



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية التربية – قسم علوم الحياة

الدراسة المسائية

تأثير مستخلصات أوراق الصنوبر وبذور الحرمل في كبح نمو بعض بكتريا التلوث الغذائي السالبة لصبغة كرام .

بحث تقدمت به الطالبة **تبارك احمد محسن عبد** الى مجلس كلية التربية – قسم علوم

الحياة – جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

بإشراف

أ.م. علي عبد الرحيم الناشئ

2018 م

1438 هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

{ وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ

وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ }

صدق الله العلي العظيم

سورة التوبة / الآية 105

((الاهداء))

الى النور الذي يهتدي لي درب النجاح

*** ابي ***

الى من علمتني الصمود مهما تبدلت الظروف

*** امي ***

الى اخوتي الاعزاء

الى الاستاذ الفاضل

*** أ.م. علي محمد الرحيم الناهي ***

الباحثة

تأثر مستخلصات اوراق الصنوبر وبذور الحرمل في كبح نمو بعض بكتريا التلوث الغذائي السالبة لصبغة كرام .

الخلاصة : (Abstract)

تضمنت الدراسة عزل خمسة انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام المعزولة من القشطة تكونت من :
Klepsiella oxytoca , *Pseudomonas putrefaciens* , *Escherichia Coli* , *Salmonella typhimurium* , *Proteus vulgaris* .

اختبرت المستخلصات المائية والكحولية لأوراق الصنوبر وبذور الحرمل لمعرفة فعاليتها التثبيطية تجاه هذه البكتريا ، وأظهرت جميع هذه البكتريا المدروسة حساسية لهذه المستخلصات ولكن بمدى متفاوتة وكانت المستخلصات الكحولية اكثر فعالية من المائية تجاه الجراثيم المدروسة وتراوحت اقطار التثبيط للمستخلصات المائية والكحولية لبذور الحرمل في التركيز العالي 75 ملغم/ملتر بين (24-5) و (28-13) ملمتر على التوالي .

بينما تراوحت بين (16-13) و(20-4) ملمتر اقطار التثبيط للمستخلصات المائية والكحولية لأوراق الصنوبر على التوالي تجاه البكتريا المدروسة.

وكانت اكثر الجراثيم حساسية للمستخلص المائي للحرمل *P. vulgaris* اذ بلغت اقطار تثبيطها (11، 20، 24) وللكحولي *S. typhimurium* اذ بلغت (12، 17، 28) ملمتر للتركيز (25، 50، 75) ملغم/ملتر على التوالي . بينما تميزت *E.coli* بأعلى حساسية تجاه المستخلصين المائي والكحولي لأوراق الصنوبر اذ بلغت اقطار التثبيط لهما (9، 11، 16) و (12، 15، 20) ملمتر على التوالي للتركيز (25، 50، 75) ملغم/ملتر التركيزات المثبطة الدنيا هي الأخرى تظهر ان قيمتها كانت أوطأ في حالة المستخلص الكحولي مقارنة مع المائي مما يفسر حساسيتها للمستخلص الكحولي أعلى من حساسيتها للمائي اذ بلغت تراكيزها في حالة مستخلصات بذور الحرمل بين (73-9) و (23-8) ملغم/ملتر للمائي والكحولي على التوالي وفي حالة مستخلصات اوراق الصنوبر (72-19) و (71-15) ملغم / ملتر على التوالي وبذلك فأن مستخلصات بذور الحرمل هي الاكثر فعالية من مستخلصات اوراق الصنوبر ، كما بلغت اقطار التثبيط الذي احدثها مضاد الكلورامفينيكول تجاه البكتريا بين (28-22) ملمتر وبذلك فأن مستخلصات كلا النباتين كانت منافسة لهذا المضاد في السيطرة على البكتريا .

اثبت الكشف النوعي لمستخلصات بذور الحرمل واوراق الصنوبر بأحتواء كلا النباتين على مجاميع فعالة هي :
التانينات ، الصابونيات، الفلافونيدات ، القلويدات ، بينما اقتصر وجود الكلايكوسيدات والراتنجات على مستخلصات اوراق الصنوبر فقط في حين انحصر تواجد التربينات على مستخلصات بذور الحرمل .

Abstract

The study included the isolation of five kinds of Gram negative bacteria isolated from the cream formed from:

Klebsiella oxytoca, *Pseudomonas putrefaciens*, *Escherichia Coli*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*.

The aqueous and alcoholic extracts of peganum seeds and leaves of pinus are tested in this study to know the inhibition activity towards this kind of bacteria .

All kinds of bacteria shows a sensitivity to these extracts with different ranges degrees.

The study shows that alcoholic extracts are more than the aqueous extracts in sensitivity towards the germs that studied. The inhibition diameters of alcoholic and aqueous extracts peganum seeds at higher concentration of 75 mg / Millimeters are range between (5-24) and (13-28) mm respectively. While the inhibition diameters of the aqueous extracts of pine leaves are ranged between (13-16) and (4-20) mm respectively .

The study show that *P. vulgaris* are the more germs sensitive towards the aqueous extracts . The diameters of inhibition ranged (11, 20, 24) and alcoholic extracts ranged (12, 17, 28) mm for concentrations.

The *E.coli* germs are characterized with high sensitivity towards the two extracts (aqueous and alcoholic) for the pinus leaves .

Its diameters of inhibition ranged between (9, 11, 16) and (12, 15, 20) mm respectively for concentrations shows that its value is lower in the case of alcohol extracts compared with aqueous extracts , which explains the sensitivity towards the alcoholic extracts which is higher than of aqueous one.

The concentrations in the case of peganum seeds ranged (9-73) and (8-23) mg / ml for the aqueous and alcoholic respectively.

In the case of the extract of pinus leaves ranged between (19-72) and (15-71) mg / ml respectively, therefore the extract of peganum seeds is more active than that of pinus leaves.

The diameters of inhibition which caused antibiotic of chloramphenicol towards bacteria ranged between (22-28) mm and thus the extracts of the two plants are competed to this antibiotic in controlling the bacteria.

The qualitative detection for the peganum seeds proved that the both plants contain on the active groups that are : tannins, saponins, flavonoids, alkaloids, while the Turbinos of pinus leaves are existed exclusively in the extract of peganum seeds .

المقدمة : Introduction

استعمل الانسان النباتات الطبية في الوقاية والتداوي والعلاج للأمراض التي تسببها الاحياء المجهرية ، اذ ان المقاومة التي تبديها المايكروبات تجاه المضادات الحيوية دفع العلماء الى اجراء بحوث جديدة على استعمال النباتات بديلاً عن المضادات الحيوية كعلاجات طبيعية مضادة للمايكروبات وتقوي المناعة في الجسم ، حيث تنتج هذه النباتات مركبات اىضية كنواتج ثانوية تتواجد في الجذور والأوراق والبذور ذات تأثير مثبت أو قاتل للمايكروبات . (عجينة وآخرون ، 2009 ; Desouza, et.al . 2005) .

ثبت ان مستخلصات بذور واوراق وجذور الحرمل لها تأثيراً قاتلاً على الكثير من انواع البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام ومستخلصات اوراقها منشطة لخلايا الدم البيضاء مما يرشحها كمادة طبية استراتيجية في علاج بعض الامراض السرطانية فضلاً عن ان هذه المستخلصات تعمل على احداث انخفاضاً معنوياً في تركيز الكوليسترول في الدم كما ان زيوتها فعالة في علاج الاخماج الجلدية ذات المصدر المايكروبي (بدر الدين ، 2005 ؛ المحنة ، 2003) .

اشارت دراسات متعددة الى وجود فعالية مثبطة للمايكروبات تمتلكها مستخلصات وزيت نباتات العائلة الصنوبرية اذ ان المستخلصات الكحولية لأوراق الصنوبر قد تثبتت نمو مجموعة من البكتريا السالبة لصبغة كرام ، *Escherichia Coli* ، *Klepsiella pneumoniae* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* ، *Salmonella thyphi* كما ان الزيت العطري لأوراق الصنوبر الابرية للنوع *Pinus ponderosa* اظهر فعلاً قاتلاً للفطرين *F. poae* و *Fusarium solani* بتركيز 2% و 5% على التوالي . . (Baranoska, et.al . 2002 ; Lis and Dens, 1997)

توصلت عوفي وآخرون (2007) ان مستخلصات نباتات الحرمل والسماق والاس قد تثبتت نمو مجموعة من البكتريا المعوية المعزولة من الاطفال والعجول المصابة بالإسهال وبشكل معنوي وكانت المستخلصات الكحولية هي الاكثر فعالية مقارنة مع المائية .

كما ذكر Kim and shin (2005) ان مستخلص اوراق الصنوبر المستخلص بالمذيبات العضوية قد تثبط نمو كل من *Staphylococcus aureus* , *E.coli* بشكل معنوي وان هذه الفعالية التثبيطية لأوراق الصنوبر ضد البكتريا تعتمد على نوع الكائن المجهرى وطريقة الاستخلاص والاس الهيدروجيني وكلها عوامل مؤثرة في الفعالية لأي مستخلص نباتي ضد أي كائن مجهرى .

هدفت الدراسة الى استعمال مستخلصات اوراق الصنوبر وبذور الحرمل كمواد مضادة للبكتريا السالبة لصبغة كرام الملوثه للغذاء وتعيين المركبات الكيميائية التي تمنحها القدرة الفسلجية المثبطة للجراثيم التي تسبب تلف الغذاء وتحديد المستخلص النباتي الأكفأ ليكون بديلاً للمواد الحافظة الصناعية وإطالة العمر الخزني للأغذية .

المواد وطرق العمل : (Material and Methods)

جمع العينات النباتية وتحضيرها :

جمعت اوراق الصنوبر *Pinus halipensis* من محلات الاعشاب المحلية ، وغسلت بالماء المقطر ، وفصلت الاوراق عن اغصانها وجرى تجفيفها في درجة حرارة الغرفة الى ان تجف تماماً، ثم طحنت بواسطة مطحنة كهربائية ، ووضع مسحوق الاوراق في اكياس بلاستيكية وحفظت للثلاجة لحين الاستعمال .

كما جمعت بذور الحرمل *Penganam harmala* من محلات البهارات المحلية ثم نظفت وبعد التأكد من نظافتها ونقاوتها طحنت وحفظت في اكياس بلاستيكية في الثلاجة لحين استعمالها في التجربة .

جمع العينات الجرثومية وعزلها :

جمعت عينات من القشطة المحلية في مدينة الديوانية في اكياس بلاستيكية معقمة ونقلت في نفس اليوم الى مختبر الاحياء المجهرية .

أخذ 10غم من القشطة في دورق سعة 150مللتر واضيف اليه 90مللتر ماء مقطر معقم وبعد المزج الجيد للنموذج مع الماء حضرت سلسلة من التخفيفات المطلوبة واستعملت طريقة صب الاطباق على وسط الماكونكي الصلب (Todar , 2002) في زرع النماذج وحضنت بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة . شخصت البكتريا النامية على وسط اكار الماكونكي ، والمعزولة من القشطة اعتماداً على خصائصها المزرعية والمجهرية وتم توكيدها بالاختبارات البايوكيميائية (عباس، 2011) .

تحضير المستخلصات النباتية والمواد الفعالة :

حضر المستخلص المائي حسب الطريقة التي اردها Anessiny و Perez (1993) وذلك بأخذ (15) غم من المسحوق النباتي ومزجها مع 100مل من الماء المقطر في دورق زجاجي وترك المزيج لمدة 24 ساعة مع اجراء مزج بواسطة محرك مغناطيسي وبدرجة 35 °م ثم نبذ بجهاز الطرد المركزي بسرعة 2500 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق ، جرى ترشيح المحلول بأستعمال ورق ترشيح (What man No.1) ، اخذ الراشح ووضع في فرن بدرجة (45-40) م لغرض التجفيف ، اذا يتم الحصول على المسحوق الجاف للمستخلص .

حضر المستخلص الكحولي حسب الطريقة التي اوردها Oalleye (2007) وذلك بأخذ 50غم من المسحوق النباتي في دورق زجاجي واضيف اليها 350مللتر من الكحول الايثيلي 95% داخل حمام ثلجي ومزجت جيداً بأستعمال الخلاط الكهربائي وترك الخليط في الثلاجة لمدة 24 ساعة بعدها رشح المحلول بأمراره خلال ورق الترشيح ، واحتفظ بالراشح وتم التخلص من الكحول بأستعمال جهاز المبخر الدوار لحين الحصول على سائل كثيف بعدها جفف السائل الكثيف بأستعمال جهاز التجفيد (Lyopholizer) لحين الحصول على مادة جافة ، وحفظت المادة الجافة في الثلاجة لحين الاستعمال .

حضر المحلول القياسي Stock Solution بإذابة 2غم من المادة الفعالة الجافة في 10ملتر ماء مقطر وهذا هو المحلول الخزين ذو التركيز (200 ملغم/ملتر) ثم حضرت منه التراكيز المطلوبة وهي (25 ، 50 ، 75)ملغم/ملتر .

استعمل الماء المقطر فقط في معاملة السيطرة . ثم عقت المحاليل بأمرها من خلال مرشحات قطرها (0.4 مايكرون) (Vijayanand and hemapriya,2011) .

تم الكشف النوعي الكيميائي للمجاميع الطبية الفعالة في مستخلصات اوراق الصنوبر وبذور الحرمل حسب الطريقة التي اوردها علوان وآخرون ، (2015) وفق التحليل النوعي في الكيمياء الحياتية للمكونات الطبية النباتية .

ولتحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلصات النباتية المدروسة ، نقل 0.8 ملتر من وسط نقيع القلب والدماغ الى انابيب اختبار وأضيف اليه تراكيز متزايدة من المستخلص النباتي وبحجم 0.1 ملتر بأستثناء انبوب السيطرة اذ أضيف اليه نفس الحجم من المحلول الفسلجي (Atlas, et.al . 1995) ثم لقت الانابيب ب0.1 ملتر من اللقاح البكتيري ، وبعد رجها تحضن ب37°م لمدة 24 ساعة ثم تسجل النتائج على اساس ظهور العكورة في الانابيب ، وكذلك ينشر العالق البكتيري على وسط الاكار المغذي وبعد الحضن تقرأ النتائج .

جرى اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات النباتية تجاه الجراثيم المعاملة بأستعمال طريقة الانتشار في الحفر Agar well diffusion (Pezer, et.al . 1990) اذ حضرت اطباق من وسط الاكار المغذي ، لثق كل طبق بمقدار 0.1 ملتر من العالق الجرثومي بأستعمال ناشر زجاجي وتركت الاطباق لمدة 15 دقيقة ، بعدها عملت حفر في الوسط بقطر 6 ملم بواسطة ثاقب معدني معقم واطبق المستخلص بحجم 0.1 ملتر في كل حفرة ثم حضنت الاطباق بدرجة 37م لمدة 24 ساعة ثم قيست الفعالية من خلال قياس اقطار منطقة التثبيط (Inhibition Zone) حول كل قرص .

المضادات الحيوية :

استعمل المضاد Chloramphenicol (30مايكروغرام) ، في هذه الدراسة انتاج شركة Bioanilyse لأختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية ومقارنتها مع الحساسية للمستخلصات واتبعت طريقة الانتشار بالاقراص Disk Diffusion Method (Harley and Prescott. 2002) اذ خفف اللقاح الجرثومي ليصبح مقارباً لأنبوب ماكفرلند (1.5×10^8 خلية /مللتر) . ثم نشر 0.1 مللتر على سطح وسط الاكار المغذي بواسطة مسحة قطنية معقمة ، ثم ثبتت اقراص المضادات الحيوية على سطح الاكار وحضنت بدرجة 37° لمدة 24 ساعة واستعمل 4 اقراص لكل طبق مزروع ثم حسبت اقطار مناطق التثبيط بوحدة الملمتر .

النتائج والمناقشة : Results and Discussion

عزلت ستة انواع من البكتريا من القشطة المحلية هي *K. oxytoca* , *P. putrefaciens* , *E.coli*, *S. typhimurium* , *P. vulgaris* وعرضت اولاً الى المستخلصات المائية كما في الجدول (1) اذ تأثرت بالمستخلصات المائية لبذور الحرمل واوراق الصنوبر وكانت اكثرها تأثراً بالمستخلص المائي لبذور الحرمل بكتريا *P. vulgaris* اذ بلغت اقطار التثبيط (11 ، 20 ، 24) ملمتر للتركيز (25، 50، 75) ملغم / مللتر على التوالي ، بينما اكثرها تثبيطاً بالمستخلص المائي لأوراق الصنوبر بكتريا *E.coli* حيث بلغت اقطار التثبيط (9، 11، 16) ملمتر على التوالي ايضا ، في حين كانت كل من *K. oxytoca* و *S. typhimurium* اكثر الجراثيم المعاملة مقاومة للمستخلص المائي لبذور الحرمل ، بلغت اقطار تثبيطهما (0، 0، 5) و (0، 0، 6) ملمتر على التوالي بينما تميزت *P. putrefaciens* بمقاومتها العالية للمستخلص المائي لأوراق الصنوبر اذ كانت اقطار التثبيط (0، 0، 3) ملمتر .

كانت نتائج هذه الدراسة متقاربة مع ما توصلت اليه عوفي وآخرون (2007) اذ توصلوا ان المستخلص المائي لبذور الحرمل قد أثر معنوياً في تثبيط البكتريا المختبرة وكانت اكثر الجراثيم تأثراً *p.aeruginosa*, *P. mirabilis* بينما قاومتها *S. typhi* حتى في التركيزات العالية . كما

ذكر Muhi-eldeen وآخرون (2008) احتواء بذور الحرمل على نسبة عالية من المركبات الفعالة المضادة للجراثيم والفطريات وخصوصاً المواد القلويدية مثل Peganine, Hermalol , Harmine , Harmaline فضلاً عن احتوائه على مركبات تربينية تكون بهيئة زيوت طيارة وزيوت ثابتة تستعمل في معالجة الالتهابات الجلدية الميكروبية .

جدول (1) تأثير المستخلص المائي لبذور الحرمل وأوراق الصنوبر في نمو البكتريا المعزولة من القشطة المحلية

قطر منطقة التثبيط (ملمتر)*						البكتريا المعزولة
المستخلص المائي للصنوبر (ملغم/مل)			المستخلص المائي للحرمل (ملغم/مل)			
75	50	25	75	50	25	
16	11	9	15	13	7	<i>Escherichia Coli</i>
3	0	0	14	12	8	<i>Pseudomonas putrefaciens</i>
6	3	0	6	0	0	<i>Klepsiella oxytoca</i>
12	7	3	24	20	11	<i>Proteus vulgaris</i>
9	5	0	5	0	0	<i>Salmonella typhimurium</i>

* هذه الاقطار حذف منها قطر الحفرة التي وضع فيها المستخلص

كما توصل Dens , Lis (1997) ان الزيت العطري لأوراق نبات الصنوبر يمتلك فعالية مضادة لعدد كبير من الجراثيم خاصة المرضية مثل بكتريا *Listeria monocytogenes* ان الفعالية التثبيطية لأوراق الصنوبر ضد البكتريا تعتمد على نوع البكتريا وآلية الاستخلاص والأس الهيدروجيني لمواد الاستخلاص (Cho, et.al . 1999) .

يبين الجدول (2) تأثير المستخلص الكحولي لبذور الحرمل واوراق الصنوبر في نمو البكتريا المعزولة من القشطة المحلية وقد تميز المستخلص الكحولي لبذور الحرمل بتثبيط جميع الجراثيم المعاملة ولكل التراكيز المستعملة وكانت *S. typhimurium* هي الاعلى تثبيطاً اذ بلغت اقطار

التثبيط (12، 17، 28) ملمتر للتراكيز (25، 50، 75) ملغم/ملمتر على التوالي بينما كانت *K. oxytoca* هي الأقل تأثراً حيث بلغت اقطار التثبيط (7، 11، 13) ملمتر على التوالي أيضاً .
 اما المستخلصات الكحولية لأوراق الصنوبر فكانت أقل فعالية في التثبيط مقارنة مع الحرمل ، وكانت أكثر الجراثيم تأثراً بالمستخلص الكحولي *E.coli*، اذ بلغت اقطار التثبيط (12، 15، 20) ملمتر للتراكيز (25، 50، 75) ملغم /ملمتر على التوالي في حين كانت *P. putrefaciens* أكثرها مقاومة للمستخلص الكحولي لأوراق الصنوبر اذ بلغت اقطار التثبيط (0، 0، 4) ملمتر على التوالي أيضاً .

جدول (2) تأثير المستخلص الكحولي لبذور الحرمل وأوراق الصنوبر في نمو البكتريا المعزولة من القشطة المحلية

قطر منطقة التثبيط (ملمتر)*						البكتريا المعزولة
المستخلص الكحولي للصنوبر (ملغم/مل)			المستخلص الكحولي للحرمل (ملغم/مل)			
75	50	25	75	50	25	
20	15	12	17	15	8	<i>Escherichia Coli</i>
4	0	0	21	16	11	<i>Pseudomonas putrefaciens</i>
7	4	0	13	11	7	<i>Klepsiella oxytoca</i>
10	6	0	26	22	13	<i>Proteus vulgaris</i>
9	7	0	28	17	12	<i>Salmonella typhimurium</i>

* هذه الاقطار حذف منها قطر الحفرة التي وضع فيها المستخلص

وصف Ahmed وآخرون (1992) نبات الحرمل وخاصة البذور لعلاج الاخماج الذي تسببها البكتريا المرضية *E.coli, Staphylococcus aureus Mycobacterium* وأضافوا بأن بذوره مقوية ومشهية ومعركة ومعقمة ومدرة للطمث ومنظمة لعمل الاعضاء ولعلاج الحمى ، كما توصلت الذهب (1998) ان البكتريا اكثر تحسسا للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل مقارنة مع المستخلص المائي وكانت اكثرها تحسناً *S. typhi* و *P. aeruginosa* وعزت الفعالية

للمستخلص الكحولي في التثبيط الى كون المركبات الفعالة المفصولة في المستخلص الكحولي اكثر مما في المستخلص المائي اذ بلغ عددها في الكحولي 12 بينما في المائي 4 مركبات .

جدول (3) التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) لمستخلصات بذور الحرمل واوراق الصنوبر ودور

المضاد Chloramphenicol في السيطرة على البكتريا المدروسة

مضاد Chloramphenicol (قطر التثبيط مللتر)	التركيز المثبط الادنى (ملغم/مللتر)				البكتريا المعزولة
	مستخلصات الحرمل		مستخلصات الصنوبر		
	الكحولية	المائية	الكحولية	المائية	
25	15	17	15	19	<i>Escherichia Coli</i>
22	12	14	71	72	<i>Pseudomonas putrefaciens</i>
26	23	73	42	44	<i>Klepsiella oxytoca</i>
23	8	9	44	21	<i>Proteus vulgaris</i>
28	10	71	39	38	<i>Salmonella typhimurium</i>

كان تأثير المستخلصات الكحولية لأوراق الصنوبر في هذه الدراسة مقارنة في بعض جوانبها لما توصل اليه عجينة وآخرون (2009) اذ بلغ قطر تثبيط *E.coli*، 18 مللتر عند التركيز 80 ملغم/ مللتر ، *S. typhimurium* ، 3 مللتر عند نفس التركيز بينما كانت الجراثيم التابعة لجنسي *Klepsiella, Pseudomonas* مقاومة تماماً للمستخلص الكحولي أما في دراستنا فكانت ضعيفة التأثير . كما برهن Shin وآخرون (1997) أن المستخلص الكحولي لأوراق الصنوبر قد ثبط كل من بكتريا *Staph. aureus , E.coli* وعزا ذلك الى وجود المجاميع الفعالة في اوراق الصنوبر الذائبة في المستخلص الكحولي والتي من اهمها : الفلافونيدات والقلويدات والتربينات والزيوت الأساسية .

وعموماً كانت المستخلصات الكحولية أكثر فعالية من المائية في قدرتها على تثبيط المايكروبات وقد فسرها الجنابي (1996) على ان الفعالية المثبطة للمايكروبات التي تبديها المستخلصات

النباتية تعتمد على المجاميع الفعالة المثبطة التي تحويها هذه المستخلصات والتي ينبغي ان تكون ذاتية لكي تؤثر وان ذوبان هذه المجاميع عموماً في الكحول اكثر من ذوبانها في الماء .

جدول (4) الكشف النوعي الأولي عن المركبات الفعالة في اوراق الصنوبر وبذور الحرمل

المجموعة الفعالة	الكاشف ودليل الكشف	اوراق الصنوبر	بذور الحرمل
التانينات	خلات الرصاص 1% (ظهور راسب هلامي القوام)	+	+
الكلايكوسيدات	كاشف فهلانك (ظهور راسب احمر)	+	-
الصابونيات	رج المستخلص (ظهور رغوة لفترة طويلة)	+	+
الفلافونيدات	كحول ايثيلي + NaOH (ظهور لون اصفر)	+	+
الراتنجات	ايتانول 95% + ماء حمض (تكون عكارة)	+	-
الكومارين	NaOH مع الاشعة فوق البنفسجية (ظهور لون اخضر مزرق)	-	-
القلويدات	كاشف Wagner (ظهور راسب بني)	+	+
الفينولات	استعمال كاشف 1% FeCl ₃ (ظهور راسب اخضر)	-	-
التربينات	استعمال كشف حامض الكبريتيك + الخليك الثلجي (تكون محلول بني غامق)	-	+

يشير الجدول (3) الى التراكيز المثبطة الدنيا للمستخلصات المائية والكحولية لبذورالحرمل واوراق الصنوبر للبكتريا المدروسة وكانت اقل قيمة لـ MIC للمستخلصات المائية الكحولية واوراق الصنوبر هو اتجاه *E.coli* اذ بلغت التراكيز (19 ، 15) ملغم/ ملتر للمستخلصين المائي والكحولي على التوالي اما اعلى قيمة MIC فقد بلغت (71 ، 72) ملغم/مليتر على التوالي ايضاً تجاه بكتريا *P. putrefaciens* .

كانت المستخلصات المائية والكحولية لبذور الحرمل قد سجلت ادنى قيمة لـ MIC تجاه *P. vulgaris* اذ بلغت (9، 8) مللتر على التوالي واعلى قيمه تجاه *K. oxytoca* اذ بلغت اقطار التثبيط (73، 23) ملغم/مللتر على التوالي ايضاً.

كما يلاحظ ان مستخلصات بذور الحرمل هي الاعلى فعالية مقارنة مع مستخلصات اوراق الصنوبر في معظم المعاملات ، كما ان المستخلصات الكحولية اكثر كفاءة في تثبيط الجراثيم من نظيرتها المائية .

ذكرت عوفي وآخرون (2007) ان المستخلصات الكحولية للأس والحرمل والسماق اكثر فعالية من المائية في تثبيط مجموعة من البكتريا المعوية المعزولة من العجول المصابة بالاسهال وعزت فعالية المستخلص الكحولي الى كون ان عدد المركبات الفعالة المفصولة تكون اكثر مما في حالة استعمال الماء المقطر كمذيب فضلاً عن قطبية المذيب ونوع البكتريا تحت تأثير المستخلص .

تفوقت المستخلصات الكحولية على المائية للأوراق في فعالية التثبيط البكتيري وفسر Skin و Kim (2005) كفاءة المستخلص الكحولي لهذا النبات الى محتواه العالي من المركبات القلويدية التي لها قابلية ذوبان في الكحول الايثيلي تفوق قابلية ذوبانها في الماء والتي لها القابلية على التداخل مع الـ DNA البكتيري مؤدية الى قتلها .

يبين الجدول (4) المجاميع الكيميائية الفعالة التي تحويها مستخلصات بذور الحرمل واوراق الصنوبر اذ تواجدت : التانينات ، الصابونيات، الفلافونيدات ، والقلويدات في مستخلصات كلا النباتين ، بينما اقتصر وجود الكلايكوسيدات والرتنجات على مستخلصات الصنوبر فقط بينهما انحصر تواجد التربينات على مستخلصات الحرمل فقط . وجاءت هذه النتائج فيما يتعلق بتواجد المركبات الفعالة في مستخلص اوراق الصنوبر مقارنة لما توصل اليه عجينه وآخرون (2009) في دراسته لمستخلصات اربعة من النباتات ضمت بعض التوابل .

كما كشفت الشنوي (2009) عن وجود القلويدات ، التانينات ، الصابونيات والتربينات وعزت الفعالية المثبطة للأحياء الدقيقة الى تواجد هذه المركبات الفعالة الذائبة في مستخلصات بذور الحرمل .

عند مقارنة المستخلصات المائية والكحولية لبذور الحرمل واوراق الصنوبر مع فعالية مضاد Chloramphenicol الذي تراوحت اقطار التثبيط بتأثيره بين (22-28) ملمتر تجاه البكتريا المختبرة فيظهر ان هذه المستخلصات عموماً مؤثرة وذات قدرة على التثبيط وهي منافسة في كثير من تأثيراتها للمضادات الحيوية .

نستنتج من هذه الدراسة امكانية استخدام هذه المستخلصات كعلاج بديل عن المضادات الحيوية التي ادى كثرة استعمالها الى مضاعفات مرضية كالفشل الكلوي وعجز القلب وتسمم الكبد .
نوصى بأجراء دراسة تجريبية بعزل المجاميع الفعالة وتنقيتها وقياس درجة السمية التي قد تؤدي الى احداث تلف نسيجي او خلل فسلجي من خلال تجريعها في داخل اجسام حيوانات مختبرية وتحديد التراكيز غير المؤذية وتحاشي التراكيز الخطرة .

المصادر العربية :

- بدر الدين ، حامد علي (2005) نباتات الحرمل كنز من الفوائد . كلية الطب البيطري . جامعة الملك سعود – فرع القصيم . المملكة العربية السعودية .
- الجنابي ، علي عبدالحسين صادق (1996) تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الانسان . رسالة ماجستير . كلية العلوم ، الجامعة المستنصرية .
- الذهب ، أزهار عمران لطيف (1998) ، الفعالية التضادية لمستخلصات نباتية عراقية في بعض البكتريا الممرضة . رسالة ماجستير . كلية العلوم ، جامعة بابل .
- الشنوي ، فوزية احمد (2009) تأثير مزيج من مستخلص بذور الحرمل واوراق نبات الشيح ضد الاميبيا الحالة للنسيج *Entamoeba histolytica* في الزجاج ، المجلة العراقية للعلوم . 50(3):290-295 .
- عباس ، ميسون صباح (2011) دراسة حساسية بعض البكتريا المرضية للمضادات الحيوية والمستخلصات النباتية . كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد . مجلة الانبار للعلوم البيطرية 4(2):7-14.
- عجينه ، صبا جعفر ؛ مازن جميل هندي وعبدالغني ابراهيم يحيى (2009) تأثير المستخلصات الكحولية الخام لأجراء بعض النباتات في تثبيط النمو لأنواع من البكتريا المرضية والمسببة لتلف الغذاء . المجلة العراقية لبحوث السوق . 1(2) : 1-14 . كلية الزراعة . جامعة بغداد .
- علوان ، اقبال فاضل ؛ عمار حمود وعصام فاضل الجميلي (2015) تأثير المستخلص الكحولي لنبات البمبر *Cordal myxa* على انزيمي ALP و GST ومضادات الاكسدة MDA في ذكور الفئران البيض . المجلة العراقية للتقانات الحياتية . 14(2):314-326 . جامعة بغداد .

- عوفي ، سعيه ياسر ؛ سجي مهدي جابر وزاهده ميران عبد الحسين (2007) تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتات الآس والحرمل والسماق في بعض البكتريا المعوية وبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* . مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري . 6(1) :5-10. كلية الطب البيطري . جامعة القادسية .
- المحنه ، ايناس كريم هاديز (2003) تأثير بعض المستخلصات المائية لبعض النباتات على بعض البكتريا الهوائية المعزولة من خمجات الجروح والحروق . رسالة ماجستير . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية .

المصادر الأجنبية :

- Ahmed , A. ; Khan , K. A ; Sultan , S. and Siddoqi , S. (1992) Study of the Invitro antimicrobial activity of Harmine , Harmaline and their derivatives . J. Ethnopharmacol . 35(3):289-294 .
- Anessiny , G. and Perez , C. (1993) screening of plants used a green line . Folk medicine for antimicrobial activity . J. Ethnopharmacol . 39:119-128.
- Atlas , R.M. ; Brown , A.E. and Park , L. C. (1995) Experimental Microbiology Laboratory Manual . MC. Grwar , Hill companies Mos. by company . st. Louis .
- Baranowska , M.K ; Mardarowics , M. ; and Dynowska , M. (2002) Antifungal activity of the essential oils from some species of the genus Pinus . Z. Naturforsch . 57:478-482 .
- Cho , J.E. ; Lee, M.J. and Yoon , J. R. (1999) A Comparisons of volatile compounds of Pinus densiflora on kinds of extraction solvent and part of Pinus . J. Korean . Sol. Food Sci. Nutr. 82:973-979 .
- Desouza , E.L. ; Stamford , T.L. and Lima , E.O. (2005) Antimicrobial effectiveness of spices an approach for use in food conservation system . Braz. Arch. Biol.Technol. , 48(4):1513-1516 .
- Harley , J.P. and Prescott , L.M. (2002) Laboratory Exercises in Microbiology 5th.ed . The Mc.Grow-Hill companies . USA .

- Kim, Y.S. and Shin , D. H. (2005) Volatile components and antibacterial effects of pine needle extracts . Food Microbiology . 22:37-45 .
- Lis , B.M. and Denes , S.G. (1997) Bioactivity of selected plant essential oil against *Listeria monocytogenes* J. of Applied Bacteriology . 82:759-762 .
- Muhi-eldeen , Z. ; AlShamma , K.J. ; Al-Hussainy , T.M. and Ibraheem, H. (2008) Acute toxicological studies on the extracts of Iraqi peganum harmala . in rats European J. of Sci. Research 22(4):494-500 .
- Olaleye , M.T. (2007) cytotoxicity and antibacterial activity of methanolic extract of *Hibiscus sabdariffa*. J. Med. Plant Res. 3(4):170-181 . Fedral. Univ. Nigeria .
- Pezer, C. ; Poaul , M. and Bazerque , P. (1990) An antibiotic assay by the agar well diffusion method. Acta Biol. Med. Exp. 15:113-115.
- Shin , K.H. ; Chi, H.J. Lim , S.S. ; Cho, S.H. and Yu, J.H. (1997) Antimicrobial activities of volatile essential oil from Korean aromatic plants . Nat. Prod. Sci 3:141-147 .
- Todar , K.(2002) The bacterial flora of Human and Bacteria of medical importance . Bacteriology ; 303(2):577-579 .
- Vijayanand , S. and Hemapriya J. (2011) Antibacterial efficacy of peels . and seed extracts of punicagranatum against selected bacterial strains. Int. J. Medicobio. Res. 1(4):231-234 .