تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر في نمو بعض الجراثيم في الزجاج

وهاب امين جنان محمود طه ياسين غني زيد صلاح حسين
كلية الطب البيطري /جامعة بغداد

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية معرفة تأثير نبات الزعتر على بعض الجراثيم المرضية و التي تسبب العديد من الامراض للأنسان و الحيوان. تم تحضير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر بالتراكيز 20 و 10 و 5 ملغم/ مل. كما حضر معلق الجراثيم المرضية للمكورات العنقودية الذهبية والمسبحية القيحية والاشريشيا القولونية و السالمونيلا و السيدوموناس ارجينوسا. ثم تم تقييم كفاءة التراكيز المختلفة من المستخلص باستخدام طريقة انتشار الحفر على سطح الوسط الزرعي . اظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي ذو تركيز 20 ملغم/ مل اعطى تثبيط كبير للمكورات العنقودية و الاشريشيا القولونية و السالمونيلا و السيدوموناس (+++) بينما المكورات المسبحية اظهرت تثبيط ضعيف (+). أما التركيز 10 ملغم/ مل فقد اظهر تثبيط متوسط على كل من المكورات العنقودية و الاشريشيا القولونية و السالمونيلا و السيدوموناس (++) و لكن تأثيرة على المكورات المسبحية كان ضعيف (±) اما تركيز 5 ملغم\ مل فظهر بأن لة تثبيط ضعيف على السيدوموناس (+) اما بألنسبة للمكورات العنقودية و الاشريشيا و السالمونيلا فكان التأثير ضعيف جدا (±) اما بألنسبة للمكورات المسبحية فكان سالبا.

المقدمة

ان المملكة النباتية منذ قرون عديدة هي الذخر الرئيسي لغذاء الانسان و الحيوان و من ثم اتخذ الانسان النباتات كوسيلة لمعالجة امراضة و ذلك عن طريق التجارب و الممارسة. وقد برع الهنود و الصينيون في مجال استخدام العقاقير النباتية قبل خمسة الآف سنة حيث و صف آنذاك 250 نوعا من النباتات في كتاب صيني للاعشاب كتب قبل حوالي 2700 ق.م (1). وقد ازدهر طب الاعشاب في وادي الرافدين و سجلت المعلومات بأستخدام النباتات الطبية على رقائق الطين و الاسطوانات الحجرية في بلاد بابل (2). اهتم العلماء في الوقت الحاضر بالعلاجات القديمة و اخذت الكيمياء الحديثة تلقي الضوء على هذه العقاقير النباتية و اخذت تستعمل بأسلوب علمي بعيدا عن الحدس و التخمين و بموجب قواعد و مقاييس واضحة حددت بالتفاصيل في الدستور الدوائي (1).يعد الزعتر من النباتات العطرية و يزرع و يتكاثر في منطقة البحر الابيض المتوسط و كذلك تنتشر زراعتة في العراق و يعتبر احد انواع التوابل. يحتوي الزعتر على مركبات كيميائية عديدة و قد ذكر (3) بأنة يحتوي على صابونيات و ذكر (4) (1952) بأن زيت الزعتر يحتوي على urosolic asid كما ذكر (5) بأن زيت الزعتر يحتوي على oleanic cid , Caffeic acidو كذلك فقد عزل نفس الباحث ثلاثة انواع من الفلافونات, وفي دراسة كيميائية عن مكونات الزعتر و جد انه يحتوي على احماض دهنية هيدروكسية (6).كما يحتوي الزعتر على نوعين من السكريات Stachyose , Raffinose و كذلك على الكومارين، اضافة الى احتوائه على الراتنجات و الاصماغ والعفصيات (7). وللزعتر تأثيرات طبية ذات استخدامات خارجية و داخلية وهذا يعود الى احتوائة على الزيوت الطيارة|، فقد استعمل زيت الزعتر في صناعة العطور و صناعة معاجين الاسنان و مستحضرات غرغرة الفم و لعلاج حالات التهاب اللثة الاسنان و اللوزتين (1). وكذلك يستخدم في علاج النفاخ و التهاب المعدة و الامعاء المزمن و سوء الهضم و معالجة الامراض الجلدية و لعلاج الاسهال و التبول الليلي عند الاطفال (7) واشارت دراسات كذلك بأن لنبات الزعتر تأثير مثبط لنمو الجراثيم الموجبة و السالبة لصبغة الكرام (8 و 9). وأشار (10) الى أن المستخلص الكحولي مثبط للجراثيم مثل , *Salmonella typhmurium* *Barahaemolyticae vibrio* , *Stphylococcus aureus* , *E.coli* كذلك اشارت الدراسات العديدة بأن لنبات الزعتر تأثير على نمو بعض الفطريات منها الاسبرجيلاس المنتجة لسموم الافلاتوكسين (11). كما يعد الزعتر مانع لاكسدة الاغذية ومانع لنمو الجراثيم (12) وذكر (13) أن لنبات الزعتر فعل مثبط لبعض الحميات مثل*Herpes simplex*

المواد و طرق العمل

مصدر النباتات:-

تم الحصول على اوراق نبات الزعتر من الاسواق المحلية و من ثم تم تجفيفها بدرجة حرارة الغرفة 25 درجة مئوية ثم ارسلت نماذج من النبات الى المعشب الوطني العراقي لغرض تحديد نوعة بعدها تم تنظيف النبات من الشوائب وغسلت بالماء الاعتيادي عدة مرات و بعدها غسلت بأماء المعقم و المقطر و ترك النبات ليجف في 25 درجة مئوية اذ ان للتجفيف اهمية كبيرة كما اشار اليها (14) لضمان حفظها الجيد و ثبات مكوناتها . سحق النبات بمطحنة قهوة و حفظ المسحوق في عبوات بلاستيكية نظيفة و جافة لحين استخدامها.

تحضير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر:-

تم وزن 100 غرام من مسحوق نبات الزعتر و وضع في دورق زجاجي سعة 1000 سم ^{3}اضيف 500

سم^{3}من الكحول الاثيلي تركيز 70% ثم مزج بواسطة قضيب زجاجي لعدة مرات و ترك النقيع لمدة 24 ساعة بعدها رسب المزيج بأستخداك جهاز الطرد المركزي R. P . M 3000لمدة 15 دقيقة , جمع الراشح بعد ترشيح المستخلص بأستخدام ورقة ترشيح Wattman no 1. بعدها ترك ليجف في درجة حرارة 25 درجة مئوية لحين الحصول على عجينة مجففة ثم جمعت العجينة المجففة و حفظت في الثلاجة لحين الاستخدام.

تحضير المحاليل المختلفة التركيز من العجينة :-

وزن 2 ملغم من عجينة النبات في قنينة معقمة و ذات فوهة محكمة ثم اضيف 10 سم ^{3}من الماء المعقم و المقطر و تم مزجها بصورة جيدة بواسطة قضيب زجاجي معقم , و بذلك اصبح تركيز النبات 0.2 ملغم\ سم ^{3} و اعتبر هذا المحلول خزين (Stock solution) و حضرت تراكيز مختلفة من هذا المحلول و ذلك بأستخدام الماء المعقم والمقطر للحصول على تراكيز 10 ملغم\ سم ^{3} و 5 ملغم/ سم^3

تحضير معلق الجراثيم المستخدمة:-

تم الحصول على مزارع الجراثيم من المختبر المركزي لوزارة الصحة و من فرع الاحياء المجهرية \ كلية الطب البيطري و من فرع الطب الباطني و الوقائي \ كلية الطب البيطري\جامعة بغداد , وشملت على الانواع لتالية *Staphylococcus aurous ,Streptococcus pyogens ,Salmonella typhmurium E.coli, Pseudomonas auregenosa*تم زرق كل نوع من هذة الجراثيم في وسط المرق المغذي في قناني معقمة و حضنت في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ثم تم تحضير معلق من كل نوع من هذة الجراثيم يحتوي سم^3 الواحد على 1×10^6 (15).

تحضير اطباق الزرع الجرثومي :-

حضرت عدد من اطباق باتري و التي تحتوي على وسط زرعي صلبTryptocase soya agar واستخدم 4اطباق لكل نوع منالجراثيم المستخدمة في التجربة تم عمل حفر دائرية في كل طبق و عددها 4 على سطح الوسط الزرعي بواسطة ثاقب فليني متساوية الحجم و رقمت الحفر , فألطبق الاول استخدم لجرثومة المكورات العنقودية و وضع في الحفرةالاولى من هذا الطبق0.1 ml من المستخلص الكحولي لنبات الزعتر تركيزة 20 ملغم\سم ^{3} و اضيف الية 0,1 ml من المعلق الجرثومي لجرثومة المكورات العنقودية الذي يحتوي على 1×10^6 اما الحفرة الثانية من الطبق الاول فقد وضع 0,1 ml من محلول النبات ذو تركيز 10 ملغم\سم ^{3}و نفس المقدار من المعلق الجرثومي الذي يحتوي على 1×10^6 اما الحفرة الثالثة فقد وضع 0.1 ml من محلول النبات ذو تركيز 5 مل\سم ^{3}و نفس المقدار من المعلق الجرثومي السابق اما الحفرة الرابعة control فقد وضع 0.1 ml من المحلول الفيزيولوجي المعقم و نفس الكمية من المعلق الجرثزمي لنفس الجرثومة السابقة الذكر (16 و 17).و قد تم استخدام 4اطباق لكل نوع من الجراثيم المستخدمة في البحث اما الانواع الاخرى من الجراثيم فقد حضرت الحفر و التراكيز للمستخلص الكحولي للزعتر و المعلق الجرثومي بنفس الطريقة السابقة الذكر التي استخدمت في نوع المكورات العنقودية. بعد ذلك حضنت الاطباق جميعا في درجة حرارة 37 درجة مئوية في الحاضنة و تم ملاحظةالنتائج يوميا لمدة ثلاثة ايام.

النتائج

اظهرت نتيجة هذا البحث بأن المستخلص الكحولي لنبات الزعتر بتركيز 20 ملغم\سم^3 كان مثبطا لجراثيم المكورات العنقودية و الاشيريشيا القولونية و السلمونيلا و السيدوموناس.اذ ظهرت منطقة شفافة كبيرة تحيط بألحفرة و قد رمز لة بعلامة (+++) اما بألنسبة للمكورات المسبحية فقد اظهرت تأثير المستخلص اعلاة ضعيف و رمز لة(+).اما تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر بتركيز 10 ملغم\ سم^3 فقد ظهر تثبيطا متوسطا و لكن اقل من السابق(بتركيز 20 ملغم \ سم^3 على كل من المكورات العنقودية و الاشيريشيا القولونية و السيلمونيلا و السيدوموناس و قد رمز لة بعلامة (++) ولكن تأثيرة علىالمكورات المسبحية فكان ضعيف جدا و رمز لة بعلامة (±).اما تأثير المستخلص الكحولي لنبات الزعتر ذو تركيز 5 ملغم \ سم^3 على الجرثومة المستخدمة في هذة التجربة فكان ضعيف على جرثومة السيدوموناس و رمزلة (+)اما بالنسبة للمكورات العنقودية و الاشيريشيا القولونية و السالمونيلا فكان تأثيرة ضعيف جدا و رمز لة بعلامة (±)اما تأثير على المكورات المسبحية فلم يظهر اي تثبيط و رمز لة بعلامة (-)، اماالحفر التي تحتوي على محلول الملح الفيزيولوجي و المعلق الجرثومي لكل الانواع من الراثيم المستخدمة في هذة التجربة فلم يظهر اي تثبيط . (الجدول 1).

جدول (1) : نتائج تاثير التراكيز المختلفة من المستخلص الكحولي للزعتر في الجراثيم

نوع الجرثومة	تركيز20%	تركيز10%	تركيز5%	المحلول الفسيولوجي
Staphylococcus aureus	+++	++	±	_
Streptococcus pyogens	+	±	_	_
Salmonella spp	+++	++	±	_
Escherichia coli	+++	++	±	_
Pseudomonas auregensa	+++	++	+	_

+++ منطقة تثبيط كبيرة
++ منطقة تثبيط متوسطة
+منطقة تثبيط صغيرة
±منطقة تثبيط صغيرة جدا
_عدم حدوث تثبيط

المناقشة

لقد اوضحت النتائج بان المستخلص الكحولي لنبات الزعتر كان لة فعالية في تاثيرة على البكتريا المستعملة في الدراسة و يعود السبب الى طبيعة المركبات الفعالة فية و لا سيما الزيوت العطرية و علاقتها في طبيعة المذيب. ان الزيوت مركبات غير قطبية لا تذوب في الماء عند استخدامة بعملية الاستخلاص على انها تذوب بشكل جيد في المذيبات العضوية غير القطبية كألكحول الاثيلي (18).و قد اشار (19) الى ان دور الزيوت الطيارة في تثبيط نمو البكتريا يعود الى اضعاف الفعالية الايضية الابتدائية و منها فعالية انزيم Succinate dehydrogenase وارتباطة مع الـ NADH فضلا عن ايقاف الفسفرة التأكسدية و سلسلة انتقال الاليكترونات التي تجري في عملية التنفس للخلية بسبب المجاميع الفعالة التي تدخل مع التركيب البروتيني للأنزيم الذي يؤدي الى ايقاف عملة. ظهر ذلك جليا في تأثيرة على درجة التثبيط حيث كان تركيز 20 ملغم \ سم^3 من هذا المستخلص هو الاكثر فعالية من بقية التراكيز المستخدمة خصوصا على بكتريا المكورات العنقودية و الاشيريشيا القولونية و السلمونيلا و السيدوموناس , حيث كانت درجة التثبيط (+++) ويليه تركيز 10 ملغم \سم^3 و 5 ملغم \سم^3 على التوالي و هذة النتائج تقترب مع ما توصل اليه (19) الذين استخدموا المستخلص الكحولي الايثانولي لنبات الزعتر من نوع *T. capitatus* لدراسة تأثيرة على الاحياء المجهرية و بتركيز 10 ملغم \ سم^3 و التي شملت *Streptossus pyogens, Salmonella typhimuroium, E.coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella spp* ان هذا الاختلاف في النتائج قد يعود الى الاختلاف في تركيب الجراثيم (19) وقد اشارت الدراسات العديدة بأن نبات الزعتر عند استعمالة على شكل شرائط بحجم 120 130_ملم بطريقة الاستشراب لة تأثير على الجراثيم السالبة و الموجبة لصبغة كرام و منها الاشيريشيا القولونية ,المكورات العنقودية الذهبية و العديد من الجراثيم الاخرى (8 و20 و 22)) حيث لاحظوا ان هذا المستخلص كان تأثيرة اقوى من تأثير المستخلص المائي و هذا ما أيده (16) حيث لاحظ ان للمستخلص الكحولي البارد لاوراق الزعتر تأثير اقوي من تأثير المستخلص الكحولي الحار على نمو الفطريات و هذا يعود الى كثرة وجود المواد الفعالة في هذا النبات اهمها الزيوت الطيارة فقد اشار (21) الى ان نبات الزعتر يحتوي على 40% حجما من الفينولات و من ضمنها الثايمول و الكارفيكول فضلا عن المكونات الاخرى مثل بارا سمين .B_ cymene لينالوول Linalool بيتابينين B_pinene ان القدرة التثبيطية للمستخلص تعزى الى الخواص السمية للمركبات الفعالة في تأثيرها على نمو الاحياء المجهرية حيث تعمل المركبات الفينولية على تغيّر طبيعة البروتينات و الاضرار بألاغشية الخلوية (20) من خلال ارتباطها بألمواقع الفعالة للأنزيمات الخلوية بواسطة مجاميع الهيدروكسيل فيها و التي لها القدرة على تشكيل اواصر هيدروجينية مع تلك المواقع (12) وبذلك فأن التثبيط واحد او اكثر من التفاعلات الايضية التي تسيطر عليها تلك الانزيمات التي قد تكون ضرورية لنمو الكائن الحي و تكاثرة او المسؤولة عن بناء البروتينات المختلفة.

المصادر

1. سيلسم ،مبلسنت (1962) نباتات شافية – موسسة فرنكلين للطباعة والنشر.
2. الراوي،علي و جاكره فارتي،ج (1988) النباتات الطبية في العراق- بيت الحكمت- الطبعة الثانية – مطبعة اليقظة.
3. Marquina, G., Juan, M. and Villa, M.G., (1949). Saponins of *Thymus vulgaris*. Farmacogonosis analysis, (Madrid), 9: 261-276, Biol. Abst. (1950). 24: 3430.
4. Brieskorn, C.H., Brimer, M., Schlumprecht, L. and Eberharadt, K.H. (1952). Determination of mrosolic acid and ethereal oil in labiatae of pharmaceutical and nutritional importance. Arch. Pharm., 285: 290-296.
5. Awe ,w., Schallre , J.F. and kummel,H.J.1959 The flavones form *Thymus vulgaris* .naturwissenchaften,46,558.
6. Smith, C. and Wolff, I.A. (1969). Characterization of naturally occurring hydroxyl linolenic acid. Lipids, 4: 9-14.
7. Association scientific committee (1983) British herbalpharmacopia. Published by British medicine association.
8. Patakova, and chladek ,M.(1974) Antibacterial activity of thyme and wild thyme, pharmazie,29:140-142.
9. Rashta, O.Y. and Zelepukha, S.T. (1954). The biochemical properties of the antibacterial Substances of some labiataes. Microbiol. Zhur. Akad, A and Nauk MKR. R. S. R. 16: 62-65, (hem ABST. 1955).
10. Aktug,S.E. and Karapinar, M(1986) sensitivity of some common food poisoning bacteria to Thyme ,mint and bay leaves Int .J. Food. Microbial., 3:349 -354.
11. Hitokoto, H., Moruzumi, S., Waulxe, T., Sakai, S. and Kurata, H. (1980). Inhibitory effects of spices on growth and toxins production of toxigenic fuugi. Appl. Environm. Microbiol., 39: 818-822.
12. Farag, R.S., Daw, X.Y., Hewed, F.M. and EL-Baroty, G.S. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. J. Food Production, 52: 665-667.
13. Ernest, C.H. and Louis, S. (1967). Antiviral substances in plants of mint family (labiatae). Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 124: 874-878.
14. Mukboml, A.M. and baky, A.M (1998). Pharmacognosy.led.dar ALhamed for publisher and distribution, Amman, jordan.
15. Cruchschark, R.Duguid, B.marnion and swain,A.1975 medical microbiology Vol.2.
16. Najm, H.N., Kazal, k.F., and jalil, H.A. (1988). Antibiotices residue in milk of Baghdad area. The Iraqi J.Vet. Med., 12: 32-37.
17. Grove, D.C. and Randall, W.A. (1955). Assay method of antibiotic monograph no.2. Iner. NewYork 22.n.y.
18. قطب، فوزي طه (1981) النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها، دار الموزع للنشر.
19. Kadiel, O., Radwan, N.M., Hasson, A.B., Amer, A.M.M., AL-Banna, H.A. and Amer, W.M.M (1994). Extract and Fractions of thymus capitatus exhitbit antimicrobial activities J. of Ethnopharmacollogy, 44: 19-24.
20. Pelczar, M.J. chan, EC. and Kriey, N.R(1981) 5th .ed.Mcgraw.Hill book co.New York.
21. الشماع ، علي عبد الحسين(1989)العقاقير وكيمياء النباتات الطبية، جامعة بغداد- بيت الحكمه.
22. Danil and Austin(2004). Florida ethno botany, CRC press institute, 132.

The effect of alcoholic extract of *Thymbra spicata* on some pathogenic bacteria

W. Ameen J. Mahmoud T. Yassin Z. S. Hussein
Coll.of Vet. Med./ Unive. of Baghdad

Abstract

The present study aimed to determine the effect of alcoholic extract of *Thymbra spicata* on some pathogenic bacteria. The alcoholic extract has been prepared in the concentrations 20, 10, and 5 mg/ ml. Suspension of *E. coli*, *Staphylococcus aurous*, *Streptococcus pyogens*, *Salmonella spp*. and *Pseudomonas auregenosa* were prepared, by hole diffusion technique used on tryptocase soya agar. It has been found that the concentration of 20mg/ ml gives highly inhibition to *Staphylococcus aurous*, *Salmonella spp*. *E.coli*, *Pseudomonas auregenosa* (+++), while *Streptococcus pyogens* gave less zone of inhibition (+). The concentration 10 mg/ ml gave moderate inhibition to *Staph*, *Salmonella, E.coli*, *Pseudomonas auregenosa* (++), while *Streptococcus pyogens* show less inhibition (±). The concentration 5 mg/ ml show medium inhibition to *Pseudomonas auregenosa* (+), while less inhibition to *staphylococcus aureus* , *Salmonella spp* , *E.coli* (±), while, there is no inhibition zone was shown to *Streptococcus pyogens* (-).