مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد التاسع عشر - المجلد الثاني - علوم الحياة - كانون الثاني 2022 م
doi.org/10.52866/esj.2022.02.19.09

تأثير مستخلصات نبات hassk (L.) *Eclipta alba* ضد بعض الاحياء المجهرية الممرضة

فاروق احمد علي ، زبيدة عبد اللطيف اسماعيل
الجامعة العراقية / كلية التربية - قسم علوم الحياة

الخلاصة:

هدفت الدراسة الى التعرف على ما يحويه مستخلص أوراق نبات *Eclipta alba* (L) Hassk من مكونات كيميائية ومركبات فعالة واختبار فاعلية نوع المستخلص في تثبيط نمو بعض الاحياء المجهرية الممرضة. إذ استخدمتُ عدداً من الكواشف الكيميائية للتعرف على المركبات الفعالة الموجودة في النبات قيد الدراسة. بينت النتائج احتواء النبات على القلويدات والكليكوسيدات والصابونيات والزيوت الطيارة والكومارينات والتربينات والفلايفونيدات والفينولات والتانينات وخلوه من بعض المركبات مثل الراتنجات والستيرويدات. استخدمتُ في هذه الدراسة ثلاث مستخلصات من مسحوق أوراق نبات E. alba بمذيبات مختلفة وهذه المستخلصات هي المستخلص الايثانولي البارد والايثانولي الحار ومستخلص الكلوروفورم. تمتْ دراسة فاعلية هذه المستخلصات وبطريقة الانتشار في الحفر في أربع تراكيز 25، 50، 100، 200 ملغم/ مل على نمو الاحياء المجهرية قيد الدراسة وهي *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Klebsiella oxytoca, Escherichia coli* وخميرة *Candida albicans* وفطري *Aspergillus niger* و *Penicillium digitatum* استخدم جهاز الـ GC-Ms لمعرفة المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية المذكورة اعلاه وكذلك معرفة عدد المركبات الكيميائية في كل مستخلص. بينتْ النتائج أنَّ المستخلص الايثانولي البارد هو الاكثر تأثيرا وبتركيز 200ملغم/ مل إذ بلغ قياس قطر منطقة التثبيط 21.70 ملم في بكتريا *S. epidermis* اما في بكتريا *E. coli* وبكتريا *K. oxytoca* كانت اقل قطر لمنطقة التثبيط إذ بلغ 17.67 ملم لنفس التركيز . اما في المستخلص الايثانولي الحار وبتركيز 200ملغم/ مل كانت بكتريا *S. epidermis* كانت الاكثر تأثرا لمنطقة التثبيط إذ بلغت 21.30 ملم، اما بكتريا *S. aureus* كانت فيها اقل قطر لمنطقة التثبيط إذ بلغت 14.27ملم في هذا التركيز . اما في مستخلص الكلوروفورم وبتركيز 200ملغم/ مل كانت بكتريا *K. oxytoca* الاكثر تأثراً لمنطقة التثبيط إذ بلغت 16.80ملم، اما بكتريا *S. epidermis* كانت فيها اقل قطر لمنطقة التثبيط إذ بلغت 11.50ملم في تركيز 200ملغم/ مل. اما في الفطريات بينتْ نتائج المستخلص الايثانولي البارد وبتركيز 200ملغم/ مل ان خميرة *C. albicans* كانت الاكثر تأثرا لقياس قطر منطقة التثبيط إذ بلغت 18.80ملم، اما فطر *A. niger* كان اقل قطر لمنطقة التثبيط إذ بلغ 15.43ملم . اما في المستخلص الايثانولي الحار وبتركيز 200ملغم/ مل كانت خميرة *C. albicans* كانت الاكثر تأثرا لقياس قطر منطقة التثبيط إذ بلغت 20.37 ملم، اما فطر *A. niger* كان اقل قطر لمنطقة التثبيط إذ بلغ 12.27ملم . اما في مستخلص الكلوروفورم وبتركيز 200ملغم/ مل تبين ان خميرة *C. albicans* كانت الاكثر تأثراً لقياس قطر منطقة التثبيط إذ بلغت 15.70ملم، اما فطري *A. niger* و *P. digitatum* كانا مقاومين لمستخلص الكلوروفورم حيث كانت نتيجة قياس قطر منطقة التثبيط تساوي صفر في تركيز 200ملغم/ مل وباقي التراكيز. بينت نتائج فحص قابلية المقاومة و الحساسية للمضادات الحيوية على البكتريا و باستعمال مضادات حيوية لكل من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام وباستعمال جهاز الفايتك2 وبحسب مقاومة كل بكتريا لعدد من المضادات الحيوية والنسبة المئوية للمقاومة تبين أنَّ بكتريا *K. oxytoca* وبكتريا *E. coli* اظهرتا اعلى نسبة مئوية للمقاومة بلغت 30٪ و ان بكتريا *K. oxytoca* كانت مقاومة لمضاد Amoxicillin , Tetracycline, Trimethoprim اما بكتريا *E. coli* فكانت مقاومة لمضاد Amikacin, Amoxicillin , Tetracycline , في حين سجلت بكتريا *S. aureus* مقاومة لمضاد Tetracycline, Trimethoprim , وسجلت بكتريا S. epidermis مقاومة لمضاد Amoxicillin , Tetracycline. يتبين من نتائج الفحص ان البكتريا جميعها كانت حساسة لمضادات Cephalexin , Ciprofloxacin Gentamicin , Nalidixic acid , Nitrofurantoin , Novobiocin , وان البكتريا جميعها كانت مقاومة لمضاد Tetracycline حسب النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة للأحياء المجهرية .

الكلمات المفتاحية : *Eclipta alba* ، المستخلص الايثانولي ، مستخلص الكلوروفورم، نشاط تثبيطي .

The effect of Eclipta alba (L.) hassk extracts against some pathogenic microorganisms

Abstract:

The objective of the study is to identify the chemicals and compounds contained in the *Eclipta alba* (L) Hassk leaf extract and to test the effectiveness of the type of extract in inhibiting the growth of certain pathogenic microorganisms. A number of chemical reagents were used to identify the active compounds present in the plant under study. The results showed that the plants contain alkaloids, calcides, soaps, flying oils, komarines, turbines, flavonides, phenols, and tannins, and they are free from some compounds such as resins and steroids. Three extracts of the *E. alba* foliage powder were used in this study with different solvents; These are cold ethanol, hot ethanol and chloroform extract. The effectiveness of these extracts and the method of diffusion in the drilling was studied at four concentrations of 25,50,100,200 mg/ml on microbial growth under study, namely *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Klebsiella oxytoca, Escherichia coli, Candida albicans* leaven *, Aspergillus niger fungus and Penicillium digitatum*. Use the GC-Ms to identify the active compounds found in the abovementioned plant extracts as well as the number of chemical compounds in each extract. The results showed that the cold ethanol extract was the most influential with a concentration of 200 mg/ml. The inhibition area measured 21,70 mm diameter in the *S. epidermis* bacteria and in the *E. coli* and *K. oxytoca* bacteria the lowest diameter of the inhibition area with 17,67 mm for the same concentration. In the hot ethanol extract with a concentration of 200 mg/ml, the *S. epidermidis* was the most affected by the inhibition area at 21,30 mm, while the *S. aureus* had the lowest diameter of the inhibition area at 14,27 mm. In the chloroform extract with a concentration of 200 mg/ml, the most affected bacteria were *K. oxytoca* with a concentration of 16,80 mm, while *S. epidermis* had the lowest diameter of the retardation area at 11,50 mm in a concentration of 200 mg/ml. In fungi, the results of cold ethanol extract with a concentration of 200 mg/ml showed that the *C. albicans* were the most affected by measuring the diameter of the discouragement area at 18.80 mm, while the *A. niger* fungus had the lowest diameter of the discouragement area at 15,43 mm. In the hot ethanol extract with a concentration of 200 mg/ml, the *C. albicans* were the most affected to measure the diameter of the discouragement area at 20.37 mm. *A. Niger* had the lowest diameter of the discouragement area at12,27 mm. In the chloroform extract with a concentration of 200 mg/m it was found that the *C. albicans* yeast was the most affected to measure the diameter of the retardation area at 15, 70 mm, while the *A. niger* and *P. digitatum* fungi were resistant to the chloroform extract, where the diameter of the retardation area was zero in the concentration of 200 mg/ml and the other concentrations. The results of the tests of the resistance and sensitivity of antibiotics to bacteria and the use of antibiotics to both negative and positive bacteria in chrome and with the use of the viatc 2 showed that *K. oxytoca* and *E. coli* showed the highest percentage of resistance at 30% and that *K. oxytoca* was resistant to Amoxicillin, Tetracycline, Trimethoprim and *E. coli* bacteria were resistant to Amikacin, Amoxicillin, and Tetracycline, while *S. aureus* bacteria were resistant to Tetracycline, Trimethoprim, and *S. epidermis* bacteria were resistant to Amoxicillin, Tetracycline. The results of the examination revealed that all bacteria were sensitive to Cephalexin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Nalidixic acid, Nitrofurantoin, Novobiocin, and that all bacteria were resistant to Tetracycline, according to the results obtained in this microbiology study.

Key words: *Eclipta alba* , Ethanolic extract, chloroform extract , Inhibitory activity .

المقدمة

سعى الأنسان منذ نشأته الأولى الى استغلال ما وهبه الله سبحانه وتعالى من ثروات متنوعة فعرف العلاج بالأعشاب منذ ذلك الوقت، واستطاع استغلال الطبيعة المحيطة به فكوَّنَ أول صيدلية يلوذ بها ليجد الدواء الشافي، وبدأ يستعمل صيدليته البدائية التي تذخر بالجذور والأوراق والثمار والبذور[1]. تُعد النباتات مصدراً مهماً للطب منذ تلك العصور واستعملتْ في الطب التقليدي بسبب إمكاناتها العلاجية وأدت الدراسات التي أجريت على تلك النباتات آنذاك إلى اكتشاف أدوية جديدة تستعمل في علاج أمراض متنوعة، وأنَّ كثيراً من النباتات الطبيعية المعروفة استعملتْ للوقاية من العديد من الأمراض المختلفة وعلاجها. وتبين أنَّ لهذه النباتات تأثير علاجي قد يكون بسبب مادة كيميائية معينة أو مركب في العشب أو بسبب تفاعل تآزري معقد لمكونات مختلفة من النبات مما يجعل نبتة واحدة قد تساهم في علاج كثير من الأمراض[2]. تشير التقديرات إلى أن هناك 250.000 إلى 500.000 نوع من النباتات على الأرض ، وتستخدم نسبة صغيرة نسبياً (10-1٪) منها كغذاء لكل من الإنسان والحيوان[3]. في الوقت الحاضر أصبحت العلاجات بالنباتات والاعشاب الطبية لها دور كبير ومكانه مرموقة في علوم الطب الحديث وأصبح متوافراً للمرضى في الصيدليات وكذلك محلات العشابين التي تدار من قبل متخصصين في أنحاء مختلفة من العالم[4]. تعد الأحياء المجهرية من خلال تأثيرها المباشر وغير المباشر من أهم المسببات المرضية التي تصيب الإنسان والحيوان[5]. تُستخدم النباتات الطبية في أنشطتها المضادة للبكتيريا والفطريات والفيروسات[6]. ان وفرة النباتات الطبية وسهولة زراعتها تجعلها ذات أهمية علاجية كبيرة تساهم بشكل واسع في الطب [7]. ونتيجة للنمو السكاني العالمي السريع والتطور الكبير في التقنيات العلمية وفي كافة المجالات، استعملت مركبات مصنعة غير طبيعية للقضاء على الأحياء المجهرية الضارة في المجال العلاجي والغذائي النباتي لسهولة تصنيعها وسرعة توفيرها بكميات كبيرة، وكان نتيجة ذلك أن يعرف الإنسان أمراضاً لم تكن معروفة من قبل وتمكن من ايجاد العلاج لها[8]. إذ تقدم مراكز الأبحاث والمنظمات الصحية العالمية باستمرار توضيحا عن الدور الذي تؤديه هذه المواد العلاجية كالمضادات الحيوية التي صنعها الإنسان[9و10]. بسبب ظهور مقاومة للبكتريا ضد المضادات الحيوية اضافة الى بعض التأثيرات الجانبية الضارة لهذه المضادات، التجأ العلماء الى الطريق الآمن والمتوافر وهي النباتات الطبية حيث دفع المختصين الى استعمال المستخلصات والمركبات الفعالة حيوياً والمستخلصة من أنواع مختلفة ذات أصل نباتي تستعمل في طب الأعشاب[11]. إذ تمتلك هذه المركبات العديد من الخواص العلاجية حيث تكون مضادة للبكتريا ومضادة للفطريات[12و13].

نبات *Eclipta alba* (L.) hassk

يلعب *E. alba* دور مهم في الطب التقليدي، وهو من عائلة Asteraceae ويُعرف ايضا باسم «Bhring-arajah» [14]. المنكسفة من الفصيلة النجمية وفي بعض الاحيان يسمى بالأقحوان الكاذب ويعرف النبات باسم Arandas في العراق[15]. وفي مصر يسمى سويد أو سعدة [16]، وذكر Migahid[17] أنه يسمى قليطة في السعودية، أما عيسى[18] فيرى أنَّ النبات يسمى قضيم البنت وفي اللغة الهندية يعرف ب «Bhangra» ويتم زراعته كنبات طبي جيد [14]. ويُعرف النبات أيضاً باسم Maka ومن المكونات الكيميائية الموجودة فيه هي Ecliptin, Ecliptalin alpha, Terthe-

nyl methanol beta ,Sigmasterol [19] ونبات E. alba يُعرف باسم الأقحوان الكاذب وينمو في البرك الرطبة موزعة في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم [20] .

نبات *Eclipta alba* ينمو على حافة المياه

نبات *Eclipta alba* ينمو على حافة المياه نبات *E. alba* هو عشب سنوي قائم أو مستلقي كثير تشعب الجذر متفرع توجد عقد في الساق تكون بنية اللون، الأوراق منحنية إلى الاسفل طولها 8.5–2.5 سم، وعرضها 2.3–1.2 سم عادة تكون مستطيلة ورمحيه شبه حادة أو حادة له مذاق مر الازهار بيضاء اللون [21].

التصنيف العلمي للنبات

Taxonomical classification of Eclipta alba [22]

Kingdom: Plantae

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Order: Asterales

Family: Asteraceae

Genus: *Eclipta*

Species: *alba*

أماكن تواجد نبات *E. alba*

ينمو النبات بريا في العراق وبالقرب من المياه وكذلك الهند ويوجد أيضاً في المقاطعات الشرقية في آسيا بما في ذلك إندونيسيا وسريلانكا والفلبين ونيبال وماليزيا حيث ينمو جيداً في السدود وضفاف الانهار والاراضي الطينية وحقول الأرز والخزانات وفي كل من السهول والمناطق الجبلية[23]. يتكيف نبات *E. alba* في بيئات عديدة من المناطق الرطبة وكذلك قنوات الأراضي المنخفضة المروية وحقول الأرز وحقول المرتفعات كما يوجد في جميع أنحاء العالم مثل جنوب شرق وجنوب آسيا[24].

الهدف من البحث

1- الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة لأوراق نبات *Eclipta alba* .

2- تشخيص المكونات الكيميائية لأوراق نبات *Eclipta alba* باستخدام GC-Ms .

3- معرفة التأثير المضاد للميكروبات لمستخلصات الايثانول الحار والبارد والكلوروفورم لأوراق نبات *Eclipta alba* ضد أربعة انواع من البكتريا الممرضة:

(*Staphylococcus epidermis* و *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella oxy-toca*) وخميرة *Candida albicans* وفطري *Penicil-lium digitatum* و *Aspergillus niger* .

4- فحص حساسية البكتريا الممرضة للمضادات الحيوية .

طرق العمل

جمع العينات النباتية

تم جمع أوراق نبات *E. alba* (L) hassk من حافة مياه مشروع الإسحاقي القليلة الجريان في منطقة المشاهدة التابعة لقضاء الطارمية شمال مدينة بغداد، وتم أخذ الكمية المناسبة من أوراق النبات وجمعها في كيس خاص ومن ثم تم غسلها للتخلص من الطين والمواد العالقة بها، تم تصنيف النبات من قبل الاستاذ المساعد الدكتور زبيدة عبد اللطيف اسماعيل (قسم علوم الحياة/ كلية التربية/ الجامعة العراقية)، ومن ثم تم تجفيف الأوراق بوضعها في مكان بعيد عن اشعة الشمس وبعد مرور أربعة أيام جفت الأوراق وأصبحت سهلة التكسر وقد تم طحنها بواسطة مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم ثم تخزينه في أكياس جافة محكمة الإغلاق بعيدة عن الضوء وبدرجة حرارة 37مْ لحين الاستعمال .

مكان جمع النبات في منطقة المشاهدة التابعة لقضاء الطارمية شمالي بغداد

نبات *Eclipta alba* ينمو على حافة مشروع ماء الاسحاقي التابع لمنطقة المشاهدة

الاحياء المجهرية Microbiology

تم الحصول على الاحياء المجهرية قيد الدراسة من دائرة البيئة والمياه في وزارة العلوم والتكنلوجيا ومن مختبرات كلية العلوم / الجامعة المستنصرية، نقيت البكتريا وأجريت بعض الاختبارات التشخيصية والبايوحيوية للبكتريا بجهاز الفايتك 2 للتأكد منها في المختبر حيث اخذت مستعمرة واحدة نقية من كل نمو موجود على الأوساط الزرعية .

ت	الاحياء المجهرية الدقيقة	مصدر العزل	مكان الجمع
1	*Escherichia coli*	الاسهال	الجامعة المستنصرية / كلية العلوم
2	*Staphylococcus aureus*	التهاب المسالك البولية	الجامعة المستنصرية / كلية العلوم
3	*Staphylococcus epidermidis*	ضعف الجهاز المناعي	الجامعة المستنصرية / كلية العلوم
4	*Klebsiella Oxytoca*	الالتهاب الرئوي والجروح	الجامعة المستنصرية / كلية العلوم
5	*Candida albicans*	التهاب الاذن الخارجية	وزارة العلوم والتكنلوجيا / دائرة البيئة والمياه
6	*Penicillium digitatum*	الجروح	وزارة العلوم والتكنلوجيا / دائرة البيئة والمياه
7	*Aspergillus niger*	التهاب الجهاز التنفسي	وزارة العلوم والتكنلوجيا / دائرة البيئة والمياه

الاوساط الزرعية التي تم استعمالها في الدراسة

ت	الاوساط الزرعية Culture media	المنشأ والشركة المصنعة
1	**Mueller-Hinton agar أكار مولر هنتون**	Himedia India
2	**Nutrient Agar (NA) الأكار المغذي**	
3	**Nutrient Broth (NB) المرق المغذي**	
4	**Sabouraud Dextrose Agar (SDA) أكار السابرويد دكستروز**	
5	**Sabouraud Dextrose Broth (SDB) مرق السابرويد دكستروز**	
6	**Macconkey Agar أكار الماكونكي**	(U.S.A) Difco
7	**Blood Base Agar أكار الدم الاساس**	
8	**Mannitol Salt Agar أكار المانيتول الملحي**	

استعملت الأوساط الزرعية لإجراء التجارب حيث تم تحضير المزارع الجرثومية باتباع الخطوات التالية:

1- وزن مسحوق الوسط الجاهز الجاف وحسب التعليمات المثبته على علبه الوسط .

2- اذيبت في حجم الماء المقطر المحدد في التعليمات، وغالباً ما يكون لتر وتتم الاذابة اما بالتحريك او قد يحتاج الى التسخين.

3- وزع المحلول (الوسط) في انابيب اختبار وغطيت .

4- وضعت الانابيب أو القارورة (اذا كان الوسط صلباً) في جهاز التعقيم بالبخار لمدة 15دقيقة تحت ضغط 15باوند / انش، ودرجة الحرارة 121م لهدف التعقيم.

5- اخرجت من الجهاز وانتظار حتى تبرد قليلا وتصب في اطباق معقمه من اطباق بتري في جو خال من تيار هوائي على طاولة نظيفة ومعقمة ومحاطة بلهب

بنسون مشتعل، وتبقى الاطباق مفتوحة حتى لا يتكثف البخار على غطاء الطبق بعد التجميد تحفظ في الثلاجة اذا كان الوسط سائلا فلا داعي للصب وتخرج الانابيب من جهاز التعقيم، وينتظر حتى تبرد ثم تحفظ في الثلاجة لحين الاستخدام .

4- تم تحضير محلول المخزون (STOCK) لكل مستخلص وذلك من خلال اذابة 2 غم بـ 5 مل من DMSO المناسب، ثم يكمل الحجم حتى يصل إلى 10 مل أي ما يعادل 200 ملغم / مل ويتم عمل سلسلة تخافيف نصفية .

5- تم استعمال طريقة نشر الأكار بشكل جيد في اطباق متوسطة الحجم لتحديد النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية [25] وتم تلقيح كل 100 مل من الوسط الزرعي بـ 1 مل من لقاح البكتريا بعمر 24 ساعة ولقاح الفطريات بعمر 72 ساعة (يحتوي على 1.5×10^{8} خلية / مل) . بعد التجانس التام تم سكبه في أطباق بتري. ثم بعد ذلك تم عمل حفر باستعمال (Cork borer) الثاقب الفليني المعقم (5 ملم)، ثم أدخلت المستخلصات في الحفر حيث أضيف 0.2 مل من تراكيز المستخلصات المذكورة آنفا لكل حفرة على انفراد بوساطة ماصة دقيقة Micropipette وبالتسلسل وعملت حفرة السيطرة، استعمال DMSO كعنصر تحكم وتم حضن الأطباق لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية للبكتريا وبدرجة 28 درجة مئوية ولمدة 72 ساعة للفطريات. أجريت التجربة بثلاث مكررات وتم تحديد نشاط المستخلصات النباتية بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibition حول كل حفرة بالمليمتر.

تنشيط وتنقية العزلات: تم تنشيط العزلات البكتيرية في اطباق اختبار تحتوي على 5 مل من مرق المغذيات ومرق سابرويد دكستروز لـ *C. albicans* ، ثم حضنت لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية للبكتريا ودرجة 27 درجة مئوية للفطريات وتم استخدام أكار المغذيات لحفظ العزلات البكتيرية وأكار سابرويد (sa-bauraud) المستخدم لحفظ *C. albicans* .

تحضير المستخلصات النباتية :

1- تحضير المستخلص الكحولي البارد: تم وضع (20) غم من مسحوق النبات في دورق سعة 500 مل وأضيف له كحول الايثانول بتركيز (80٪) وبحجم (200- 300) مل وحضنت في حاضنة هزازة لمدة (24) ساعة، بعدها أخذ ورشح المستخلص بورق ترشيح نوع (Whatman No.1)، ثم جفف في اطباق في الحاضنة بدرجة حرارة (37)مْ ولمدة (48) ساعة لغرض تجفيفه، وخزن في الثلاجة لحين الاستعمال [26].

2- تحضير المستخلص الكحولي الحار : اتبعت طريقة Hadi[27] في تحضير المستخلصات الكحولية لنبات *E. alba* وكالآتي :يتم تحضير المستخلص الكحولي الحار المستخدم في الدراسة وذلك بوزن (20) غم من مسحوق نبات *E. alba* في كأس مصنوع من السليلوز (Thimble) مغلق الجانبين وأضيف له كحول الايثانول وبتركيز (80٪) وبحجم (200-300) مل وترك النموذج في الكحول لمدة (24) ساعة، بعد ذلك أجريت عملية الاستخلاص في جهاز الاستخلاص لمدة (5-4) ساعات إلى حين الحصول على راشح عديم اللون ودرجة حرارة (60-50)م°[28] ثم أخذ المستخلص ورشح بورق ترشيح نوع (Whatman No.1)، ثم جفف الراشح المتبقي في الحاضنة بدرجة حرارة (37)مْ ولمدة (48) ساعة للحصول على المسحوق الجاف، وتم خزنه في الثلاجة لحين الاستعمال .

3- تحضير مستخلص الكلوروفورم : أتبعت خطوات

تحضير المستخلص الكحولي نفسها الواردة في الفقرة السابقة عدا استعمال الكلوروفورم بديلاً عن الكحول الأثيلي [29] .

تحضير التراكيز

Preparation of concentrations

تم تحضير المحاليل بخلط 2 غم من المستخلص المجفف مع 20 مل من DMSO، ثم تم تعقيمها باستعمال مرشح غشاء Millipore . ثم عن طريق احضار اربع انابيب اختبار وعمل التخافيف منها تم تحضير التراكيز (25 ، 50 ، 100 ، 200) ملغم / مل .

المواد المستعملة في اختبار حساسية المضادات الحياتية: أنبوبة ماكفرلاند يتكون من :

1- كلوريد الباريوم BaCl2 2H2O (BDH)

2- حامض الكبرتيك المركز H2SO4 (BDH)

أقراص المضادات الحياتية وتراكيزها المستعملة في اختبار الحساسية

أقراص المضادات الحياتية	التركيز (ml)	الشركة المنتجة
Amikacin (AK)	30	Oxoid
Amoxycillin (AMX)	30	Oxoid
Cephalexin (KF)	30	Oxoid
Ciprofloxacin (CF)	5	Oxoid
Gentamicin (GM)	10	الرازي
Nalidixic acid (NA)	30	Oxoid
Nitrofurantin (FT)	300	الرازي
Novobiocin (NV)	5	Oxoid
Tetracycline (TE)	30	Oxoid
Trimethoprim (SXT)	30	Oxoid

الكشف الكيميائي عن المكونات الفعالة في المستخلصات النباتية

1- **الكشف عن الكلايكوسيدات:** تمت إضافة بعض قطرات HCL إلى مستخلص النبات وخلطها جيدًا، ثم توضع في حمام مائي لمدة دقيقتين. ثم تمت إضافة 2 مل من كاشف بنديكت ووضعها في حمام مائي لمدة 5 دقائق، ويشير ظهور الراسب الأحمر إلى نتيجة إيجابية [30].

2- **الكشف عن القلويدات:** تم تحضير محلول الكشف وفقًا لـ Harborne[31] عن طريق وضع 3 مل من مستخلص النبات في أنبوب اختبار ، ثم إضافة أحدى هذه الكواشف:

أ- كاشف ماير: الراسب الأبيض يشير إلى وجود قلويدات.

ب- كاشف دراجندروف: الراسب البرتقالي يشير إلى وجود قلويدات.

ج- كاشف ماركيز: تشير البقع الصفراء الإرجوانية إلى وجود قلويدات.

3- **الكشف عن التانينات :** يضاف 10 غم من مسحوق النبات إلى 50 مل ماء مقطر ثم يسخن حتى الغليان ثم يبرد، يرشح الخليط ثم يقسم إلى حجمين متساويين، مع إضافة بضع قطرات من 1٪ أسيتات الرصاص إلى الحجم الأول ويمثل ظهور الراسب الجيلاتيني الأبيض مؤشرًا جيداً لوجود التانينات. اما

فيما يخص الحجم الثاني تم سكب محلول 1٪ كلوريد الحديديك (FeCl3) الذي يتسبب بظهور اللون الازرق والاخضر [32].

4- **الكشف عن الصابونيات** : تم هذا الكشف وفقا Shihata[32] على النحو الآتي:

أ- ظهور الرغوة لفترة طويلة نتيجة تقليب المحلول المائي للنبات في أنبوب اختبار يدل على وجود الصابونين.

ب- إضافة 3-1 مل من كلوريد الزئبق إلى 5 مل من المستخلص النباتي ، حتى ظهور الراسب الأبيض الذي يمثل مؤشراً جيداً على وجود مادة الصابونين.

5- **الكشف عن الراتنجات** : تمت إضافة كمية مقدارها 50 مل من (95٪) الكحول الاثيلي إلى 5 غم من مسحوق مستخلص نباتي ووضعها في حمام مائي وغليها لمدة دقيقتين بعد تبريد الخليط المفلتر تمت إضافة 10 مل من الماء المقطر المحتوي على 4٪ HCL إلى الماء والمحلول المفلتر يشير ظهور العكارة بعد ذلك إلى وجود الراتنجات [32]

6- **الكشف عن الكومارينات** : تمت إضافة كمية من 2-1 مل من المستخلص الكحولي في أنبوب اختبار وتغطيتها بورق ترشيح (بعد معاملتها بمحلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH) ووضعها في حمام مائي وتسخينها حتى الغليان وبعد ذلك تعرض ورق الترشيح للأشعة فوق البنفسجية حيث يشير اللون الأخضر المشرق إلى وجود الكومارين [33].

7- **الكشف عن الفلافونيدات** : تم تحضير هذا الكشف وفقاً لـ Jaffer [34]، حضر محلول (أ) بإذابة 10 غم من مسحوق النبات في 10 مل من (95٪) إيثانول وترشيحها. تم تحضير المحلول(ب) بإضافة 10 مل من (50٪) إيثانول إلى 10 مل من (50٪) هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH)، وتم خلط حجمين متساويين من المحلول (أ) والمحلول (ب) حتى ظهور اللون الأصفر الذي يشير إلى وجود مركبات الفلافون.

8- **الكشف عن الفينولات** : يضاف مسحوق النبات 10 غم إلى 50 مل من الماء المقطر ثم يسخن حتى الغليان ويُترك المحلول ليبرد ويرشح ثم يضاف 1٪ من كلوريد الحديد (FeCl3) إلى المحلول المرشح وتشير مظاهر اللون الأزرق والأخضر إلى وجود المركبات الفينولية [31].

9- **الكشف عن التربينات والستيرويدات** : وقد أجري هذا الكشف بحسب Al-Bid[35] على النحو التالي:

تمت إذابة كمية 1 غم من المستخلص النباتي المجفف في 2-1 مل من الكلوروفورم وأضيفت قطرة واحدة من أنهيدريد الخل ثم أضيفت قطرة واحدة من حمض الكبريتيك المركز (H2SO4)، يمثل ظهور اللون البني وجود التربين، ويشير ظهور اللون الأزرق والأخضر لوجود الستيرويدات .

10- **الكشف عن الزيوت الطيارة** : تم إجراء هذا الكشف وفقًا لـ Indian Herbal Pharmacopeia[36] عن طريق تصفية 10 مل من مستخلص النبات بورق الترشيح وبعد ذلك تعرض ورق الترشيح إلى الأشعة فوق البنفسجية ويشير ظهور اللون الوردي إلى وجود الزيوت الطيارة.

قياس درجة الحموضة (pH) في النبات

تم استعمال طريقة Shihata[32] لقياس الأس الهيدروجيني عن طريق خلط 10 جم من مسحوق النبات مع 50 مل من الماء المقطر لمدة 10 دقائق بعد ذلك يرشح الخليط ويقاس الأس الهيدروجيني باستعمال مقياس الأس الهيدروجيني .

استعمال تقنية الكروماتوغرافيا الغازية (GC-Ms) مطياف الكتلة للكشف عن المركبات الفعالة في نبات

E. alba :

تم استعمال تقنية (GC-Mass) الموجود في وزارة العلوم والتكنلوجيا للكشف عن المركبات الفعالة الموجودة في المستخلص الايثانولي الحار والبارد ومستخلص الكلوروفورم للنبات باتباع نظام حراري خاص .

التحليل الاحصائي

أجريت التجارب وحللت من الناحية العاملية بثلاث مكررات باستعمال تصميم عشوائي بالكامل، مع حساب الخطأ المعياري، وتمت مقارنة القيم المتوسطة باستعمال اختبارات المدى المتعددة لدنكن باحتمال 5٪ $P \leq 0.05$ [37].

النتائج والمناقشة

تأثير المضادات الحيوية على البكتريا قيد الدراسة:

اظهرت نتائج مقاومة بعض الأحياء المجهرية قيد الدراسة لبعض الحيوية وسبب هذه المقاومة يرجع الى الاستخدام المفرط والعشوائي للمضادات الحيوية، فضلا عن تطور المقاومة التي تملكها بعض الاحياء المجهرية [38].

الكشف عن العلاقة بين البكتريا والمضاد الحيوي بجهاز الفايتك2

نوع البكتريا / نوع المضاد	*Klebsiella oxytoca*	*Staphylococcus aureus*	*Staphylococcus epidermis*	*Escherichia coli*
Amikacin	+	+	+	–
Amoxicillin	–	+	–	–
Cephalexin	+	+	+	+
Ciprofloxacin	+	+	+	+
Gentamicin	+	+	+	+
Nalidixic acid	+	+	+	+
Nitrofurantoin	+	+	+	+
Novobiocin	+	+	+	+
Tetracycline	–	–	–	–
Trimethoprim	–	–	+	+
مجموع مقاومة المضاد	3	2	2	3
النسبة المئوية للمقاومة	30٪	20٪	20٪	30٪

• حيث (+) حساسة للمضاد و (–) مقاومة للمضاد

الجدول السابق يبين نتائج فحص قابلية المقاومة والحساسية للمضادات الحيوية على البكتريا المستعملة في هذه الدراسة باستعمال مضادات حيوية لكل من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام باستعمال تقنية جهاز الفايتك2، وبحسب مجموع مقاومة كل بكتريا لعدد من المضادات الحيوية والنسبة المئوية للمقاومة تبين أنَّ بكتريا *K. oxytoca* وبكتريا *E. coli* اظهرتا على نسبة مئوية للمقاومة بلغت 30٪ و ان بكتريا K. oxytoca كانت مقاومة لمضادات Amoxicillin , Tet-racycline, Trimethoprim اما بكتريا *E. coli* فكانت مقاومة لمضادات Amikacin, Amoxicillin , Tetra-cycline , في حين سجلت بكتريا *S. aureus* مقاومة لمضادات Tetracycline, Trimethoprim , وسجلت بكتريا *S. epidermis* مقاومة لمضادات Amoxicillin

Tetracycline ., يتبين من نتائج الفحص باستعمال جهاز الفايتك2 على انواع البكتريا المدروسة ان البكتريا جميعها كانت حساسة لمضادات Cipro- , Cephalexin floxacin , Gentamicin , Nalidixic acid , Nitro- , furantoin , Novobiocin . وان البكتريا جميعها كانت مقاومة لمضاد Tetracycline وتأتي هذه المقاومة من خلال آليات وطرق معينة هي .

1. تثبيط أو تغيير المضادّ الحيويّ: مثل التّثبيط الإنزيمي للبنسلين Penicillin G عند بعض البكتيريا المقاومة للبنسلين عن طريق تصنيع انزيم بيتا لكتاميز ß-lactamases.
2. تغيير موقع الهدف (موقع فعالية المضاد الحيوي): مثل تغيير الـ PBP - موقع فعاليّة البنسلين- عند نوع من البكتيريا يدعى العنقوديات الذهبية المقاومة للمثسلين MRSA، كذلك عند بكتيريا أخرى مقاومة للبنسلين.
3. تغيير الطريق الأيضي: بارا أمينو بنزويك أسيد PABA هو عامل مهم لصنع حمض الفوليك والأحماض النووية لدى البكتيريا، يمكن تثبيط هذا العامل عن طريق السلفوناميد. غير أن بعض البكتيريا المقاومة للسلفوناميد تستغني عن هذا العامل الأساسي عن طريق استعمال حمض الفوليك الجاهز (بأخذه مباشرة من محيطها مثلا)، مثل الخلايا الحيوانية.
4. التقليل من تراكم المضاد الحيوي: عن طريق التقليل من نفاذية المضاد الحيوي إلى داخل الخلية أو تسريع التدفق النّشط (الضخ إلى المحيط) للأدوية عبر الغشاء الخلوي البكتيري .

هذه الاربع اليات المهمة لفعالية المضادات الحيوية على الاحياء المجهرية يمكن تصنيفها كالآتي: تثبيط تكوين الجدار الخلوي الميكروبي، وتثبيط التصنيع الحيوي لبعض البروتينات الاساسية، وايقاف العمليات الايضية للحامض النووي (DNA)، وتغيير الوظائف الطبيعية للغشاء الخلوي[39].

تأثير مستخلصات اوراق نبات *E. alba* على نمو بعض الاحياء المجهرية المرضية :

تم استعمال طريقة انتشار الأكار بشكل جيد لتقدير التأثير المضاد للبكتيريا للمستخلصات الخام للأوراق لجودتها وسهولة إجرائها ووضوح نتائجها تم تسجيل النتائج بعد 24 ساعة للبكتريا و72 ساعة للفطريات عن طريق قياس قطر مناطق التثبيط (Inhi-bition Zones). افاد Kella و Kufeji[40] أن المضادات الحيوية ليست العوامل الوحيدة المضادة للميكروبات، ويتضح من التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية $P < 0.05$ بين متوسطات قيم أقطار التثبيط لتراكيز مستخلصات الكحول الأثيلي البارد والحار ومستخلصات الكلوروفورم وأظهر مستخلص النبات الايثانولي درجة من التثبيط في جميع الكائنات الحية الدقيقة المختبرة، وقد يرجع ذلك إلى احتواء المستخلصات الإيثانولية على القلويدات والفينولات والفلافونيدات والصابونين التي لها تأثير كبير وجيد كعوامل مضادة للميكروبات[41]. وتبين النتائج ان تأثير مستخلصات نبات *E. alba* باستعمال المستخلص الايثانولي البارد والحار اكثر فعالية من مستخلص الكلوروفورم في الأحياء المجهرية قيد الدراسة ، إذ أظهرت النتائج اختلافا في معدلات أقطار مناطق التثبيط التي لها علاقة مباشرة بحساسية كل نوع من البكتريا والفطريات، ونوع المذيب المستعمل الذي له أهمية في نوعية وكمية مركبات الأيض الثانوي الفعالة الموجودة في النبات. وقد تبين أنَّ المستخلص الكحولي البارد عند تركيز 200ملغم/ مل كان الاكثر كفاءة ثم يليه المستخلص الكحولي الحار بنفس التركيز ثم مستخلص الكلوروفورم، ويرجع السبب إلى أنَّ المستخلص الكحولي البارد اكثر كفاءة لأنه لا يؤثر على المواد الفعالة جميعها بل يؤثر على بعضها ويترك بعضها

الاخر وبذلك يكون تركيزها اكبر واوضح على الاحياء المجهرية قياساً بالمستخلص الكحولي الحار الذي يؤثر نتيجة الحرارة على المواد الفاعلة جميعها . وتبين كذلك وجود مقاومة عالية من قبل الفطريات والخمائر للمستخلصات النباتية تعود هذه المقاومة الى إفراز انزيمات تفكك وتغير تركيب فعالية المركبات الموجودة في المستخلص. كما تبين أن لطبيعة الاستخلاص وفترة الجمع والتوزيع الجغرافي للنبات له دور في تحرير مركبات الأيض الثانوي الفعالة الموجودة في النبات التي توثر في الاحياء المجهرية الدقيقة [42 و 43] .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ان لبكتريا *S. aureus* وبتركيز 200ملغم/ مل كان معدل التثبيط للمستخلصات البارد والحار والكلوروفورم هو 20.10، و14.27، و11.77 ملم على التتابع، اما في تركيز100ملغم/ مل كان معدل التثبيط هو 18.73، و12.57، و10.70 ملم على التتابع، وفي تركيز 50ملغم/ مل كان معدل التثبيط هو 17.70، و12.23، و11.00 ملم على التتابع، وبتركيز25ملغم/ مل كان معدل التثبيط 16.63، و11.9، و11.17 ملم على التتابع.

بالنسبة لبكتريا *S. epidermis* وبتركيز 200 ملغم/ مل كان معدل التثبيط للمستخلصات البارد والحار والكلوروفورم هو 21.70، و21.30، و11.50 ملم على التتابع اما في تركيز 100ملغم/ مل كان معدل التثبيط هو 19.27، و17.50، و11.17 ملم على التتابع، وفي تركيز 50ملغم/ مل كان معدل التثبيط 18.10، و17.00، و10.53 ملم على التتابع، وبتركيز 25ملغم/ مل كان معدل التثبيط 16.57، و15.30، و10.40 ملم على التتابع.

في بكتريا E. coli كان معدل التثبيط للمستخلصات البارد والحار والكلوروفورم وبتركيز200ملغم/ مل 17.67، و16.67، و15.83 ملم على التتابع، اما في تركيز 100ملغم/ مل كان معدل التثبيط 14.53، و14.83، و14.33 ملم على التتابع، وفي تركيز 50ملغم/ مل كان معدل التثبيط 13.53 ، و14.57، و 13.50 ملم على التتابع، وبتركيز 25 ملغم/ مل كان معدل التثبيط 13.17 ، و 14.17 ، و 12.83 ملم على التتابع.

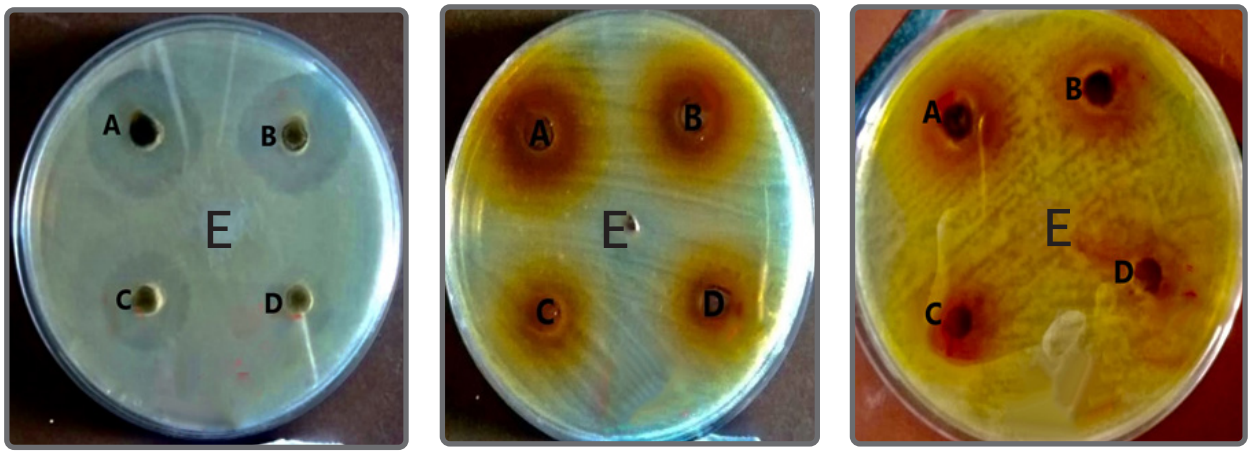
في بكتريا *K. oxytoca* كان معدل التثبيط للمستخلصات البارد والحار والكلوروفورم وبتركيز 200 ملغم/ مل 17.67، و16.80، و16.80 ملم على التتابع، اما في تركيز 100ملغم/ مل كان معدل التثبيط 15.83، و15.83، و15.83 ملم على التتابع، وفي تركيز 50ملغم/ مل كان معدل التثبيط 14.33، و15.17، و15.17 ملم على التتابع، وبتركيز 25ملغم/ مل كان معدل التثبيط 13.83، و 14.50، و14.50 ملم على التتابع.

إن مستخلصات النبات أثرت في البكتريا الموجبة لصبغة كرام أكثر من تأثيرها في البكتريا السالبة لصبغة كرام ، ويعود ذلك إلى أن البكتريا السالبة لصبغة كرام أقل تحسساً للمركبات الفعالة من البكتريا الموجبة لصبغة كرام كونها تحتوي على جدار خلية متكوُن من عدة طبقات وهذا يجعلها اقل عرضة لاختراق المواد الفعالة لجدار الخلية [44و45]

في خميرة *C. albicans* كان معدل التثبيط للمستخلصات البارد والحار والكلوروفورم وبتركيز 200 ملغم/ مل 18.80، و20.37، و15.70 ملم على التتابع، اما في تركيز 100ملغم/ مل كان معدل التثبيط 14.60، و17.83، و13.60 ملم على التتابع، وفي تركيز 50 ملغم/ مل كان معدل التثبيط 13.67، و14.33، و13.33 ملم على التتابع، وبتركيز 25 ملغم/ مل كان معدل التثبيط 10.83، و13.50، و12.33 ملم على التتابع.

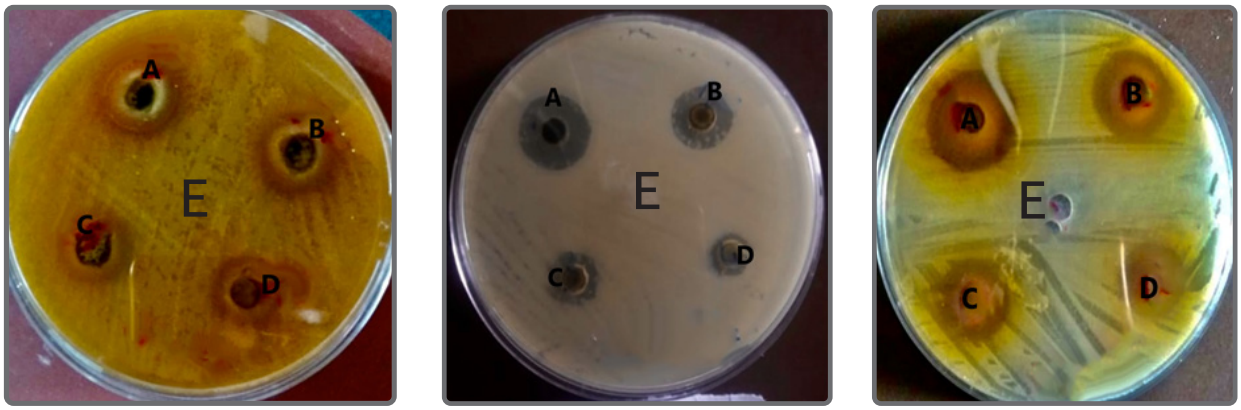
في فطر *A. niger* كان معدل التثبيط للمستخلصات البارد والحار والكلوروفورم وبتركيز 200 ملغم/مل 15.43، و12.27، وصفر ملم على التتابع، اما في تركيز 100ملغم/مل كان معدل التثبيط 14.00، و11.23، و صفر ملم على التتابع، وفي تركيز 50ملغم/مل كان معدل التثبيط 11.50، و11.00، وصفر ملم على التتابع، وبتركيز 25 ملغم/مل كان معدل التثبيط 11.17، و11.00، و صفر ملم على التتابع.

في فطر *P. digitatum* كان معدل التثبيط للمستخلصات البارد والحار والكلوروفورم وبتركيز 200 ملغم/مل 16.00، و13.90، وصفر ملم على التتابع، اما في تركيز 100ملغم/مل كان معدل التثبيط 15.37، و12.43، وصفر ملم على التتابع، وفي تركيز 50ملغم/مل كان معدل التثبيط 14.23، و11.20، وصفر ملم على التتابع، وبتركيز 25ملغم/مل كان معدل التثبيط 12.43، و11.00، وصفر ملم على التتابع، كما يتضح ذلك في الاشكال التالية .



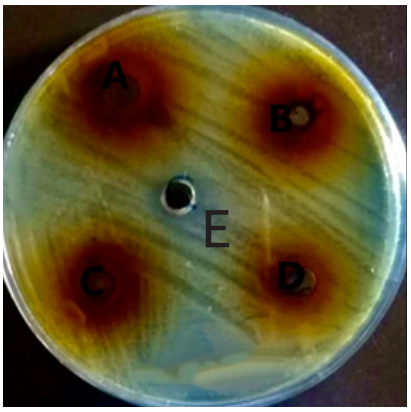
ج – مستخلص كحولي بارد | أ – مستخلص كحولي حار. | ب – مستخلص كلوروفورم .

شكل يوضح تأثير المستخلصات النباتية على بكتريا *Klebsiella oxytoca* حيث: A يمثل تركيز المستخلص 200 ملغم/مل. B تركيز100ملغم/مل، C تركيز 50 ملغم/مل . D تركيز 25ملغم/مل . E السيطرة .

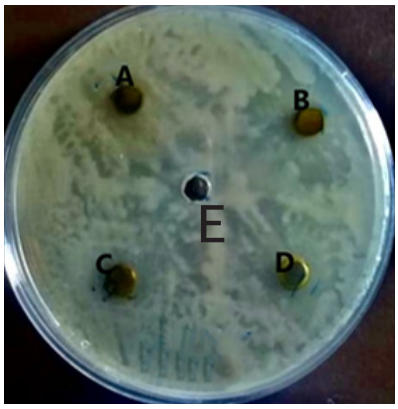


أ . مستخلص كحولي حار | ب . مستخلص كلوروفورم | ج . مستخلص كحولي بارد

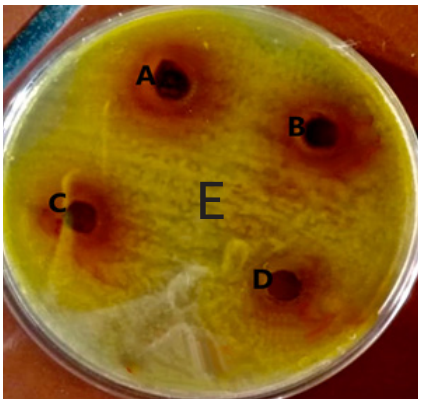
شكل يوضح تأثير المستخلصات النباتية على بكتريا *Staphylococcus epidermis* ، حيث : A يمثل تركيز المستخلص 200 ملغم/مل ، B تركيز100ملغم/مل . C تركيز 50 ملغم/مل ، D تركيز 25 ملغم/مل ، E السيطرة



أ . مستخلص كحولي حار

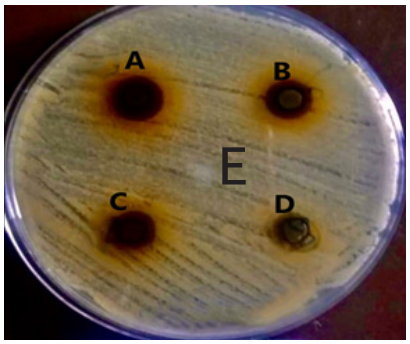


ب . مستخلص كلوروفورم

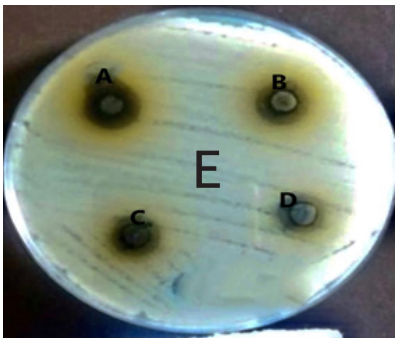


ج . مستخلص كحولي بارد

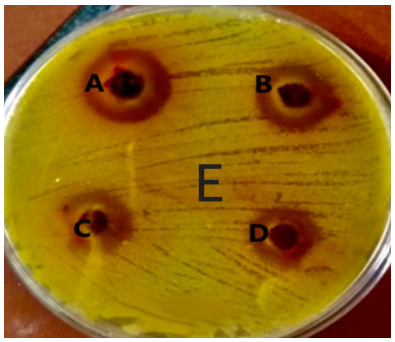
شكل يوضح تأثير المستخلصات النباتية على بكتريا Escherichia coli ، حيث : A يمثل تركيز المستخلص 200 ملغم/ مل ، B تركيز 100 ملغم/ مل ، C تركيز 50 ملغم/ مل، D تركيز 25 ملغم/ مل ، E السيطرة .



أ ـــ مستخلص كحولي حار

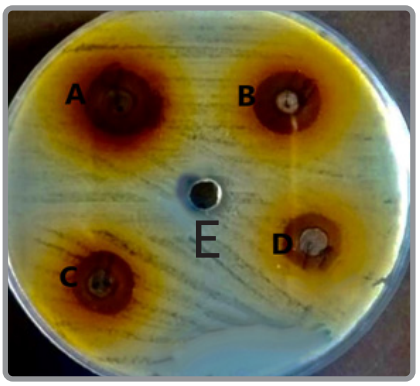


ب ـــ مستخلص كلوروفورم

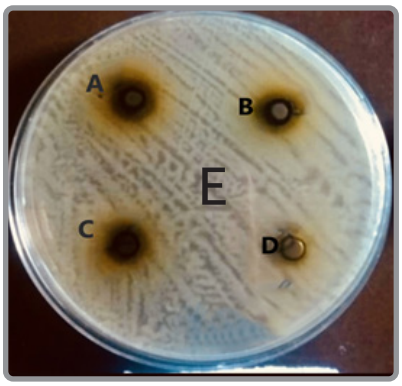


ج ـــ مستخلص كحولي بارد

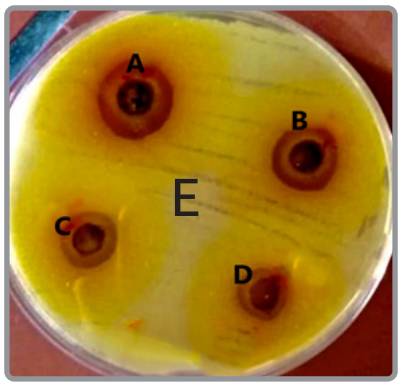
شكل يوضح تأثير المستخلصات النباتية على بكتريا *Staphylococcus aureus* ، حيث : A يمثل تركيز المستخلص 200 ملغم/ مل ، B تركيز 100 ملغم/ مل ، C تركيز 50 ملغم/ مل ، D تركيز 25 ملغم/ مل ، E السيطرة .



أ . مستخلص كحولي حار

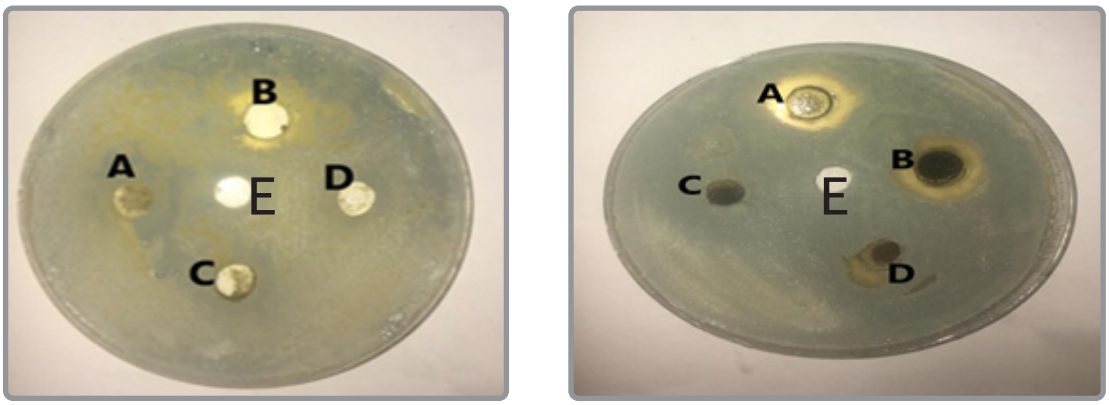


ب . مستخلص كلوروفورم

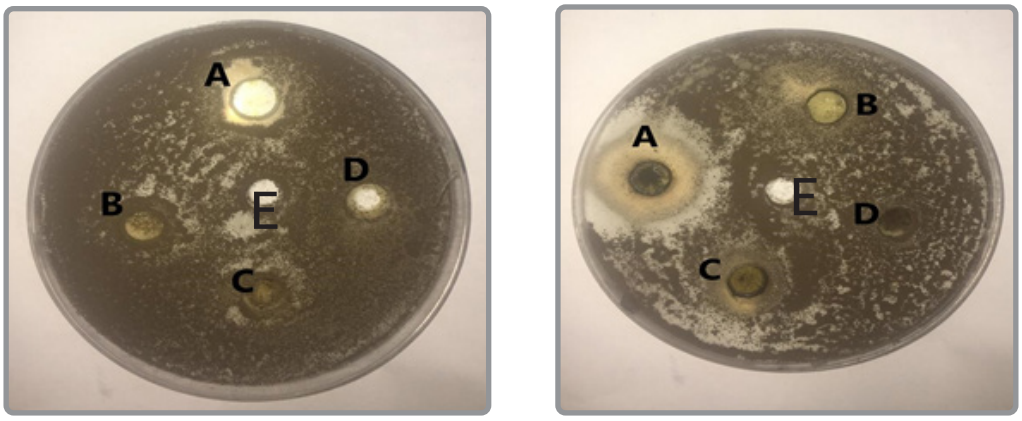


ج . مستخلص كحولي بارد

شكل يوضح تأثير المستخلصات النباتية على خميرة *Candida albicans* ، حيث: A يمثل تركيز المستخلص 200 ملغم/ مل. B تركيز 100 ملغم/ مل ، C تركيز 50 ملغم/ مل .
D تركيز 52ملغم/ مل . E السيطرة .



شكل يوضح تأثير المستخلصات النباتية على *Penicillium digitatum*، حيث: A يمثل تركيز المستخلص 200 ملغم/ مل.
B تركيز 100 ملغم/ مل. C تركيز 50 ملغم/ مل . D تركيز 25 ملغم/ مل . E السيطرة .



شكل يوضح تأثير المستخلصات النباتية على *Aspergillus niger* ، حيث: A يمثل تركيز المستخلص 200 ملغم/ مل.
B تركيز100ملغم/ مل . C تركيز 50ملغم/ مل. D تركيز 25ملغم/ مل . E السيطرة .

المقارنة بين مستخلصات *E. alba* للأحياء المجهرية حيث يتبين الاكثر والاقل كفاءة :

يتبين اختلاف تأثير المستخلصات النباتية (الايثانول والكلوروفورم) ذات التراكيز المختلفة على الأحياء المجهرية حيث نلاحظ عند المقارنة بين المستخلصات تأثير التراكيز المختلفة في بكتريا *K. oxytoca* إذ في التركيز 200 وتركيز 100 كان المستخلص الايثانولي البارد اكثر فعالية ثم يليه المستخلص الايثانولي الحار ثم الكلوروفورم اما في تركيز 50 وتركيز 25 نلاحظ ان المستخلص الايثانولي الحار اصبح اكثر فعالية ثم يليه المستخلص الايثانولي البارد ثم الكلوروفروم في التاثير على هذه البكتريا. اما تأثير المستخلصات النباتية في بكتريا *S. epidermis* فان المستخلص الايثانولي البارد هو الاكثر كفاءة في جميع التراكيز ثم يليه المستخلص الايثانولي الحار ثم مستخلص الكلوروفورم في التأثير على هذه البكتريا وهذا نلاحظه كذلك في بكتريا *S. aureus* ، أما تأثير المستخلصات النباتية في بكتريا *E. coli* فان المستخلص الايثانولي البارد الأكثر كفاءة في تركيز 200 وتركيز 100 ثم يليه المستخلص الايثانولي الحار ثم مستخلص الكلوروفورم اما في تركيز 50 وتركيز 25 فان المستخلص الايثانولي الحار الاكثر كفاءة ثم يليه المستخلص الايثانولي البارد ثم مستخلص الكلوروفورم في التأثير على هذه البكتريا. اما تأثير المستخلصات النباتية المختلفة في خميرة *C. albicans*

فان المستخلص الكحولي الحار هو الاكثر كفاءة وبجميع التراكيز ثم يليه المستخلص الكحولي البارد ثم الكلوروفروم في هذه الخميرة .اما تأثير المستخلصات النباتية في فطري *P.digitatum* و *A. niger* فكانت النتيجة متشابهة وبجميع التراكيز حيث كان المستخلص الايثانولي البارد الاكثر كفاءة ثم يليه المستخلص الايثانولي الحار وكان لمستخلص الكلوروفورم تأثير قليل وبجميع التراكيز . وفقاً للنتائج التي ذكرت نستطيع أستنتاج ان المستخلص الايثانولي البارد هو الاكثر كفاءة لجميع الاحياء المجهرية قيد الدراسة ثم يليه المستخلص الكحولي الحار ثم مستخلص الكلوروفورم باستثناء خميرة *C. albicans* حيث كان المستخلص الايثانولي الحار الاكثر كفاءة ثم يليه المستخلص الايثانولي البارد ثم المستخلص الكلوروفورم . وبهذا قد وضحت النتائج أنَّ المستخلص الايثانولي البارد هو الاكثر كفاءة بتركيز 200ملغم/ مل حيث بلغ قياس قطر منطقة التثبيط (21.70) ملم في بكتريا *S. epidermis* اما خميرة *C. albicans* فقد اظهرت اعلى مقاومة لهذا المستخلص اذ بلغ قياس قطر منطقة التثبيط (10.83) ملم بتركيز 25 ملغم/ مل . اما بالنسبة للمستخلص الايثانولي الحار فكان اعلى قياس قطر لمنطقة التثبيط هو في بكتريا *S. epidermis* اذ بلغ (21.30) ملم بتركيز 200 ملغم/ مل وكان فطري *A. niger* و *P. digitatum* الاعلى مقاومة لهذا المستخلص اذ بلغ قياس قطر منطقة التثبيط (11) ملم بتركيز (25) ملغم/ مل، اما في مستخلص الكلوروفورم فكان اعلى قياس قطر لمنطقة التثبيط هو في بكتريا *K. oxytoca* اذ بلغ (16.80) ملم بتركيز 200 ملغم/ مل، وكان لمستخلص الكلوروفورم تأثير مثبط قليل على الفطريات حيث كانت الاعلى مقاومة لهذا المستخلص .

الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في مستخلصات أوراق نبات *E. alba*

وجد عن طريق الكشف الكيميائي للمكونات الفعالة لأوراق نبات *E. alba* انه يحوي على الكثير من المكونات مثل القلويدات والكليكوسيدات والصابونيات والزيوت الطيارة وخلوه من بعض المركبات مثل الراتنجات والستيرويدات.

المركب الفعال	الكاشف المستخدم	دليل الكاشف	ايثانول بارد	ايثانول حار	كلوروفورم
الكومارينات	هيدروكسيد الصوديوم ، أشعة فوق بنفسجية	اخضر مشرق	+	+	+
الفلافونيدات	هيدروكسيد البوتاسيوم ، خلات الأثيل	اصفر	+	+	+
الفينولات	كلوريد الحديديك	ازرق مخضر	+	+	+
الزيوت الطيارة	الأشعة فوق البنفسجية	وردي	+	+	+
التانينات	خلات الرصاص ، كلوريد الحديديك	راسب أبيض	+	+	+
الصابونيات	كلوريد الزئبق	راسب أبيض	+	+	+
الكلايكوسيدات	كاشف بندكت Hcl	راسب أحمر	+	+	+
القلويدات	كاشف دراغيندروف	أحمر برتقالي	+	+	+
الراتنجات	HCL 4٪	ظهور عكورة	–	–	–
الستيرويدات	انهدريد الخل ، حامض الكبريتيك	أزرق مخضر	–	–	–
التربينات	الكلوروفورم ، حامض الكبريتيك	بني محمر	+	+	+

- (+) وجود المركب (–) عدم وجود المركب

الاس الهيدروجيني (PH) لأوراق لنبات *E. alba*:

بلغت قيمة الـ PH لأوراق النبات حوالي 6 (حامضي)، ولكن هذه النتيجة لم تكن متطابقة مع تلك النتيجة التي أبلغ عنها Meena [46] التي كانت 6.9 وقد يكون هذا الاختلاف بسبب طبيعة كل جزء من النبات وما يحتويه من مكونات كيميائية فعالة التي من الممكن أن يكون لها دور في تحديد قيمة الـ (pH) التي تم الحصول عليها للأجزاء الهوائية. وكذلك انعكاس تركيبات التربة المحلية التي أدت إلى هذا الاختلاف، يلعب دوراً مهماً في تحديد درجة الحموضة .

الاستنتاجات

1- احتواء نبات *Eclipta alba* على مجاميع فعالة هي القلويدات والكليكوسيدات والصابونيات والزيوت الطيارة والكومارينات والفلايفونيدات والفينولات والتانينات، وخلوه من بعض المركبات مثل الراتنجات والستروييدات حسب ما أظهرت طرق الكشف المتنوعة والمتبعة في الدراسة البحثية .

2- باستعمال تقنية GC-Mass تم الكشف عن العديد من المركبات الكيميائية ذات الفاعلية ضد الميكروبية مما يمكنها لان تستخدم طبياً أو في المجالات المختلفة الاخرى .

3- كانت البكتريا الموجبة لصبغة كرام الأكثر تأثراً من البكتريا السالبة لصبغة كرام في التراكيز العالية للمستخلص الايثانولي البارد الذي هو المستخلص الاكثر كفاءة في التأثير .

4- المستخلص الايثانولي البارد هو الأكثر كفاءة في التأثير على أغلب الأحياء المجهرية قيد الدراسة .

5- خميرة *Candida albicans* الأكثر حساسية للمستخلص الايثانولي الحار .

6- تأثير المستخلصات النباتية على فطري *Penicilli-um digitatum* و *Aspergillus niger* متشابه وبجميع التراكيز حيث كان المستخلص الايثانولي البارد الأكثر كفاءة ثم يليه المستخلص الايثانولي الحار أما مستخلص الكلوروفورم فقد كانت كفاءة تثبيطه قليلة مقارنة بهما.

التوصيات

1- تنقية المكونات الفعالة للأجزاء النباتية الهوائية لنبات *E. alba* ودراسة فعاليتها على الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض من طفيليات وفايروسات.

2- دراسة تأثير المستخلصات النباتية لنبات *E. alba* على نمو الحشائش والطحالب وكذلك دراسة تأثيره على الآفات كمبيد حيوي .

3- تحديد أجزاء النبات الأخرى (الجذور والسيقان) ودراسة تأثيرها على نمو الكائنات الحية .

4- إجراء دراسة لمعرفة امكانية استخدام المستخلصات النباتية للنبات ضد الممرضات داخل الجسم الحي .

5- عزل وتشخيص نباتات أخرى من بيئات مختلفة ومعرفة تأثيرها على الاحياء المجهرية المختلفة .

المصادر

المصادر العربية :

(1) عقيل، محسن (2006) . صيدلية المنزل . مؤسسة دار المجتبى للمطبوعات ، الطبعة الأولى .

(4) شمس الدين، احمد. (2000). التداوي بالأعشاب والنباتات قديما وحديثا. دار الكتب العلمية للطباعة والنشر، بيروت – لبنان .

(18) عيسى، أحمد. 1981. معجم أسماء النبات. دار الرائد العربي. بيروت لبنان. ص227.

المصادر الاجنبية :

(2) Tiwari P, Kumar K, Panik R, Pandey A, Pan-

from Baharia Oasis, Egypt 5: 033-041.

(13) Silva, Sofia A. ; Lourenço-Lopes , C. Jimenez-Lopez ;M. Carpena , P. Gullón , M. Fra ga-Corral, V. F. Domingues , M. Fátima Barroso , J. Simal-Gandara and M. A. Prieto.(2020). Review: Antibacterial Use of Macroalgae Compounds against Foodborne Pathogens .MDPI. Antibiotics . 9, 712.

(14) Mansoorali KP, Prakash T, Kotresha D, Prabhu K and Rao RN).2012.(Cerebroprotective effect of *Eclipta alba* against the global model of cerebral ischemia induced oxidative stress in rats. Phytomedicine; 19: 1108-16 .

(15) Gues, E. (1933). Plant and plant products with colloquial names in Iraq. Government press.Baghdad.pp. 111.

(16) Tackholm, V. ; M. Drar and A. A. Abedel Fadeel.)1956(. Students flora of Egypt. Anglo - Egyption book shop, Cairo. 649 PP.

(17) Migahid, A. M.)1978(. Flora of Saudi Arabia. Vol. II. Almuawa press Co. Dammam. 835 - 853.

(19) Prasad KV, Kavita YN, Vidya NS, Sumeet BK, Manohar PJ).2012.(Eclipta alba: A Phytopharmacognostic Study. J .Pharm. Phytopharmacol. Res.; 1 (6): 350-353.

(20) Reddy, M.; Reddy, K. and Reddy, M. A. (1989). Survey of Plant Crude Drugs of Anantapur District, Andhra Pradesh, India, Int. J. Crude Drug Res., 27(3): 14555.

(21) Neeraja PV and Margaret E.(2012).*Eclipta alba* (L.) Hassk: a valuable medicinal herb. International Journal of Current Pharmaceutical Research; 2: 188-97 .

(22) Singh, P. (1988).Naturally occurring thiophene derivatives from *Eclipta* species. Bioact Mol, 7:179-186.

(23) Udayashankar ,A.C.,Nandhini, M ; S. B. Rajini and H. S. Prakash)2019(. PHARMACOLOGICAL SIGNIFICANCE OF MEDICINAL HERB ECLIPTA ALBA L. - A REVIEW ,Interhat ional journal of pharmaceytical sciences and research, Vol 10(8):3592-3606 .

(24) Banji, O., D. Banji, A.R. Annanmalai and R. Manavalan.)2007(. Investigation on the effect of *Eclipta alba* on animal models of learning and memory. Indian J. Physiol.

dey A, Sahu PK.(2011) .Antimicrobial activity evaluation of the root of Carica papaya Linn. Int.J. Pharm Tech Res.; 3 (3):1641-1648.

(3) Cowan , M.M.)1999(.Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. REV., 12(4)564-582.

(5) Sofi, S.A.; Singh, J.; Rafiq, S.; Ashraf, U.; Dar, B.N.; Nayik, G.A. A.(2018). Comprehensive Review on Antimicrobial Packaging and its Use in Food Packaging. Curr. Nutr. Food Sci. 14, 305-312.

(6) Ajay AO, Alinfola TA.(2010(. Evaluation of antibacterial activity of some medicinal plants on common enteric food-borne pathogens. Afr. J. Microbiol. Res; 4 (4): 313- 316.

(7) Odey MO, Iwara IA, Udiba UU, Johnson JT, Inekwe UV, Asenye ME, Victor O.)2012.(Preparation of Plant Extracts from Indigenous Medicinal Plants. IJST.; 1 (12): 688-692 .

(8) Versporten, A.; Bielicki, J.; Drapier, N.; Sharland, M.; Goossens, H.(2016). The Worldwide Antibiotic Resistance and Prescribing in European Children (ARPEC) point prevalence survey: developing hospital-quality indicators of antibiotic prescribing for children. J. Antimicrob. Chemother. 71, 1106-1117 .

(9) Deveau, A.M.; Miller-Hope, Z.; Lloyd, E.; Williams, B.S.; Bolduc, C.; Meader, J.M.; Weiss, F.; Burkholder, K.M.(2016). Antimicrobial activity of extracts from macroalgae Ulva lactuca against clinically important Staphylococci is impacted by lunar phase of macroalgae harvest. Lett. Appl. Microbiol. 62, 363-371.

(10) Nova, N.S.; Uddin, M.D.; Ahmed, T.(2019) .Comparative study of the antibacterial activity of seaweed (*Sargassum muticm*) and freshwater weed (*Spirodela polyrrhiza*). Bacterial Empire 2, 80-85 .

(11) Overland, M.; Mydland, L.T. and Skrede, A. (2019). Marine macroalgae as a source of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. J. Sci. Food Agric. 2019, 99, 13-24.

(12) Ahmed ,EAJGARJM .(2016) .Antimicrobial activity of microalgal extracts isolated

multiple F test. Biomertics., 11:1-42.
(38) Sibanda,T. and Okoh,A.I.(2007). The challenges of overcoming antibiotic resistance : Plant extracts as potential sources of antimicrobial and resistance modifying agents. Afr. J. Biotechnol. 6(25):2886-2896.
(39) Jawetz ,E.; Melnich, J.L. and Adelberg ,E.A. (1998). Medical Microbiology. 21. ed. Appleton and Lang.
(40) Kella, S. L. and Kufeji, J. H.)1995(. Screening of some Nigerian plants for bactericidal activity. J. Microbial, 10:18-22.
(41) Ekwenye, U. N. and Elegalam, N. N.) 2005(. Antibacterial activity of ginger (Zingiber officinale Roscoe) and (Allium sativum L.) extract on Escherichia coli and Salmonella typhi. Journal of Molecular and Advanced Science, 1(4):411-416.
(42) Hansen, R. S. ;Escobido ; M. S. O.& Ronaldo R. O.(2016). Evaluation of the biochemical and phytochemical components of green seaweed *Enteromorpha intestinalis* (Linnaeus) in Initao, Misamis oriental, Mindanao, Philippines. International Journal of Biosciences Vol. 9, No. 4, p. 114-122.
(43) Adaikala, G. Raj ; Jayaraman, M. ; Krishnamoorthy , S. ; Chandrasekaran, M. and Venkatesalu, V.(2017). Screening of Different Extracts of Marine Macro Green Algae for Larvicidal Activity against Dengue Fever Mosquito, *Aedes aegypti* (Diptera: Culiadae). International Letters of Natural Sciences, Vol. 62, pp 44-51.
(44) El-Swaify ,Zeinab A.(2017). Phytochemical studies on *Cladophora* species from the Nil River Edges, Egypt. International Journal of Chemical Science. Volume 1; Issue 2; Page No. 13-22.
(45) Breijyeh ,Zeinab; Jubeh , Buthaina and Karaman, Rafik.(2020). Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. Molecules. 25, 1340: (1-23).
(46) Meena, A. K.; Rao, M. M. and Komalpreet, K. (2010).Comparative evaluation of Standardizations parameters between Wedelia genus species. International Journal of pharmaceutical Science and Researcher. 1(3): 207-10.
and Pharmacol., 51: 274-280.
(25) Parekh, J., Darshana, J. and Sumitra, C.)2005(. Efficacy of Aqueous and Methanol Extracts of Some Medical Plants for Potential Antibacterial Activity. Turk J. Biol., 29:203-210.
(26) Harbone, J. B. (1984). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plants analysis. 2nd ed. London, New York, chapman and Hall.
(27) Hadi, R.A.M. (1981). Algal studies of the River USK. Ph.D. thesis, University. College Cardiff. 364 pp.
(28) Naik, L. S., Shyam, P., Marx, K. P. Baskari, S., and Devi, C. V. R. (2015). Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Ocimum tenuiflorum* leaf extract. Int J of Pharm Rese8 (1), 88- 95.
(29) Harborn,J.B.,Mabary,T.J. and Mabary, H.(1975). Physiological and Functional of Flavonoids. New York , Sanfrancisco .
(30) Bandiola , Teresa May B.)2018(. Extraction and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants: A Brief Summary. International Journal of Pharmacy 8(1): (137-143).
(31) Harborne, J. B. (1973). Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis. PP.159-165.Chapman and Hall Ltd. London.
(32) Shihata, I. M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M. D. vet. Thesis Cairo Univ.
(33) Geisman, Y. A.)1962(. Chemistry of Flavonoid Compounds. Macmillan. Co., New York.
(34) Jaffer, H. J., Mahmod, M. J., Jawad, A. M., Naji, A. and Al-Naib, A.)1983(. Phytochemical and biological screening of some Iraqi plant. Fitoterapia, LIX. 299.
(35) Al-Bid,M.R.)1985(. Zurrzusame mestarung der Abschla B membrane in *Phoenix dactyllifera*. Warzburg University Wuzzburg F.R of Germany.
(36) IHP Indian Herbal Pharmacopeia.)1998(. A Joint Publication of Regional Research Laboratory. Counce of Scientific and Industrial Research. Jammataw, 1:1-10.
(37) Duncan, D. B. 1955. Multiple range and