviles,S.,Fajardo, A., Aligue,R., Albericio,F. and Romano, A. (2009). Anti oxidant activity and invitro inhibition of tumor cell growth by leaf extract from the carob tree (Ceratonia).

7-Kivcak ,B.,Mert, T.and Ozturk, H.T.(2002). Antimicrobial and cytotoxic activities of Certonia Siliqual. extracts .Turkish J.biology.,26:197-200.

8- Oyi, A.R .(2001). A study of antimicrobial and photochemical properties of the latex of Jatropha Curcas (Euphorbiacea). PhD Dissertation. A.B.U. Zaria. Nigeria .A.B.U.Zaria.Nigeria.

9-Owen,R.W.;Haubner,R.; Mier,W. ;Giacosa, A.;Hull ,W.E.; Spieelhalder, B. and Bartsch,H. (2003). Isolation, structure elucidation and anti oxidant potential of the major phenolic and flavonoid compound in brined olivedrupes. Food and Chemical Toxicology.,41:307-315.

10-Ben Hsouna,A.; Trigui,M.; Ben Mansour, R.; Jarray RM.; Damak, M.; Jaoua, S.(2011). Chemical composition,cytotoxiicity effect with anti.

11- Le Grand A.,Wondergem P.A.,Verpoorte R.,Pousset S.L.(1988). Anti infectious phytothorapies of the tree- Savannah of Senegal (west-Africa)- Antimicrobial activity of 33 species.J.of E-thnopharmacal.,22(1):25-31.

12-Randell,S.and Grove,D.C.(1955).The pharmacological basis of therapeutics. Gth edn. Macmillan CO., New York.

13- Sahm, D.F. and Washington, J.A.1990. Antibacterial susceptibility test dilution motheds:in: manual of clinical microbiology.Lennette E.H. 5th ed Am.soc. Microbiel. Washingtion DC,pp.1105- 1116.

١٤-التميمي، رائد عادل حنون. (٢٠٠١). تأثير مستخلصات بقلة الملك Fumaris Parviflora والشوك Prosopis Farcta على بعض مسببات الامراض الجلدية من البكتريا والفطريات. رسالة ماجستير في علوم الاحياء المجهرية/ كلية العلوم- الجامعة المستنصرية.

15- Banwo,G.O., Abdullahi,I. and Duguryil, M.(2004). The antimicrobial activity of the steam bark of parkia clappertoniana keay family lequminosae agains selected microorganisims. Nig. J. pharm. Res, 3:16-22.

16- Ajaiyeoba, E.O.(2002). Phytochemical and antibacterial properties of parkia biglobosa and parkia bicolor leaf extracts. Afr. J.Biomed. Res., 5:125-129.

17-Udobi, C.E., Onaolape, J.A. and Agunu,A.(2010).antibacterial potentials of the methanelic extract and aqueous fraction of the steam bark of the africanlocust bean (parkia Biglobosa. European J.Sci. Res., 43:590- 597.

18- Lewis,K., and Ausubel, F.M. (2006). Prospects for plant derived antibacterials Nat. Biotechnol., 24:1504-1507.

19- Cowan, M.M.(1999). Plant products as antibacterial agents clin. Microbial,Rev., 12:564-582.

20- Kivcak, B.,Mert, T.and ozturk, H.T. (2002).Antime and cytotoxic activities of ceratonia siliqual. Extract Turkish J. biology., 26: 197-200.

21- Abd razik, b.m., Hassan, H.A. and Murtadha,M.K. (2012). The study of antibacterial activity of plantago major and ceratonia silique.the Iraqi postgraduate medical journal., 11:130- 135.

22-Owen, R.W.,Haubner,R., Hull, W.E., Erben, G, spiegelhalder, B., Baertsch ,H.,Maber,B.(2003). Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fiber. Food.chem. Toxical 41:1727- 1738.

23- Ibrahim,A.H.,Abd El-Baky,R.M.,Desoukey, S.Y., abd-lateff,A. and kamel, M.S.(2013). Bacterial growth inhibitory effect of ceratonia siliqual. Plant extract alone and in comination with some antimicrobial agents. J. advanced biotechinal bioengineering ., 1:3-13.

24- Ben Hsouna, A.,Alayed, A.S. and Abdallah, E.M. (2012).Evaluation of antimicrobial activities of crude meltanolic extract of pods of ceratonia

siliqua L. against some pathogens and spoilage bacteria African J. microbial .Res., 6:3480-3484.