دراسة استخدام مستخلصات بذور نبات الـ *Linum usitatissimum* في تثبيط بعض انواع البكتريا المرضية

ميَ مجيد عبد الله يوسف ، مهدي ضمد القيسي و هيام عبد الرضا العواد

قسم علوم الحياة ، كلية التربية أبن الهيثم ، جامعة بغداد

وزارة العلوم والتكنلوجيا

قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة الكوفة

الخلاصة

هدفت الدراسة الى تقييم الفعالية المضادة للنشاط الميكروبي للمستخلص الميثانول ، الأيثانول و الكلورفورم لبذور الكتان صنف المها ضد البكتريا المر شملت البكتريا الموجبة لصبغة غرام (*Staphylococcus aureus* و *subtilis*) والسالبة لصبغة غرام (*Escherichia coli* و *aeruginosa*) .

لقد أتضح بأن الزيت (المستخلص بالهكسان) له فعالية تثبيط عالية با مع بقية المستخلصات تجاه البكتريا المختبرة وحتى في التراكيز القليلة(0.5% لقد أختلفت الفعالية التثبيطية للمستخلص بالأيثانول المطلق تجاه البكتريا حس البكتريا المختبرة . لذلك نلحظ ان بكتريا Staph. aureus هي الاكثر حساسية نسبة التثبيت 92% تليها *P. aeruginosa* (91%) ثم بكتريا *E. coli* و (89%) (84%) على التوالي .

وان لمستخلصات الميثانول المطلق والكلورفورم لبذور الكتان فعالية تثبيطية مة البكتريا المختبرة وان اعلى حساسية لوحظت في بكتريا

P. aeruginosa و *Staph. aureus* تليها *E- coli* و

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

مقدمة

يعد نبات الكتان Flax أو Linseed (*Linum usitatissimum*) والذي ينتمي ى العائلة الكتانية Linaceae هو واحد من أقدم المحاصيل التي عرفها الانسان ويزرع ي العراق كمحصول شتوي للأستفادة من الالياف او الزيت (1) ، وتستخدم بذور الكتان سكن ومرطب ومدرر وملين ، اما البذور المحمصة فتستخدم كمواد قابضة . ان نقيع ور الكتان يستعمل داخلياً كمسكن او ملطف عند البرد والسعال والتهاب القصبات لتهاب القناة البولية والسيلان والاسهال . وخارجياً تستعمل كمادات بذور الكتان ضد لتهاب والتقرح والحبوب والدمامل ولاورام النقرس والروماتيزم (2) وأكد (3) بان يت الكتان تأثيرا مليناً وملطفاً ويخففاً للالم وله مفعول ضد الالتهابات .

كما يستعمل كلبخة او كمادة للجلد لامتصاص الانتفاخات الجلدية المتسببة عن كثرة سوائل ولتسكين الآم المعدة والغدة النكفية والغدد اللمفاوية والدمامل والقروح الصلبة مراض الجلد التي تفرز القيح والقشور(4) كما ان لنبات الكتان اهمية تغذوية حيث تخدم كمواد اضافية لعلف الماشية وقد وجد الباحثون(5) بأن اضافة الاحماض الدهنية ستخلصة من زيت بذور نبات الكتان الى الغذاء المقدم لمجموعة من الاغنام وبمستويات تراكيز معينة ينتج عنه انخفاض معنوي في عملية هضم السليلوز في حين قابلية هضم هون ازدادت .

عتبر بذور الكتان مصدر غني باللكنينات ، حيث ان الغذاء المضاف له بذور ـتان يقوم بعملية تثبيط منشآت ومحفزات المسرطنات Carcinogenesis للثديات انثى الجرذان (6) ، (7) واشارت النتائج للدراسة التي قام بها الباحثون (8) امكانية ـتخدام Solvent Linseed Meal (SLM) بدلاً من مسحوق فول الصويا Soy bean me في غذاء الماشية لاحتوائه على بروتين خام 7.9 % ، وفي دراسة يثة (9) تضمنت تأثير بذور الكتان في منع النمو الانبثاثي Metastas وهذا يعني انتشار الخلايا الخبيثة من الورم السرطاني الاولي الى عضاء البعيدة أي أن اللكنينات قللت النمو الانبثاثي للخلايا الورمية في الفئران .

حتوي زيت بذور الكتان على عدد من الاحماض الدهنية غير المشبعة قد وجد الباحثون(10) بأن الاحماض الدهنية طويلة السلسلة لها تأثير تثبيطي على

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

البكتريا الموجبة لصبغة غرام وليس لها تأثير مثبط على نمو البكتريا السـ
غرام. ولذا فقد تركزت هذه الدراسة حول بذور نبات الكتان صنف ألمها وا
النباتات المهمة أقتصادياً ، والذي استنبط من قبل مركز الربيع
الزراعية والغذائية / وزارة الصناعة والمعادن وتعتبر هذه الدراسة
نوعها في القطر على هذا الصنف من بذور الكتان ، وقد أجري التحليل الكيـ
من قبل(11) .

المواد وطرائق العمل

وشملت طريقة العمل :-

-الاستخلاص للمكونات الفعالة بوساطة مذيبات مختلفة وهي الهكسا
الكلورفورم ، الميثانول والايثانول بأستخدام جهاز الاستخلاص المست
Soxhlet apparatus .(12)

- دراسة تأثير نواتج المستخلصات المختلفة لبذور الكتان في بعض الأحيا
المرضية ، تم الحصول على *Staph. aureus* من مسحات للجروح wabs
وبكتريا *E- coli* من نماذج للأدرار urine والخروج stool من مختبر
البلدي للامراض النسائية والأطفال في بغداد كنماذج طبية من الأنسان وعزلا
P- aeruginosa ، *B- subtilis* من مختبر الاحياء المجهرية
التربية – أبن الهيثم / جامعة بغداد وقد تم تشخيص الاحياء حسب الطريقة.(13

تقدير الفعالية لمستخلصات بذور الكتان المختلفة

أستخدمت طريقة الحفر في الاغراء بعمل ثقوب على الوسط الصلب بأستخ
ثقاب Cork borer بقطر 7 ملم وذلك لتقدير فعالية مستخلصات بذور الكت
عزلات البكتريا المختبرة كما وصفها (15) .
وحسبت النسبة المئوية للتثبيط كما يأتي:

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{قطر منطقة التثبيط} - \text{قطر السيطرة}}{\text{قطر منطقة التثبيط}} \times 100$$

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

تحضير تراكيز مستخلص بذور الكتان

حضرت تراكيز مختلفة من مستخلص بذور الكتان الزيتي وكانت النسبة 20, 10, 5, 2, 1.5, 1, 0.5 % 50 وذلك باذابة 0.05 % ،0.1 ، 0.15 ، 0.20 ، 0.5 ، 1 ، 2 ، 5 ، ملي غرام من كل منها على التوالي في 10 مل من ثنائي مثيل سلفوكساید Dimethyl sulphoxide (DM 50) .

نشر معلق البكتريا على وسط الغراء المغذي كانت التخافيف المستعملة 10^6 لكل من *P- aeruginosa* ،*E- coli* وكان التخفيف 10^4 لكل من *Staph- aureus* ، *B- subtili*، بعد عمل الثقوب وضع 0.1 مل من المستخلص وتركت في الثلاجة في درجة حرارة 4 ^{0}م ولمدة نصف ساعة (16) لكي نسمح للمستخلص بالانتشار . حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 ^{0}م لمدة 24 ساعة ، ثم قدرت منطقة التثبيط Inhibition zone حول كل ثقب . تم عمل مكررين لكل معاملة وكررت التجربة ثلاث مرات . عملت أطباق سيطرة موجبة تحوي على المزروع البكتيري على الوسط الغذائي ، وسيطرة سالبة تحوي على ثقب مسكوب فيه المذيب المستخدم لاذابة المستخلص.

التحليل الاحصائي

استخدم اختبار t للمقارنة بين نتائج تأثير استخدام المستخلصات المختلفة لبذور الكتان في مجموعة مختلفة من الاحياء المجهرية (17).

النتائج والمناقشة

يتضح من الجدول (1) ان التأثير التثبيطي لمستخلص زيت بذور الكتان في بكتريا *Staph- aureus* ، *B- subtilis* *E- coli* *P- aeruginosa* وبلغت اعلى نسب للتثبيط عند التركيز 50% لتصل الى 86 , 88 , 77 , 76% على التوالي .

اما التراكيز الاخرى وابتداءا بالتركيز 1.0 % فقد كانت البكتريا *B- subtilis* تاتي في الدرجة الاولى من حيث حساسيتها، وفي التركيز 1.5% ارتفعت نسب التثبيط فيه

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

وبلغت 82 , 76 , 66 , 55% لكل من *B- subtilis* ،*aureus* *P -aeruginosa* وهكذا ارتفعت نسب التثبيط بمعدلات متفاوتة ولكل انو المختبرة مع زيادة تركيز المستخلص الزيتي، ويمكن ان تفسر هذه الزيا بزيادة تركيز المستخلص اتاثير المستخلص على نفاذية غشاء الخلية وعمل الناقلة permease حيث تراكم المواد خارج الخلية(18) واظهر التحليل الإ البكتريا الموجبة لصبغة كرام كانت اكثر حساسية من البكتريا السالبة لصبغة يتفق مع ما وجده (19) بان البكتريا الموجبة لصبغة كرام هي حساسة لكل من زيوت الزعتر *T-vulgaris* والدراسين *C-verum* والهيل *E.cardamum* البكتريا السالبة لصبغة كرام وهذا ماوجده (20) .

وبين (21) بان البكتريا الموجبة لصبغة كرام كانت اكثر حساسية لمستخلص السوداء من البكتريا السالبة لصبغة كرام ، ويمكن تفسير ذلك بان العزلات السالبة لصبغة كرام تشترك في ان الجدار الخارجي يمتلك حاجزا ذاتيا بمتعدد السكريات الدهني Lipopoly saccharide المشترك مع بروتينات م قابلية منع مرور الكثير من المواد المضادة الى داخل الخلية او قد تتضح المادة الى خارج الخلية البكتيرية قبل ان يصل مستواه الى الحد الذي يثبط تصنيع (22).

ويمكن ان تعزى الفعالية المضادة لنمو البكتريا الى احتواء المستخلص على الفلافونات Flavonoids والذي هو احد انواع الفينولات (23) كذلك وجود والبيوكونسيدات والتي لها فعالية مضادة تثبيطية لنمو المسببات المرضية (24) . اما الجدول (2) الذي بين تاثير المستخلصات الكحولية لبذور الكتان ، فقد تبين *Staph- aureus* كانت الاكثر حساسية لمستخلص البذور بالكحول الايثلي حيث نسبة التثبيط 92% ومن ثم *P- aeroginosa* ، *B- subtilis* ، *E- coli* الثانية من الحساسية وبنسب تثبيط 91 , 89 , 84 % على التوالي بالمقارنة مع وقد أشار (24) الى ان استخدم الكحول الاثيلي بتركيز 80% في الاستخلاص يتم فيه الحصول على المركبات التي تذوب بالماء فضلا عن المركبات التي بالكحول .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

اما المستخلص بالميثانول المطلق فقد كانت نسبة التثبيط لكل من *Staph- aurous* و *P- aeruginosa* 88% بينما جاءت بكتريا *E- coli* بالمرتبة الثانية من حيث حساسيتها 87% وبكتريا *B- subtilis* كانت النسبة 82% ويرجع السبب في التباين بتاثير المستخلصات الى نوع المستخلص والى النوع البكتيري حيث اجمعت الدراسات على ان الاختلاف في تاثير انواع المستخلصات النباتية في الاحياء المجهرية يعود الى عوامل مختلفة اهمها نوع المستخلص والطريقة المتبعة في الاستخلاص وقطبية المذيب المستخدم (25) اما مستخلص بذور الكتان بالكلوروفورم هو الاقل تثبيطا حيث جاءت بكتريا *Staph- aureaus* , *P- aeruginosa* بالمرتبة الاولى من حيث حساسيتها وبنسبة تثبيط 83% لكل منها ومن ثم تليها *E- coli* ، *B- subtilis* وبنسب تثبيط 80 . 71% .

وبين التحليل الاحصائي وباجراء اختبار t بان المستخلص الزيتي لبذور الكتان كان الاكثر تاثيرا وان المستخلص بالكلوروفورم قد اثر وبدرجة اقل من بقية المستخلصات وبفروق معنوية واضحة في تثبيط نمو الاحياء المجهرية الاختبارية وعند مستويات احتمالية 0.05 ، 0.01 ، 0.001 ويمكن تفسير ذلك بان الزيت يحتوي على الاحماض الدهنية غير المشبعة ومن ضمنها حامض Linolenic acid الذي يوجد بنسبة % 66.34 في البذور وهي نسبة عالية (11) . ان القابلية التثبيطية لزيت نبات الكتان على الانواع المختلفة من الاحياء المجهرية ونتائجنا التي حصلنا عليها كانت متوافقة مع ماذكره : (27) بان تراكيز قليلة من زيت الكتان اظهرت فعالية مضادة للبكتريا *S- aureus* .

نستنتج من خلال هذا التاثير لمستخلصات نبات الكتان المختلفة في الاحياء المجهرية لاختبارية احتمالية استخدام هذه المستخلصات الطبيعية في علاج بعض الامراض التي تسببها الاحياء المجهرية عن طريق الاستعمال الخارجي او الداخلي للتقليل من شيوع استخدام المضادات الحيوية ذات التاثيرات الجانبية .

فقد اثبت الباحثون (28) عند دراسة تأثير الحجوم المختلفة لكل من حامضي الجلد الدهنية (اللينولينك واللينولييك) في الفعالية المضادة للبكتريا لبعض المواد المستخدمة في علاج الجروح والحروق وتخفيف الاحماض الدهنية بالمواد العلاجية زادت الفعالية المضادة للبكتريا *S- aureus* , *P- aeruginosa* . او استخدامها

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

كمادة حافظة للاغذية عن طريق منع نمو الاحياء المجهرية المسببة لتلف و
التسمم الغذائي بدلاً من استخدام المواد الكيماوية والتي اثبتت البحوث كونها
اعراض جانبية قد تكون سببا في تطور امراض لايمكن السيطرة عليها .

المصادر

an , J.G.(1970) . The structure and utilization of oil seeds . 1
on . The Chaucer Press , Ltd , Bungay , Suffolk .
gwarty, H. L. (1976). Plant wealth of Iraq (a dictionary of
ic plants).Vol.1. Botany directorate, Ministry of Agriculture
gerian Reform, Iraq.

3. ستاري ، فرانشيك وجيراسيك ، فاكلاف (1986) . الاعشاب الطبية . دار
الثقافية العامة ، الطبعة الاولى ، ترجمة شروق محمد كاظم سعد الدين .

4. مجيد ، سلمى هاشم ، مهند جميل . (1988) . النباتات والاعشاب العراقية
الشعبي والبحث العلمي . الطبعة الاولى ، مجلس البحث العلمي ، بغداد ، ال

lawski, J.W.; Blaxter, K.L. and Wainman, F.W. (1966) Br. J.
0: 485 – 494.
pson , L.U. ; Rickard , S.E.; Orcheson , L.J. and Seidle , M.M.
) Carcinogenesis ,17 : 1373 – 1376
nino , M. and Thompson , L.U. (1992) Nut . Cancer. 17 :153 –

orasani , G.R. ; Robinson , P.H. and Kennelly , J.J (1994)
J.Anim . Sci , 74 : 479 – 485 .
D. ; Yee , J.A. ; Thompson , L.U. and Yan , L . (1999) Cancer
., 142 : 91 – 96 .
lbraith, H.; Miller, T.B.; Paton, A.M. and Thompson, J.K.
71) J.Appl. Bact., 34(1): 803 – 813.
- Kaisey , M. T. ; Al- Awad , H. A . R. ; Abdullah , M. A. ;
2) Sci.J.Iraqi Atomic Energy Commission, 4 (2): 169-171.
Kaisey , M. T. ; Baqir , A. W. and Al- Ani , A. H . (1999) . Ibn
Haitham J. Pure and App. Sci ., 12(2) : 1-8.
lahon , C. R. and Mannselis , G.T. (1995) .Test book of
nostic microbiology . W. B. saunders company.
one man , E. W.; Allen, S. D. and Jaunda , W. M. C. (1992)
plates and textbook of diagnostic microbiology . 4th ed . J. B.
in Cott Company.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

15. Al- delaimy ,K.S. and Ali, S. H. (1970) . Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria J. Sci. Food Agri , 21 : 110- 112.
16. Crespo , M.E.; Jimenez, J.; Gomis, E. and Navarro, C. (1990). Microbios. , 61: 181 – 184.
17. Zar , J. H. (1984). Biostatistical analysis . 2nd edition ,Prentice Hall INC . Eglewood Cliff, N. J.
18. Edmunds, P. N. (1960). Path. Bact., 80: 325 – 335.
19. El – Kady, J.A.; El – Maraghy, S.S. and Mohamed, E.M. (1993). Qatar Univ. Sc. J., 13(1): 63 – 69.
20. Jawed, A.M.; Jaffer, H.J.; Al – Nadir, A. and Saber, H.S. (1989). In vitro antimicrobial activity of total sesquiterpe lactones and Phenols isolated form Iraqi plants. Proc. 5 th Sci. Conf. / SRC.; Vol. 5 part 1: 52 – 58.
21. Hasan, C.M.; Ahsan, M. and Islam, S.N. (1989). Bangladesh J.Bot., 18(2): 171 – 174.
22. Hugo, N.B. and Russel, M.O. (1983). Pharmacutial microbiology. Blak well Scientific Publication.
23. Khan ,M. R. ; Ndaalio , G. ; Nkunya , M. H. H. , Wevwes , H. and Sawhney ,
A. N. (1980) .Studies on African medicinal plants : part 7 Preliminary
B. screening of medicinal plants for antibacterial activity . Planta Medica:
C. (91-97).
24. Al – Rawi , A. and Chakra varty , H. L. (1988) . Medicinal plants of Iraq . 2nd ed Ministry of Agriculture and Irrigation, Baghdad Iraq.
25. Al – Shamma, A.; Kazal, N. and Al – Hiti, M. (1989) Iraqi J. Pharm. Sci., 2(2): 81 – 89.
26- الذهب ، ازهار عمران . (1998) . النباتات والاعشاب الطبيـــة . دار البحـــار ، بروت.
27. Mc Donald , M.I.; Graham , I.; Harvey , K.J. and Sinclair , A. (1981) The Lancet , 7 : 1056 .
28. AL – Ibadi, M.C.; Alwan, W.L. and Mehdi, L. K. (1998) Iraqi J. Microbiol . , 10 (1): 23 – 32.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

نسبة التثبيط	معدل قطر التثبيط	نسبة التثبيط	معدل قطر التثبيط	نسبة التثبيط	معدل قطر التثبيط	نسبة التثبيط	معدل قطر التثبيط	
%61	16.00±0.70	%46	10.37±0.66	%78	19.18±1.59	%70	16.50±1.22	0.5
%64	17.50±1.06	%51	11.43±0.65	%81	22.12±2.21	%73	18.36±0.79	1.0
%66	18.25±1.06	%55	12.62±1.05	%82	23.06±2.08	%76	21.12±1.10	1.5
%68	19.75±0.35	%61	14.56±0.68	%83	24.50±1.90	%79	23.68±1.77	2.0
%71	21.25±1.06	%67	16.81±0.68	%84	26.75±1.24	%81	26.25±1.32	5.0
%73	23.00±0.35	%71	19.37±0.56	%86	29.93±1.35	%83	29.80±4.08	10.0
%74	24.37±0.53	%73	21.18±1.37	%88	34.00±1.47	%85	34.18±0.74	20.0
%76	26.37±0.17	%77	24.68±1.06	%88	36.43±1.08	%86	36.93±1.00	50.0
	6.25±0.35		5.62±0.75		4.25±1.04		5.00±1.47	Control

تمثل النتائج معدل مكررات ± الانحراف المعياري (Standard deviation / S.D.)

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

جدول (2) معدلات اقطار التثبيط (ملم) ونسب التثبيط(%) لمستخلصات بذور الكتان الكحولية والمستخلص بالكلوروفورم في البكتريا المختبرة

نوع المستخلص	Staph. aureus		B. subtilis		E. coli		P. aeruginosa	
	معدل قطر التثبيط	نسبة التثبيط	معدل قطر التثبيط	نسبة التثبيط	معدل قطر التثبيط	نسبة التثبيط	معدل قطر التثبيط	نسبة التثبيط
Methanol extract	16.83±2.51	%88	9.50±2.12	%82	15.93±1.97	%87	17.58±2.78	%88
Ethanol extract	25.83±0.57	%92	15.75±1.76	%89	13.63±0.56	%84	21.75±2.25	%91
Chloroform extract	11.83±2.46	%83	6.12±0.88	%71	10.41±1.50	%80	12.41±1.23	%83
Control	2.03±0.57		1.75±0.25		2.06±0.11		2.06±0.05	

تمثل النتائج معدل ثلاث مكررات ± الانحراف المعياري (S.D / Stanard deviation)

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

AITHAM J. FOR PURE & APPL. SCI, VOL.18 (4) 2005

Study of Antibacterial Effect of The raction of *Linum* Usitatissimum an Same Pathogenic Bacteria

bdullah , M. T. Al- Kaisey, H. A. R. Al- Awad
ent of Biology, College of Education, Ibn-Al-Haitham,
y of Baghdad
of Sience Technology
ent of Biology, College of Education, University of Kufa

act

e present investigation aims to evaluate the antibacterial of hexane , methanol , ethanol and chloroform extracts of Al- linseed culivar against some pathogenic miroorganism, gram – positive (*Bacillus subtilis and Staphylococcus* gram – negative (*Escherichia coli and pseudomonas hosa)*

oil (hexane extract) showed significant inhibition activity ed to the other extracts against the tested microorganisms . The ract showed pronounced activity even in lowes (up to 0.5% ration against all tested microorganisms .

anwhile . the gram – positive bacteria was found more sensitive ose of the gram – negative bacteria.

inhibition actions of the absolute ethanol extract of the seeds the tested microorganisms were variable from ne specieses to hers . Therefore , *Staph . aureus* were more sensitivel (the ion ratio was 92%) followed by *P. aerginosa* (91%) , *B .* (89%) , *E. coli* (84%)

e absolute methanol and choroform extracts of the linseed gave me inhibition actions against the tested microorganisms . The sensitivity was observed on the *P. aeroginose* followed by *aureus* . *E . coli* and *B . subtilis* .

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner