مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد(12) العدد(1)–(2012)
ISSN-1813-1646

دراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لبعض التوابل في بعض انواع البكتريا المرضية في اوساط مختلفة

صلاح عمر احمد وطارق زيد ابراهيم ومها اكرم يونان[1]
[1] قسم علوم الاغذية–كلية الزراعة والغابات–جامعة الموصل–العراق

الخلاصة :

درس التاثير المثبط للمستخلصين المائي والكحولي لكل من الزنجبيل واكليل الجبل(الروز ماري) والزعتر في نمو بعض انواع البكتريا المحللة للاغذية والمرضية في وسطين صلب وسائل . فقد حسبت النسب المئوية لتثبيط البكتريا في الوسط الصلب بطريقة الاقراص اذ اضيف مستخلصي للتوابل الثلاث بتراكيز 10 و 15 و 20 مايكروغرام /قرص ، فيما جرى حساب التركيز الادنى المثبط لكل نوع من البكتريا المدروسة في الوسط السائل عند مستوى من التراكيز المضافة من المستخلصين المائي والكحولي تراوح بين 25 – 400 مايكروغرام /مليلتر . اظهرت النتائج ان هناك تفاوتا في القدرة التثبيطية للبكتريا بحسب نوع وتركيز المستخلص وكذلك نوع البكتريا ، اذ لوحظ ان المستخلص المائي لاكليل الجبل كان ذا تاثير مثبط لانواع البكتريا بشكل اكبر من النوعين الاخرين من التوابل فيما وجدت عزلات بكتريا *Pseudomonas sp.* و *Escherechia coli* اكثر الانواع مقاومة لهذه المستخلصات . وكان للمستخلص الكحولي للتوابل الثلاث تاثيرا مثبطاً لانواع البكتريا بصورة اكبر من المستخلص المائي , ظهر ان لبعض عزلات نوعي البكتريا السابقين مقاومةً عاليةً تجاه هذه المستخلصات ضمن التراكيز المستخدمة في الدراسة . وبينت النتائج ان بكتريا *Pseudomonas sp.* كانت اكثر انواع البكتريا مقاومة للتاثير المثبط للمستخلصين المائي والكحولي للتوابل الثلاث وبدرجة اقل بكتريا *E. coli* و *Salmonella sp.* في حدود التراكيز المستخدمة في هذه الدراسة .

الكلمات الدالة :
التوابل، المستخلص الكحولي ، البكتريا المرضية

للمراسلة :
صلاح عمر أحمد
قسم علوم الاغذية– كلية الزراعة – جامعة الموصل

ايميل:

الاستلام:18-5-2011
القبول :16-11-2011

Study The Effect of Aqueous and Alcoholic Extracts of Some Spices on Some Pathodenic Bacteria in Different Media

Salah Omar Ahmed ,Tariq Zaid Ibrahim and Maha Akram Yonan[1]
[1] Department of Food Sci.- College of Agric. and Forestry-Mosul Univ.-Iraq .

KeyWords:
Diacetyl, Bacteria

Correspondence:
Salah Omar Ahmed
Department of Food Science-College of Agriculture and Foresty -Mosul University

Received:18-5-2011
Accepted:16-11-2011

Abstract :

The effect of aqueous and alcoholic extracts of ginger , rosemary and thyme on the growth of many species of analytical and pathogenic bacteria in solid and liquid media was studied. Inhibitory of bacterial growth percentage in solid media was calculated by using disk method and adding the both kinds of extracts with concentrations as 10,15and 20 µg\ disk. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was measured for each studied individual species of bacteria, of which it was between 25- 400 µg\ml. Results indicate that the two extracts have different Inhibitory effect depending on the kind , extract concentration and bacterial species . Further, aqueous extract of rosemary have more inhibitory effect on bacterial species than other aqueous extracts . Isolates of *Pseudomonas sp.* and *Escherichia coli* have the most resistance against different extracts . Alcoholic extracts of the three spices have more inhibitory effect than the others . Many isolates of the later bacteria species have resisted the extracts at different concentrations. However , *Pseudomonas sp.* was the most resistance bacteria against the aqueous and alcoholic extracts in the three spices and with lower degree for *E.coli* and *Salmonella sp.* at the concentrations which used in this study .

المقدمة

عرف منذ القدم ان للاعشاب الطبية دورا كبيرا في علاج العديد من الامراض البكتيرية والفطرية وغيرهـا واهـتم علمـاء الاحياء المجهرية السـريرية بمستخلصـات النباتـات المضـادة للجراثيم لسببين الاول ان فترة فعالية المضادات الحيوية المشـتقة من الاحياء المجهرية تكون محدودة لتكيف البكتريا على مقاومتها لذا وجب التوسع في ايجاد المواد الفعالة المثبطة للاحياء المجهرية من مصادر اخرى وخاصة المصادر النباتية ، والسبب الثـاني ان عامة الناس اصبحوا اكثر حذرا بسبب المشاكل التي تحدث عنـد استعمال المضادات الحيوية التقليدية بطريقة غير صحيحة واصبح لديهم خيارات اوسـع لمعالجـة الحـالات المرضـية (Cowan ،1999) ، يعد كل من المستخلصين المائي والكحولي والزيـوت العطرية للعديد من المصادر النباتية وخاصة التوابل مـن المـواد التي شاع استخدامها كمضادات لنمو الاحياء المجهريـة وخاصـة البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام والفطريـات (Holmes و Wickert ، 1999 و Morsi ، 2000) ، اذ تسـبب الانـواع البكتيرية المستعملة في هذا البحث امراضا عديدة للانسـان مثـل التهابات الجروح والدمامل والبثرات وامـراض الجهـاز البـولي والاسهال وتسمم الدم وغيرها من الامـراض . وجـد Conner (1993) ان للمواد الفينوليـة مثـل Thymol و Carvacrol و Engenol بالاضافة الى مركبات الـ Terpenoids تاثيراً فعالاً في تثبيط نمو انواعاً عديدة من البكتريا وان هذه المركبات وجد ان لها فعالية ضد العديد من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كـرام وان البكتريا السالبة اكثر مقاومة تجاه هذه المركبات من البكتريـا الموجبة لصبغة كرام , واكد ذلك Zhao و اخرون (2002) الذين اشاروا الى ان للعديد من التوابل وبما تحتويه من مركبات حلقيـة وستيرويدات وقلويدات تاثيرا مثبطا لنمو العديد من انواع الاحيـاء المجهرية . وجـد Vukovic و اخـرون (2007) ان للزيـوت العطرية والمستخلص الكحولي لبعض التوابل تاثيرا مثبطا لنمـو العديد من انواع الاحياء المجهرية وعزى ذلك الى ما تحتويه هذه التوابل من مركبات فعالة مثل β –Selinene و α-Calacorene و Torreyol وغيرها ، أوضح Guandidza و اخرون (2008) ان الزيوت العطرية لبعض التوابل ذات تاثير مضاد لنمو العديـد من الاحياء المجهرية وخاصة البكتريا *E. coli* و *Clostridium perfringens* و الفطر *Asperigillus flavus* وذلـك بتـاثير العديد من المركبات الفعالة الموجودة في هذه التوابل خاصـة α-Pinene وغيرهـا . ذكـر Kanan و AL-Najar (2008) ان للعديد من المستخلصات الكحولية والمائية وبعض الاجزاء الصلبة للتوابل تاثير مثبط لنمو بعض الاحياء المجهرية مثـل الفطريـات وخاصة مستخلصات الثوم والقرفة وغيرها .

هدف هذه الدراسة هـو التعـرف علـى التـاثير التثبيطـي للمستخلصين المائي والكحولي لكل من الزنجبيل و اكليل الجبل و الزعتر في نمو بعض انواع البكتريا وخاصة المرضية منها فـي الاوساط السائلة والصلبة .

مواد وطرائق البحث

التوابل المستعملة في البحث : تم الحصول على التوابـل المجففة و شملت كـل مـن الزنجبيـل (Ginger) *Zingibea officinale* واكليـل الجبـل (Rosemary) *Rosemarinus officinalis* والزعتـر (Thyme) *Thymus vulgaris* مـن الاسواق المحلية لمدينة الموصل .

تحضير المستخلصات : حضر المستخلصين المـائي والكحـولي وفق الطريقة الواردة في Behnia واخـرون (2008) اذ حضـر المستخلص المائي بنقع 25 غم من التوابل الثلاث لمدة 24 سـاعة ثم رشحت وركزت المستخلصات بجهاز المبخر الدوار Rotary evaporator نوع Perfit والمجهز من الشركة الهندية ثم حضر المستخلص الكحولي للاعشاب السـابقة وفـق المصـدر اعـلاه باستخدام كحول الايثانول بتركيز 95% وركـزت المستخلصـات وحفظت في الثلاجة . .

العزلات البكتيرية : تم الحصول على العزلات البكتيرية من قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصـل وقـد نميـت هـذه العزلات وحفظت على الاكار المائل في الثلاجة لحين الاسـتخدام والعزلات المستخدمة هـي كـالاتي : ثـلاث عـزلات لبكتريـا *Pseudomonas sp.* وعـزلتين لكـل مـن بكتريـا *E.coli* و *Stahpylococcus epidermidis* و عزلة واحـدة لكـل مـن بكتريـا *Staphylococcus aureus, Salmonella sp.* و *Klebsella sp.* و *Proteus sp.* و. وحضرت مـزارع سـائلة لكل جنس من هذه البكتريا تمهيدا لاستخدامها في تجارب البحـث وبحسب طريقة Harrigan واخرون (1976) .

طريقة الانتشار بالاقراص المشبعة : حضرت تراكيز مختلفة من المستخلصين الكحولي والمائي لكل من التوابل الـثلاث باسـتخدام المذيبات المناسبة (الكحول الاثيلي المطلق) وصـولا للتراكيـز المطلوبة (ملغم/مل) وعقمت المركزات الناتجة بالفلترة باسـتخدام ورق ترشيح نوع (Millipore filter 0.45) ومن ثـم طبقـت طريقة الانتشار بالاقراص لاختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات باستخدام اقراص معقمة من نوع Whatman بقطر 5 ملم مضافا اليها (10و15و20 مايكروغرام/قرص) من المستخلصين المائي والكحولي ووفق طريقـة Eteghad واخـرون (2009) وثبتـت الاقراص على اطباق بتري حاوية على الاكار المغذي والمشـربة بـ 100 مايكروليتر من المزارع البكتيرية السائلة التي يصل فيها عدد البكتريا الى 10^8 خلية/مل وباستخدام طريقة النشر ثم حضنت الاطباق على درجة حرارة 37 ْم لمدة 24 ساعة وحسبت الفعالية التثبيطية لكل تركيز من المستخلصات بقياس قطر منطقة التثبـيط وحساب النسبة المئوية للتثبيط وفق ما ذكره Ahmed واخـرون (2003) .

طريقة ايجاد التركيز المثبط الادنى للمستخلصات في المزارع السائلة : حضرت تراكيز مختلفة من المستخلصات تراوحت ما بين (25–400 مايكروغرام /مل) للمستخلصين المائي والكحولي في المرق المغذي و ملقحة بالمزارع البكتيرية السائلة بحجم 20 مايكروليتر لكل منها وبحسب طريقة Ferraro واخرون (2003) و حضنت المعاملات بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 24 ساعة ثم لوحظ ظهور العكارة بالعين المجردة بالمقارنة مع عينة السيطرة لقياس التركيز المثبط الادنى للبكتريا .

النتائج والمناقشة

من الجدول (1) لوحظ ان المستخلص المائي للزنجبيل اثر في نمو بعض انواع البكتريا بدرجات متفاوتة بالاعتماد على نوع البكتريا وتاثير التراكيز المضافة من هذا المستخلص . فقد وجد ان كل من بكتريا *Proteus sp.* و *Salmonella sp.* ثبط نموهما وولكن بنسب منخفضة اذ بلغت النسبة المئوية لتثبيط النوع الاول من البكتريا 3.3 و 4.79 و 8.03 % عندما اضيف المستخلص المائي للزنجبيل بتراكيز 10 و 15 و 20 مايكروغرام/ قرص على التوالي فيما كانت النسبة المئوية لتثبيط بكتريا *Salmonella sp.* 1.59 و 3.3 و 5.79 %للتراكيز الثلاثة على التوالي ، ان اضافة المستخلص اعلاه الى بكتريا *S. epidermidis* ثبط النمو بنسبة 0.99 % فيما عدا ذلك فان الانواع الاخرى من البكتريا كانت مقاومة لهذا المستخلص .

الجدول (1) تاثير المستخلص المائي للزنجبيل على البكتريا بطريقة الاقراص .

اسم البكتريا	10 مايكروغرام/قرص	15 مايكروغرام/قرص	20 مايكروغرام/قرص
* *Salmonella sp.*	*1.59	3.3	5.79
Pseudomonas sp.1	R	R	R
Pseudomonas sp.2	R	R	R
Pseudomonas sp.3	R	R	R
E. coli 1	R	R	R
E. coli 2	R	R	R
S. epidermidis 1	R	R	R
S. epidermidis 2	R	R	0.99
Klebsella sp.	R	R	R
S. aureus	R	R	R
Proteus sp.	3.3	4.79	8.03

*النتائج تقارن على اساس ان نسبة التثبيط في عينة المقارنة 0%. *الارقام هي بواقع نسبة مئوية %

ومن الجدول (2) تبين ان المستخلص المائي لاكليل الجبل كان اكثر فاعلية في تثبيط نمو البكتريا المستخدمة في الدراسة من الزنجبيل اذ ان العديد من الانواع ثبط نموها وبدرجات متفاوتة وفق التراكيز المضافة من المستخلص ونوع البكتريا . ان اعلى نسبة تثبيط 7.79 % حصلت للبكتريا *S. epidermidis* عند اضافة المستخلص المائي لاكليل الجبل بتركيز 20 مايكروغرام/ قرص فيما انخفض الى 0.99 % وهو الاقل عند معاملة بكتريا *S. aureus* بتركيز 10 مايكروغرام/ قرص ، على ان العديد من انواع البكتريا وجدت مقاومة لهذا المستخلص وفي كافة التراكيز المستخدمة في الدراسة وهذا يوضح ان هناك تفاوتا في الفعالية التثبيطية لهذا المستخلص وفقا لنوع البكتريا اذ انه بصورة عامة كانت بكتريا *Salmonella sp.* و *Pseudomonas sp.* و *E. coli* مقاومة للتثبيط بفعل هذا المستخلص مقارنة مع الانواع الاخرى.

الجدول (3) يوضح ان البكتريا المستخدمة في الدراسة لم تتاثر باضافة المستخلص المائي للزعتر وفي كافة التراكيز المستخدمة في الدراسة .

الجدول (2) تاثير المستخلص المائي لاكليل الجبل على البكتريا بطريقة الاقراص.

اسم البكتريا	10 مايكروغرام/قرص	15 مايكروغرام/قرص	20 مايكروغرام/قرص
* *Salmonella sp.*	R	R	R
Pseudomonas sp.1	R	R	R
Pseudomonas sp.2	R	R	R
Pseudomonas sp.3	R	R	R
E. coli 1	R	R	R
E. coli 2	R	R	R
S. epidermidis 1	*3.3	4.79	7.79
S. epidermidis 2	R	R	R
Klebsella sp.	R	4.79	6.87
S. aureus	0.99	2.27	5.79
Proteus sp.	1.59	4.79	5.79

*الارقام هي بواقع نسبة مئوية %

الجدول(3)تاثير المستخلص المائي للزعتر على البكتريا بطريقة الاقراص.

اسم البكتريا	10 مايكروغرام/قرص	15 مايكروغرام/قرص	20 مايكروغرام/قرص
* *Salmonella sp.*	R	R	R
Pseudomonas sp.1	R	R	R
Pseudomonas sp.2	R	R	R
Pseudomonas sp.3	R	R	R
E. coli 1	R	R	R
E. coli 2	R	R	R
S. epidermidis 1	R	R	R
S. epidermidis 2	R	R	R
Klebsella sp.	R	R	R
S. aureus	R	R	R
Proteus sp.	R	R	R

من الجداول الثلاث السابقة يتضح ان هناك تفاوتا في تاثير المستخلص المائي لكل من الزنجبيل و اكليل الجبل و الزعتر في تثبيط نمو انواع البكتريا المستخدمة في الدراسة وهذا اعتمد على نوع البكتريا والمستخلص و التراكيز اذ يعد تركيز 20مايكروغرام/قرص لمستخلص الزنجبيل واكليل الجبل هو الاكثر فاعلية في تثبيط نمو بعض انواع البكتريا . ويعزى التاثير المثبط لهذهين المستخلصين لاحتوائهما على بعض المواد الفعالة والتي تشير الدراسات الى تاثيرها المثبط للاحياء المجهرية اذ ان هذه المواد الفعالة وكما اشار Zani واخرون (1990) و Helander واخرون (1998) تعمل على تثبيط بناء كل من DNA و RNA والبروتينات والسكريات المتعددة في الخلية البكتيرية كما ان بعض هذه المركبات مثل Carvacol تعمل على تحليل الغشاء الخارجي لخلية البكتريا والتاثير على المركب Lipopolysaccharide وهذا من شانه ان يعمل على النأثير في نفاذية اغشية الخلايا البكتيرية خاصة البكتريا السالبة لصبغة كرام

ان المستخلص الكحولي لكل من الزنجبيل و اكليل الجبل و الزعتر ظهر له تاثيراً مثبطاً انمو البكتريا المستخدمة في الدراسة بنسب اعلى مما حصل في المستخلص المائي . الجدول (4) يبين ان المستخلص الكحولي للزنجبيل سبب تثبيطا لعدد من انواع البكتريا وفي كافة التراكيز المستخدمة في الدراسة اذ ان اعلى نسب تثبيط حصلت في حالة اضافة هذا المستخلص الى مزرعة بكتريا *Pseudomonas sp.3* اذ بلغت نسبة التثبيط 8.03 %عند اضافة هذا المستخلص بتركيز20 مايكروغرام/قرص ثم 5.79 % عند اضافة 15 مايكروغرام /قرص من المستخلص الكحولي للزنجبيل الى مزرعة البكتريا نفسها و 20 مايكروغرام/قرص لمزرعة بكتريا *Salmonella sp.* اما التثبيط الاقل فحصل بعد اضافة المستخلص السابق 10 مايكروغرام/قرص الى مزرعة *S. aureus* فيما ظهر ان العديد من انواع البكتريا وجدت مقاومة لهذا المستخلص وخاصة عند التركيز الاقل المستخدم في الدراسة . ان نسب التثبيط بصورة عامة ازدادت (في البكتريا غير المقاومة) بزيادة التركيز المستخدم وظهر هذا واضحا عند اضافة 20 مايكروغرام/قرص اذ ارتفعت النسب المئوية للتثبيط.

الجدول(4) تاثير المستخلص الكحولي للزنجبيل على البكتريا بطريقة الاقراص.

اسم البكتريا	10 مايكروغرام/قرص	15 مايكروغرام/قرص	20 مايكروغرام/قرص
** Salmonella sp.*	*1.59	3.3	5.79
Pseudomonas sp.1	R	R	R
Pseudomonas sp.2	R	R	R
Pseudomonas sp.3	3.3	5.79	8.03
E. coli 1	R	R	R
E. coli 2	R	R	R
S. epidermidis 1	2.27	3.3	4.79
S. epidermidis 2	0.99	2.27	3.3
Klebsella sp.	R	R	2.27
S. aureus	0.45	0.99	2.27
Proteus sp.	R	R	R

*الارقام هي بواقع نسبة مئوية %

من الجدول (5) يلاحظ ان اعلى نسب تثبيط حصلت بعد اضافة 20و 15 مايكروغرام/قرص الى مزرعة بكتريا *Salmonella sp.* وبلغت 15.03 و 8.05 % على التوالي ، ان اضافة هذا المستخلص وبالتركيز الاعلى المستخدم في الدراسة ثبط نمو العديد من انواع البكتريا وبنسب عالية وصلت الى ما بين 6.87 – 15.03 % ثم انخفضت نسب التثبيط بانخفاض التراكيز المضافة من هذا المستخلص لتصل الى 3.03 % (النسبة الاقل) في حالة اضافة المستخلص الكحولي لاكليل الجبل الى مزرعة بكتريا 2 *St epidermidis* بتركيز 10 مايكروغرام/قرص. ان بعض انواع البكتريا المستخدمة في الدراسة وخاصة التابعة للجنس *Pseudomonas* و بكتريا *E. coli* كانت مقاومة للفعل التثبيطي للمستخلص الكحولي لاكليل الجبل.

الجدول(5) تاثير المستخلص الكحولي لاكليل الجبل على البكتريا بطريقة الاقراص .

اسم البكتريا	10 مايكروغرام/قرص	15 مايكروغرام/قرص	20 مايكروغرام/قرص
** Salmonella sp.*	*4.79	8.05	15.03
Pseudomonas sp.1	R	R	R
Pseudomonas sp.2	4.79	5.79	8.03
Pseudomonas sp.3	R	R	R
E. coli 1	R	R	R
E. coli 2	R	R	R
S. epidermidis 1	4.79	6.87	8.03
S. epidermidis 2	3.3	3.87	8.03
Klebsella sp.	R	4.79	6.87
S. aureus	3.87	5.79	8.03
Proteus sp.	R	5.79	8.03

*الارقام هي بواقع نسبة مئوية %

لوحظ من الجدول (6) ان المستخلص الكحولي للزعتر ذا تاثير مثبط لعدد من انواع البكتريا في الوسط الصلب وازداد التاثير المثبط لهذا المستخلص بزيادة التراكيز المضافة منه . ان اعلى نسب التثبيط كانت عند اضافة هذا المستخلص بتركيز 20 مايكروغرام/قرص الى مزرعة بكتريا *Pseudomonas sp.3* وبلغت 15.03 % ثم اضافة نفس التركيز منه الى مزرعة بكتريا *S. epidermidis 2* ووصلت نسبة التثبيط الى 10.59 % اما اقل نسب التثبيط فكانت 0.03% وحصلت عند اضافة 10 مايكروغرام/قرص الى بكتريا *Pseudomonas sp.3* . ان العديد من انواع البكتريا وجدت مقاومة لهذا المستخلص ومن ذلك بكتريا *Pseudomonas sp.* و *E. coli* و *Klebsella sp.* و *Proteus sp.* .

الجدول (6) تاثير المستخلص الكحولي للزعتر على البكتريا بطريقة الاقراص .

اسم البكتريا	10 مايكروغرام/قرص	15 مايكروغرام/قرص	20 مايكروغرام/قرص
Salmonella sp. *	R	R	1.59*
Pseudomonas sp.1	R	R	R
Pseudomonas sp.2	R	R	R
Pseudomonas sp.3	0.03	3.3	15.03
E. coli 1	R	R	R
E. coli 2	R	R	R
S. epidermidis 1	0.99	3.3	4.79
S. epidermidis 2	5.79	8.03	10.59
Klebsella sp.	R	R	R
S. aureus	0.99	2.27	3.87
Proteus sp.	R	R	R

*الارقام هي بواقع نسبة مئوية %

من الجداول (4 و5 و6) يتبين ان المستخلص الكحولي للتوابل الثلاث كان اكثر فعالية في تثبيط نمو البكتريا في الدراسة من المستخلص المائي وفي نفس الوسط (الصلب) ورغم ذلك فان تثبيط انواع البكتريا اختلف بحسب نوعها ونوع المستخلص والتركيز المضاف على ان العديد من انواع البكتريا وجدت مقاومة لهذا المستخلص . والنتائج اتفقت مع ما وجده Ghaly واخرون (2010) الذين اشاروا الى ان مستخلصات بعض التوابل مثل اكليل الجبل والزعتر والثوم وجدت مثبطة لانواع عديدة من البكتريا ومن ذلك *Pseudomonas* و *E. coli* و *Klebsella* و *Proteus sp* و *S. aureus* وغيرها .

من الجدول (7) لوحظ ان هناك تباينا في التركيز الادنى من المستخلص المائي للزنجبيل الذي يحصل عنده تثبيط لنمو انواع البكتريا المستخدمة في الدراسة . فقد وجد ان بعض انواع البكتريا كانت مقاومة لحد التركيز 400 مايكروغرام/مل من المستخلص المائي للزنجبيل مثل عزلتي بكتريا *E. coli* فان انواعا اخرى حصل فيها تثبيط للنمو عند تركيز 25 مايكروغرام/مل من الوسط السائل مثل بكتريا *S. aureus* فيما كانت الانواع الاخرى ذات مقاومة بين الحدين الادنى والاعلى للتركيز المضاف من هذا المستخلص ومما لاشك فيه فان نوع البكتريا يعد العامل الاكثر اهمية في تحديد التركيز الادنى من المستخلص المائي للزنجبيل الذي ثبط نمو البكتريا كما ان النتائج اعطت دلالة على ان بكتريا *E. coli* الاكثر مقاومة للتثبيط مقارنة مع الانواع الاخرى .

الجدول (7) التركيز المثبط الادنى للمستخلص المائي الزنجبيل في المزارع السائلة (مايكروغرام /مل) .

اسم البكتريا	25	35	45	55	85	100	150	200	250	300	350	400
Salmonella sp.									+			
Pseudomonas sp.1									+			
Pseudomonas sp.2									+			
Pseudomonas sp.3								+				
E. coli 1												+
E. coli 2												+
S. epidermidis 1					+							
S. epidermidis 2					+							
Klebsella sp.									+			
S. aureus		+										
Proteus sp.						+						

من الجدول (8) ظهر ان المستخلص المائي لاكليل الجبل ثبط نمو بعض انواع البكتريا بدرجات متفاوتة بحسب نوع البكتريا المدروسة ففي حين لوحظ ان بعظ انواع البكتريا لم يحصل لها أي تثبيط حتى عندما اضيف التركيز الاعلى لهذا المستخلص (400 مايكروغرام/مل) مثل بكتريا *Pseudomonas* بعزلاتها الثلاث فان انواعا اخرى ثبط نموها بعد اضافة 400 مايكروغرام/مل من المستخلص المائي لاكليل الجبل ومن ذلك عزلتي بكتريا *E. coli* اما اقل الانواع مقاومة لهذا المستخلص فهي بكتريا *Proteus sp* اذ ثبط نموها بعد اضافة 35 مايكروغرام/مل من مستخلص اكليل الجبل الى الوسط السائل ولعل هذا التباين في التركيز الاقل المثبط للانواع المدروسة من البكتريا بتاثير المستخلص المائي لاكليل الجبل يرجع الى فعالية المواد الذائبة في الماء الموجودة في اكليل الجبل وقابليتها في التاثير على نمو كل نوع من انواع البكتريا ادناه.

الجدول (8) التركيز المثبط الادنى للمستخلص المائي اكليل الجبل في المزارع السائلة (مايكروغرام /مل) .

اسم البكتريا	25	35	45	55	85	100	150	200	250	300	350	400
Salmonella sp.									+			
Pseudomonas sp.1												
Pseudomonas sp.2												
Pseudomonas sp.3												
E. coli 1											+	
E. coli 2											+	
S. epidermidis 1			+									
S. epidermidis 2			+									
Klebsella sp.								+				
S. aureus			+									
Proteus sp.		+										

الجدول (9) يبين ان تباينا قد حصل في مقاومة البكتريا المدروسة بتاثير المستخلص المائي للزعتر ففي حين عزلات بكتريا *Pseudomonas* وجدت مقاومة لجميع التراكيز التي اضيفت من هذا المستخلص الى الوسط الغذائي السائل فان بكتريا *E. coli* لم تثبط الا عند اضافة 250 مايكروغرام/مل من الوسط اما اقل الانواع مقاومة لهذا المستخلص فيبدو انها بكتريا *S. aureus* اذ كان التركيز الاقل المثبط لها هو 35 مايكروغرام/مل وبالتاكيد فان هذه النتائج تعكس التباين في مقاومة هذه الانواع من البكتريا للمواد الفعالة التي يحتويها الزعتر والتي لها قابلية الذوبان في الماء .

من الجداول (7و8 و9) يتضح ان لطبيعة كل من الزنجبيل و اكليل الجبل و الزعتر وما يحتويه المستخلص المائي لها من مواد فعالة كان مؤثرا في تحديد مقاومة كل عزلة من عزلات البكتريا المستخدمة في الدراسة من خلال تقدير التركيز الاقل المثبط لهذه الانواع من البكتريا وبصورة عامة فان لمقاومة عزلات البكتريا دورا كبيرا في هذا التباين اذ ظهر ان للعديد منها مقاومة للتثبيط ضمن التراكيز المضافة من مستخلصات التوابل الثلاث الى الوسط السائل . ان ما حصل من تاثير للمستخلص المائي في البكتريا يعود الى تاثير المواد الفعالة للتوابل الثلاث في عمليات تمثيل المواد الاساسية في الخلية البكتيرية والتاثير على الغشاء الخارجي لها وهو ماسبق الاشارة الي. والنتائج تتفق مع ما وجده El-Meleigy واخرون (2010) والذين اكدوا ان للزيوت العطرية لبعض التوابل ومنها الزنجبيل و اكليل الجبل و الزعتر تاثير مثبط لمجموعة كبيرة من انواع البكتريا وهذا تاثر بنوع المستخلص والبكتريا وبالتراكيز المستخدمة .

الجدول 9 : التركيز المثبط الادنى للمستخلص المائي الزعتر في المزارع السائلة (مايكروغرام /مل) .

اسم البكتريا	25	35	45	55	85	100	150	200	250	300	350	400
Salmonella sp.						+						
Pseudomonas sp.1												
Pseudomonas sp.2												
Pseudomonas sp.3												
E. coli 1									+			
E. coli 2									+			
S. epidermidis 1								+				
S. epidermidis 2								+				
Klebsella sp.								+				
S. aureus		+										
Proteus sp.					+							

من الجدول (10) لوحظ ان العديد من انواع البكتريا المستخدمة في الدراسة وجدت مقاومة للمستخلص الكحولي للزنجبيل وبكافة التراكيز المستخدمة في البحث ومن ذلك بكتريا *Salmonella sp.* و *Pseudomonas sp.* اذ ان اضافة هذا المستخلص ولحد التركيز الاعلى (400 مايكروغرام/مل) لم تثبط هذه البكتريا مما جعلها اكثر الانواع مقاومة لهذا المستخلص . حصل تثبيط للانواع الاخرى من البكتريا وتراوح التركيز الادنى للتثبيط ما بين 55–70 مايكروغرام/مل مما يدل على ان هناك تقارب في قدرة انواع البكتريا على مقاومة تاثير المواد الفعالة في هذا المستخلص ، اذ ان كل من عزلتي بكتريا *E. coli* و *Proteus sp.* تثبط نموها عند استخدام تركيز 70 مايكروغرام/مل فيما ظهر ان الانواع الاخرى مثل بكتريا *S. epidermidis* و *Klebsella sp.* و *S. aureus* كانت الاقل مقاومة بين مجموعة البكتريا المدروسة اذ وصل التركيز الادنى الذي ثبط النمو من المستخلص الكحولي للزنجبيل الى 55 مايكروغرام/مل .

الجدول (10) التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي للزنجبيل في المزارع السائلة (مايكروغرام/مل)

اسم البكتريا	25	35	45	55	85	100	150	200	250	300	350	400
Salmonella sp.												
Pseudomonas sp.1												
Pseudomonas sp.2												
Pseudomonas sp.3												
E. coli 1									-			
E. coli 2									-			
S. epidermidis 1								-				
S. epidermidis 2								-				
Klebsella sp.								-				
S. aureus								-				
Proteus sp.									-			

المستخلص الكحولي لاكليل الجبل كان اكثر تاثيرا في تثبيط البكتريا وتبين هذا من الجدول (11) اذ ان جميع انواع البكتريا ثبط نموها عند التراكيز 25–70 مايكروغرام/مل . ففي حين ان عزلات بكتريا *Pseudomonas sp.* و *E. coli* و *Klebsella*

sp. ظهر انها اكثر مقاومة من انواع الاخرى اذ بلغ التركيز الادنى للتثبيط 70 مايكروغرام/مل اما بكتريا *S. aureus* كانت اقل مقاومة من الانواع الاخرى ووصل التركيز الادنى الذي ثبط نموها الى 25 مايكروغرام/مل. ومما لاشك فيه فان هذا التفاوت يعزى الى نوع البكتريا وطبيعة مقاومتها.

الجدول (11) التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي اكليل الجبل في المزارع السائلة (مايكروغرام /مل) .

اسم البكتريا	25	45	55	70	400
Salmonella sp.			+		
Pseudomonas sp.1				+	
Pseudomonas sp.2				+	
Pseudomonas sp.3				+	
E. coli 1				+	
E. coli 2				+	
S. epidermidis 1			+		
S. epidermidis 2			+		
Klebsella sp.				+	
S. aureus	+				
Proteus sp.		+			

الجدول (12) يبين ان المستخلص الكحولي للزعتر ثبط نمو عزلات البكتريا المستخدمة في الدراسة بصورة اختلفت بحسب نوع العزلة . اذ ان بكتريا *Pseudomonas sp.* بعزلاتها الثلاث وجدت مقاومة لكافة تراكيز هذا المستخلص المستخدمة في الدراسة في حين ان كل من بكتريا *Salmonella sp.* و *Klebsella sp.* و *Proteus sp* وجدت اكثر مقاومة من الانواع الاخرى اذ ان التركيز الادنى الذي ثبط نموها وصل الى 70 مايكروغرام/مل وهو اعلى من التركيز الادنى الذي ثبط نمو الانواع الاخرى مثل عزلات *E. coli* و *S. epidermidis* والتي وصل التركيز الادنى لتثبيط نموها الى 55 مايكروغرام/مل من الوسط السائل .

من الجداول (10و11و12) لوحظ ان عزلات بكتريا *Pseudomonas sp.* كانت مقاومة لجميع التراكيز المستخدمة من المستخلص الكحولي للزنجبيل والزعتر وهذه البكتريا وبعض الانواع الاخرى خاصة بكتريا *E. coli* و *Klebsella sp.* اكثر مقاومة للتثبيط بفعل المستخلصات الكحولية للزنجبيل واكليل الجبل والزعتر من الانواع الاخرى ومما لاشك فيه فان طبيعة الجدار الخلوي للبكتريا وعوامل داخلية في الخلية هو الذي سبب هذا التفاوت في مقاومة التاثير المثبط لهذه المستخلصات والنتائج تتفق مع ما وجده Conner (1993) الذي اكد ان التوابل والنباتات بما تحتويه من مواد فعالة له تاثير مثبط للعديد من انواع البكتريا .

ان المستخلصين المائي والكحولي لكل من الزنجبيل و اكليل الجبل و الزعتر كانت ذات تاثير متباين في تثبيط انواع البكتريا المستخدمة في الدراسة واعتمد هذا على نوع وتركيز المستخلصات ونوع البكتريا ومدى مقاومتها للمواد الفعالة التي يحتويها كل من التوابل الثلاث المستخدمة في الدراسة . اذ ان تثبيط البكتريا حصل نتيجة تاثير هذه المركبات (الفعالة) الموجودة في هذه التوابل ومن هذه مركبات Gingeral و Limonens و Camphene في الزنجبيل و P-Cymene و Linalool و – γterpinene وغيرها في اكليل الجبل و Thymol و غيره في الزعتر (ICMR،2003 و Ozcan و Chalchat ، 2008) والنتائج تتفق مع ما وجده El-Meleigy واخرون (2010) و Erturk (2010) الذين لاحظوا ان العديد من المستخلصات والزيوت العطري لبعض التوابل ومنها الزعتر واكليل الجبل والزنجبيل لها تاثير مثبط لنمو الاحياء المجهرية ومن ذلك البكتريا مثل *Salmonella sp.* و *E. coli* و *S. aureus* اذ ان بعض هذه المستخلصات ادت الى احداث تثبيط تام لنمو هذه البكتريا واعتمد ذلك على نوع المستخلص والبكتريا والتراكيز المضافة وعله فان استعمال هذه التوابل يمكن ان يساعد في القضاء على الاحياء المرضية المقاومة للمضادات الحيوية وبذلك يمكن التقليل من الجهود المبذولة في عمليات البحث عن مضادات جديدة للتخلص من المقاومة التي تطورت ويمكن ان تتطور في الاحياء المجهرية .

الجدول (12) التركيز المثبط الادنى للمستخلص الكحولي الزعتر في المزارع السائلة (مايكروغرام /مل)

400	70	55	45	25	اسم البكتريا
	+				*Salmonella sp.*
					Pseudomonas sp.1
					Pseudomonas sp.2
					Pseudomonas sp.3
		+			*E. coli 1*
		+			*E. coli 2*
		+			*S. epidermidis 1*
		+			*S. epidermidis 2*
	+				*Klebsella sp.*
		+			*S. aureus*
	+				*Proteus sp.*

References

Ahmed, M.M.;O.F. Abdul-Aziz and H.S. Mohammad (2003). Effect of essential oils extracted from some spices and herbs on growth and aflatoxins production by *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999. Iraqi J. of Agric. Sci. , 4(3):5-12.

Behnia, M.; A.Haghighi ; H. Komeylizadeh; S.S. Tabaei and A.Abadi (2008). Inhibitory effects of Iranian *Thymus vulgaris* extracts on in vitro growth of *Entamoeba histolytica* . Korean J. Parasitol., 46(3):153-156.

Conner, D.E. (1993). Naturally Occuring compounds . In : Davison P.& Branan A.L (eds.). Antimicrobials in foods . New York : Marcel Dekker, Inc.: 441-468.

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents . Clinic. Microbiol. Reviews, 12(4):564-582.

El-Meleigy, M.A.; M.E. Ahmed; R.A. Arafa ; N.A. Ebrahim and E.E. El-Kholany (2010). Cytotoxicity of four essential oils on some human and bacterial cells. J. Appl. Sci. Environm. Sanit. , 5(2): 143-159.

Erturk, O.(2010). Antibacterial and antifungal effects of alcoholic extracts of 41 medicinal plants growing in Turkey. Czech J. Food Sci. ,82: 53-60.

Eteghad, S.S.; H. Mirzaei; S.F. Pour and S. Kahnamui (2009). Inhibitory effects of endemic *Thymus vulgaris* and *Mentha piperita* essential oils on *Escherichia coli* O157:H7 . Res. J. Biol. Sci., 4(3): 340-344.

Ferraro, M.J.; M.A. Wikler ; W.A. Craig ; M.N. Dudley; G.M. Eliopoulos ; D.W. Hecht; J.Hindler; L.B. Reller; A.T. Sheldon; J.M. Swenson; F.C. Tenover; R.T. Testa and M.P. Weinstein (2003) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically ; approved standard - 6th edition . NCCLS .,23(2):1-41.

Ghaly, M.F.; M.A. Shalaby; S.M. Shash ; D.M. Baraka and R.A. Aly (2010). Control of bacterial contamination of bedsores by using some natural extracts. J. Appl. Sci. Res., 6(1): 70-80.

Gundidza, M.; N. Gweru; V. Mmbengwa; N.J. Ramalivhana; Z. Magwa and A. Samie (2008). Phytoconstituents and biological activities of essential oil from Rhus Lancea L. F., African J. Biotechnol., 7(16): 2787-2789.

Harrigan, F.; M.C. Cance and E. Margaret (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology . Academic Press , London-New York-San Fransisco.

Helander, I.M.; H.L. ALakomi; K. Latava-Kala, T.M. Sandholm ; I. Pol ; E.J. Smid ; L.G. Gorris , M. Von and A. Wright (1998). Characterization of the action of selected essential oil compounds on Gram-negative bacteria. J. Agric. Food Chem., 46:3590-3595.

Holmes, G.J. and J.W. Wickert (1999). Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to post harvest citrus fungicides in California . Phytopath . , 89: 716-721.

ICMR (2003). Ginger : Its role in xenobiotic metabolisim . Printed and Published by Shri. J.N. Mathur for the Indian Coun. Med. Res. ,New Delhi, India.

Knan, G.J. and R.A. AL-Najar (2008). In vitro antifungal activities of various plant crude extracts and fractions against citrus post-

Harvest disease agent *Penicillium digitatum* . Jord. J. Biol. Sci. , 1(3):88-89.

Morsi, N.M. (2000). Antimicrobial effects of crude extracts of *Nigella sativa* on multiple antibiotics –resistant bacteria . Acta. Microb. Pol.49(1):63-74.

Ozcan, M.M. and J.C. Chalachat (2008). Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosemarinus officinalis*) oil from Turkey . Inter. J. Food Sci. and Nutrit. , 59(7-8):691-698.

Vukovic, N.; T. Milosevic ; S. Sukdolak and S. Solujic (2007). Antimicrobial activities of essential oil and methanol extract of *Teucrium montanum* . ECAM , 4(51): 17-20.

Zani, F. ; G. Massimo ; S. Benvenuti ; A. Bianchi ; A. Albasini ; M. Melegari ; G. Vampa ; A. Bellotti and P. Mazza (1990). Studies on genotoxic properties of essential oil with *Bacillus subtilis* rec-assay and Salmonella microsome reversion assay . Plant Med. , 57:237-241.

Zhao, H.Q. ; Y.Qu ; X.Y. Wang; H.J. Zhang; F.M. Li and H. Masao (2002). Determination of trigonelline in *Trigonella foenumgraecum* by HPLC Zhong-Zhong Yao. Zhi,27(3):194-196.