وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية التربية
قسم علوم الحياة

تأثير المستخلص المائي لنبات القرنفل على بعض الانواع البكتيرية المرضية

بحث مقدم الى مجلس قسم علوم الحياة –كلية التربية – جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس علوم في علوم الحياة

من قبل

نور سامي كاظم

بإشراف الدكتورة

احلام علي

بسم الله الرحمن الرحيم

وقلْ ربِ زِدني علماً

صدقَ الله العظيم
سورة طه آيه (114)

الاهداء

الخلاصة

درست الفعالية التثبيطية لنبات القرنفل بطريقة الانتشار بالحفر على عدد من البكتريا المرضية والتي شملت *Escherichia coli, Klebsiella .spp, Staphylococcus aureus , Streptococcus pyogens*

فتبين من خلال الاختبار ان للمستخلص المائي لنبات القرنفل تاثير تثبيطي على البكتريا المعزولة واظهر التركيز (300 ملغم /مل) اعلى تاثير تثبيطي في نمو البكترياوالذي كان اكثرها تاثيرا على بكتريا *E.coli* هو (40.56 ، 35.05 ، 24.00) ملم على التوالي وللتراكيز الثلاث(300،200،100) ملغم/مل على التوالي وكان اقلها تاثير هو تركيز 100 ملغم / مل وعلى جميع البكتريا قيد الدراسة .

المقدمة Introduction

اذ تمتلك البكتريا مقاومة طبيعية لعدد كبير من المضادات الحيوية ذات الفعالية العالية والمؤثرة في البكتريا وتعود هذه المقاومة الى وجود طبقة اللبد متعدد السكر (Lipo poly sachrrides) في الجدار الخلوي لها التي تمنع نفاذية التراكيز المثبطة للمضادات الى داخل الخلية البكتيرية (Lee *et al* . ,2014) والمشكلة تكمن في المقاومة المكتسبة التي تزدد بشكل سريع في السنوات الاخيرة (Merck , 2002) لذا اتجهت الدراسات الحديثة الى استخدام المستخلصات النباتية في المعالجة اذ امتازت بفعاليتها وقلة تأثيراتها الجانبية وسهولة وعدم تمكن البكتريا من ايجاد المقاومة لها اضافة الى كونها غير مكلفة وغير ملوثة للبيئة (Cowan , 2010) .

ان استعمال خليط المضادات الحياتية له فوائد عديدة منها تقليل فرص ظهور السلالات المقاومة. تحتل النباتات في الوقت الحاضر مكانه مهمة في الانتاج الزراعي والصناعي وتعد المصدر الرئيسي للعقاقير الطبية والمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الاودية او تستخدم بوصفها مواد خام لانتاج عدد من المركبات الكيميائية التي تدخل في تصنيع عدد من الادوية المهمة (زنكة ، 2004) واصبح معلوما في الوقت الحاضر ان في النباتات مواد اساسية كالكاربوهيدرات والبروتينات تؤدي دورا في الطب وذكر ان المواد الفعالة في النباتات تتاثر بعوامل عديدة منها ظروف التربة والمناخ وطريقة الجمع والحفظ (Al-Rawi, 1988) .

يعد القرنفل Syzygium aromaticum من النباتات المهمة طبيا حيث استخدمت ازهاره وزيته على مستوى العالم وعلى مدى اجيال لتخفيف الام الاسنان. يمتلك زيت القرنفل خصائص مضادة للالتهاب باحتوائه على مادة اليوجينول (Eugenol) التي تعمل كمسكن ومضاد حياتي (Cowan , 2010) .

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

تحضير المستخلص المائي :

اعتمدت طريقة Fehri وجماعته (1994) في تحضير المستخلص المائي اذ تم تجفيف الجزء النباتي المدروس وطحنه باستخدام المطحنة اخذ 10 غم من المسحوق الجاف ومزج مع 20 مل من الماء المقطر المعقم في دورق زجاجي حجم 100 مل بواسطة المازج المغناطيسي لمدة 24 ساعة وبسرعة عالية ، ترك المحلول الناتج لمدة (30) دقيقة ليستقر ثم رشح باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي للتخلص من العوالق الكبيرة ثم نبذ مركزيا بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 10 دقائق ، ركز المستخلص بواسطة جهاز المبخر الدوار (Rotary evaporation) عند درجة لا تتجاوز 40 م للحصول على المستخلص المركز ، ثم وضع الناتج في فرن حراري oven عند درجة حرارة 45-50م لغرض تجفيف المادة والحصول على مستخلص جاف بهيئة مسحوق حفظ عند درجة حرارة 20م لحين الاستعمال .

اخذ 1،2و3 غم من مسحوق المستخلص النباتي الجاف واذيب في 10 مل من الماء المقطر المعقم فاصبح لدينا محلول خزين بتركيز 100،200،و300 ملغم / مل عقم المحلول بالترشيح باستخدام اوراق الترشيح Millipore filter paper بقط نفاذية 0.45 Mm للتخلص من الملوثات الجرثومية الموجودة فيه والحصول على محلول خزين معقم (Mitscher *et al*., 1972)

تحضير العالق البكتيري :

استخدمت طريقة الانتشار في الحفر لقياس الفعالية البايولوجية التثبيطية للمستخلص ضد نمو العزلات البكتيرية ا حضر عالق الأحياء المجهرية بأخذ 4 - 2 مستعمرات مين الأحياء المجهرية قيد الدراسية ووضعت في المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم بتركيز % 0.85 وتمت مقارنته بأنبوبة ماكفرلاند رقيم 0.5 والحاوية على 10 × 1.5 خلية مليلتر(Forbes *et al*.,2007) ، اخذ 0.1 مل من هذا العالق الجرثومي ونشر على سطح الاكار بواسطة مسحة (15 ثانية ليجف ثم عملت الحفر - قطنية وترك حوالي 10) بواسطة ثاقب الفلين المعقم ووضع في كل حفرة 0.1 مل من المستخلص النباتي من التراكيز المحضرة مع ترك حفرتين للسيطرة في كل طبق واحدة استخدم فيها الماء المقطر والثانية استخدم فيها الايثانول وحضنت الاطباق لمدة 24 ساعة بدرجة 37°م ثم قيس القطر التثبيطي بواسطة مسطرة ملمترية مدرجة.

النتائج والمناقشة Results and discusion

أظهرت نتائج دراسة الفعالية التثبيطيه لمستخلص القرنفل المائي في نمو العزلات البكتيرية المرضية وان هذا التأثير اعتمد على تركيز المستخلص ، وان معدل اقطار التثبيط ازداد بزيادة تركيز المستخلص فقد بلغ معدل

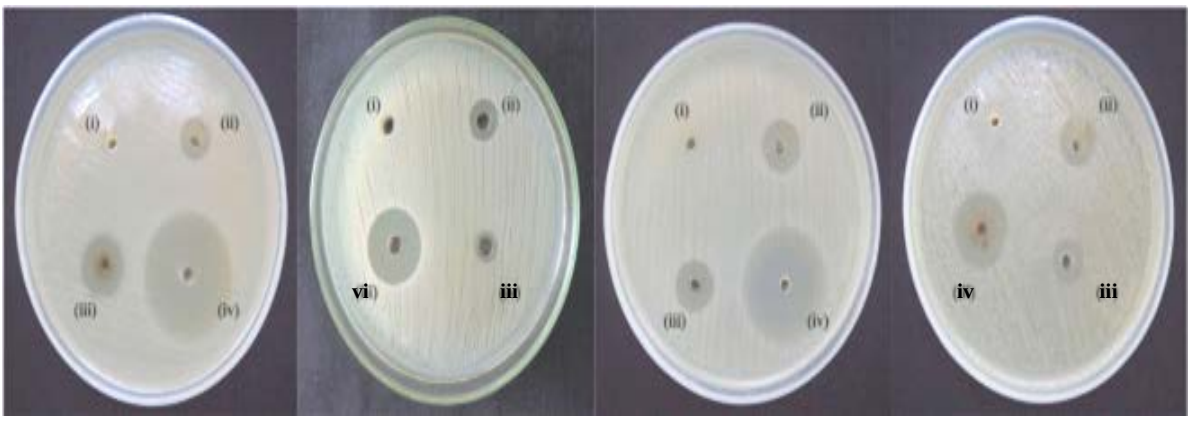
قطر التثبيط للمستخلص المائي للقرنفل والمذاب بالماء والذي كان اكثرها تاثيرا على بكتريا *E.coli* هو (40.56 ، 35.05 ، 24.00) ملم على التوالي شكل (1) وللتراكيز الثلاث(300،200،100) ملغم/مل على التوالي وكان اقلها تاثير هو تركيز 100 ملغم / مل وعلى جميع بكتريا الاختبار اذ بلغ (19.50،20.00 و15.00)ملم لكل *Klebsiella .spp, S. aureus ,S. pyogens* على التوالي. وقد يعزى ذلك الى وجود المواد الفعالة ضد الجرثومة والذائبة بالماء مثل القلويدات والمركبات الاروماتية والتانينات والكلايكوسيدات وهذا يتفق مع ما ورد مع Grieve (2008) اعتبار القرنفل المائي ناقل جيد للقلويدات والمركبات الاروماتية كما والذي يعد gallo tannic acidان القرنفل يحتوي على ضمن التانينات التي لها القدرة على الذوبان بالماء وترسيب البروتينات وتثبيط عمل الانزيم في الخلية بسبب تكوين الاواصر الهيدروجينية بسبب مجاميع الهيدروكسيل وهذا يتفق مع وما اوردته مصطفى (1995) . في حين لايتماثل ذلك مع ماحصلت عليه زنكة (2004) والتي وجدت بأن القرنفل المائي اعطي اقل قطر تثبيطي في نمو جرثومة المكورات العنقودية الذهبية في حين وجد Nicolls (2000) عدم تأثير القرنفل في تثبيط نمو الجرثومة.

بلغت أقطار التثبيط للمستخلص المائي للقرنفل على بكتريا *S. pyogens ,S. aureus , Klebsiella .spp.* في تركيز 200 ملغم/مل كان (28.05،30.00 ،27.00) ملم وعلى التوالي اما تتركيز 300 ملغم/مل اعطى (35.44، 33.00 ،32.00) ملم لكل من *S. pyogens ,S. aureus , Klebsiella .spp* وعلى التوالي

ويلاحظ من النتائج المثبتة أعلاه ان التركيزين المذكورين أعلاه أعطيا نتائج جيدة ومتقاربة وان السبب في حساسية البكتريا للمستخلص المائي لنبات القرنفل قد أما لان هذه البكتريا لم تالف هذه المستخلصات من قبل ولذلك لم تستطع مقاومتها او على أساس إن للمواد المستخلصة ألفة كيميائية للتفاعل مع مكونات الخلية او لوجود مستلمات خاصة على جدار الخلية البكتيرية ونواقل مناسبة تنقل جزيئاتها الى داخل الخلية لتوقف فعل الإنزيمات المساعدة وغيرها من الجزيئات البايلوجية الفعالة . (Hancock and wong , 1984) وهذا يتفق مع ما توصل إليه عباس (2010)

جدول رقم (1) تأثير تراكيز المستخلص المائي لنبات القرنفل في تثبيط نمو البكتريا

ت	التراكيز (ملغم /مل) / الانواع البكتيرية	أقطار منطقة التثبيط (بالملم)		
		%100	%200	%300
1	*S. pyogenes*	19.50	28.05	35.44
2	*S. aureus*	20.00	30.00	33.00
3	*E.a coli*	40.56	35.05	24.00
4	*Klebsiella sp*	15.00	27.00	32.00



E. coli	*Klebsiella .spp*	*S. aureus*	*S. pyogens*

(i) ماء مقطر
(ii) 100 ملغم / مل
(iii) 200 ملغم / مل
(iv) 300 ملغم / مل

المصادر

Hancock , R. E. and Wong . P.G. (1984) : compounds which increase the permeability of the Pseudomonas aeruginosa outer membrane , antimicrob . Agents . chemother . *26* : 48-52 .

Lee, X. C.; Shin, D. S.; Oh, C. X. & Kimm, K. S. (2014). Antimicrobial activities of alliin-alliinase reaction product and mephylene chloride extract of garlic. Annual Meeting New Orleans.

Merck , C.O . (2015) : The merck manual of Diagnosis and therapy , white horse station . U.S.A.

Cowan , M.M. (2010) : plants products as anti microbial z gents , clinical microbiological reviews *12* .564 .

Fehri , B.; Aiache , J.; Memmi, A.; Korbi, S. and Lamaison , J .(1994) . Hypo tension , Hypo glycemia Hypouricemiai recorded after rpeated administration of equenous leaf extract of Oleauropael. J. Pharm.Belg , 49(2) : 101-101-8.

Forbes,B.A.; Sahm,D.F. and Weissfeld,A.S. (2007). Diagnostic Microbiology. 12th ed. Baileyand Scotts'. Mosby Elsevier. China., pp: 93-247

Mitscher , L.A. ; Leu , R . ; Bathal a , M.S . and white , R . (1972) : Anti microbial agents from higher plants 1 Lioydia . *35* : 157-166 .

Grieve , M.(2008) . clove . Botanical

Amodern Herbal.

Nicolls , C.(2000) . Aromaticine in treatment of infections . British Journal *ofPhytomedicine*, vol.5NO.1.

زنكنة ، شكرية علي محمد . (2004) . تأثير مستخلصات عدد من النباتات على نمو بعض انواع البكترية المرضية . رسالة ماجستير / كلية العلوم – جامعة لانبار

عباس ، فارس عباس . (2010) . تاثير الزيت الطيار لنباتي القرنفل *Syzygium aromaticum* واليوكالبتوز *Eucalyptus cumadulnesis* ضد بعض انواع الفطر Alternaria المعزلة من جذور نبات اللهانة ، مجلة ابحاث البصرة . العدد *36* : 1817-2695 .

مصطفى ، ايمان عبد العزيز . (1995). التأثيرات البايولوجية المثبطة لمستخلصات بعض النباتات الطبية في بعض الاحياء الدقيقة المعزولة من قنوات جذور الاسنان . رسالة ماجستير / كلية العلوم– جامعة الموصل ، العراق.

Abstract

The inhibitory activity of the *Syzygium aromaticum* plant was studied by well diffusion on a number of pathogenic bacteria, including *Streptococcus pyogens, Staphylococcus aureus, Klebsiella .spp, Escherichia coli*

(300 mg / ml) showed the highest inhibitory effect in the growth of bacteria, most affected by *E.coli* bacteria (40.56, 35.05, 24.00) mm respectively and for the three concentrations) 300,200,100 mg / ml respectively and the least effect was the concentration of 100 mg / mL and all the bacteria under study