تأثير مستخلص الثوم *Allium sativum* كمضاد للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام

The effect of garlic (*Allium sativum)* extract on gram positive and negative bacteria

انتصار حسين علي

التقانات الكيميائية الاحيائية - قسم العلوم التطبيقية - الجامعة التكنولوجية

المستخلص

تم تقييم الفعالية المضادة لمستخلص الثوم على سلالات مختلفة من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام ، حيث استخدمت طريقة التخافيف المتسلسلة في الانابيب لقياس الفعالية المثبطه للنمو البكتيري . اظهرت هذه الدراسة تـأثر البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام بمستخلص الثوم ولكن كانت البكتريا السالبة اكثر تحسس من البكتريا الموجبة لصبغة كرام تجاه المستخلص حيث كان التركيز المثبط الادنى للبكتريا السالبة 2 ملغم/مل اما البكتريا الموجبة فكان التركيزالمثبط الادنى لها 4 ملغم/مل أي ضعف التركيز المثبط الادنى للبكتريا السالبة لصبغة كرام . لذا يمكن اعتبار مستخلص الثوم ذو فعالية تضادية للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام مع الاخذ بنظر الاعتبار كونه مادة طبيعية وتأثيراتها الجانبية قليله كما انها متوفره في العراق والعالم وباسعار مناسبه .

Abstract

The antibacterial effect of garlic (*Allium sativum*) extract was evaluated by in vitro study testing the growth of various Gram-Positive and Gram-Negative bacteria. The bactericidal activity of this extract was analyzed by serial dilution in tubes. This study, found that Gram-Negative and Gram-Positive bacteria susceptible to very low garlic concentrations. On the other hand, Gram-Negative bacteria were more susceptible than Gram-Positive bacteria, the minimal bactericidal concentration of Gram-Negative bacteria was 2 mg ml^{-1} but minimal bactericidal concentration of Gram-Positive bacteria was 4 mg ml^{-} that means double inhibition concentration of Gram-negative bacteria. This study suggest that garlic have inhibition effect about Gram-Positive and Gram-Negative bacteria and garlic was natural material found in Iraq and world wide with little side effect.

المقدمة

يعود نبات الثوم *Allium sativun* (Garlic) الى العائلة Liliaceae و يستخدم في الطهي حيث يتم تخزينه بعد التجفيف [1] ويحتوي الثوم على الانزيمات مثل Allinase و peroxidase وعلى الزيوت الطيارة ، مركبات الكبريت مثل Allicin ، التربينات ، المعادن ، الفيتامينات ، البروتينات ، الدهون و الاحماض الامينية [4,3,2] كما يحتوي الثوم على الكالسيوم ، الفسفور ، الحديد وفيتامين C لذا دخل الثوم في علاج السل الرئوي وتدرن الحنجرة والامراض الجلدية اضافة الى استخدام ابصال الثوم في علاج تصلب الشرايين وخافظ للحرارة ولزيادة المناعة ضد الامراض [6,5] .

المواد وطرائق العمل

استخلاص الثوم :

اخذت فصوص الثوم ووضعت في جهاز soxhlet لاستخلاصها باستخدام الايثانول 50% حيث اخذ 50 غرام من الثوم واضيف اليه 250 مللتر من الايثانول بجهاز السكسوليت وقد تم الاستخلاص خلال 48 ساعة ثم رشح المستخلص وركز باستخدام المبخر الدوار Rotary evaporator للحصول على 15 غرام من المستخلص المركز [15] . ثم حضرت التراكيز (1،2،4،6،8) مليغرام/ مللتر مستخلص الثوم مع الماء المقطر .

العينات :

تم تشخيص العزلات الجرثومية من عينات سريرية جمعت من مراكز طبية مختلفة من مرضى راقدين في بعض مستشفياتنا .

ا. تم عزلها وانماء المستعمرات وزرعها لحفظها وخزنها بدرجة حرارة تحت الصفر المئوي للاحتفاظ بها لمدة طويلة . تم تشخيص العزلات الجرثومية حيث اخضعت لفحوصات مظهرية بطرق عديدة كما

وتعمل مادة Allylpropyl disulphide على تقليل تركيز السكر بالدم وزيادة الانسولين [2] اما مادة Allicin و Allistatin 1 و Allistatin 2 فتمتلك خصائص مؤثرة ضد البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام وذلك لتفاعلها مع SH- enzyme [5] حيث تظهر قوة (1%) من البنسلين ضد البكتريا والفايروسات والفطريات والطفيليات [7] اضافة لتثبيطه لبكتريا *Salmonella typhosa* و *Shigella dysentria* وجميع الانواع المرضية في تجارب خارج الجسم الحي in vitro [9,8] كما استخدم الثوم كمادة مضادة لسرطان المعدة والكبد [11,10] .

اجري عدد من الاختبارات الكيموحيوية وفق ماورد في [12] .

تقدير الفعالية التضادية لمستخلص الثوم تجاه البكتريا :

اخذت اربعة سلالات من البكتريا هي *Escherichia coli* ، *Pseudomonas fluoresenc* ، *Streptococcus faecalis*، *Bacillus subtillis* شخصت هذه السلالات في قسم التقنيات الاحيائية / كلية العلوم / جامعة بغداد / العراق . اخذت المزارع البكتيرية الاربعة وزرعت في وسط السائل المغذي وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة في الحاضنه لتنشيط العزلة ثم اخذت انابيب حاوية على وسط على 5مل من وسط السائل المغذي عقمت الانابيب ثم اضيف لكل منها 0.1 من العالق البكتيري بعد تحديد عدد الخلايا البكتيرية بشكل تقريبي حيث كان عدد البكتريا 1.5 $\times 10^8$ خلية/مل والذي يعطي طيف امتصاص مقداره (0.2) عند قياسه بجهاز المطياف الضوئي

بطول موجي مقداره 600 نانوميتر . تم اضافة 0.1 مللتر من التخافيف (1،2،4،6،8) ملغرام/ مللتر من المستخلص المخفف بالماء المقطر للانابيب الحاوية على وسط مغذي سائل مع ترك انبوبة واحدة دون اضافة المزروع البكتيري معاملة سيطرة لكل نوع من السلالات البكتيرية الاربعة التي سبق ذكرها ثم حضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة وتم فحص العكورة الناتجة على طول موجي 600 نانوميتر ومقارنتها بانبوبة السيطرة لكل نوع من البكتريا .

التحليل الاحصائي

حللت النتائج احصائيا باستخدام . (SPSS) Version 11.5

النتائج

اظهرت النتائج فعالية مستخلص الثوم كمضاد بكتيري لانواع البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام حيث ثبطت نمو العزلات البكتيرية *Escherichia coli* ، *Pseudomonas fluoresenc* ، *Streptococcus faecalis* ، *Bacillus subtillis* وكما موضح في جدول(1).

جدول (1): تأثير مستخلص الثوم على نمو البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام .

سلالات البكتريا	الطيف الضوئي (600)نانوميتر					
	تركيز مستخلص الثوم ملي غرام /مليلتر					
	1	2	4	6	8	السيطرة
Escherichia coli	0.53 ±0.015	0.49 ±0.005	0.3 ± 0.005	0.28 ±0.005	0.25 ±0.004	0.52 ±0.005
Pseudomonas fluoresenc	0.35 ± 0.005	0.3 ± 0.01	0.3 ± 0.011	0.27 ± 0.005	0.27 ±0.004	0.33 ±0.050
Streptococcus faecalis	0.55 ± 0.005	0.54 ± 0.004	0.42 ± 0.003	0.42 ± 0.011	0.4 ± 0.004	0.54 ± 0.004
Bacillus subtillis	0.4 ± 0.010	0.39 ± 0.004	0.27 ± 0.005	0.25 ± 0.004	0.2 ± 0.002	0.39 ± 0.003

E.coli : اشارت النتائج الى فعالية مستخلص الثوم كمضاد للبكتريا حيث نلاحظ ذلك في التركيز 2 ملغرام/مللتر وكانت النتيجة (0.005 ± 0.49) مقارنة بالسيطرة التي كانت (0.005 ± 0.52) وكما موضح في جدول (1) كما ان نقص اعداد البكتريا الحية في التركيز 4 ملغرام/مللتر مقارنة بالسيطرة التي كانت 2.6× 10^8 شكل (1) حيث كان التركيز المثبط الادنى 2 ملغرام/مللتر لمستخلص الثوم لبكتريا الـ *E.coli* *ملغرام*/مللتر حيث بلغ عدد الخلايا 1.5× 10^8 خلية

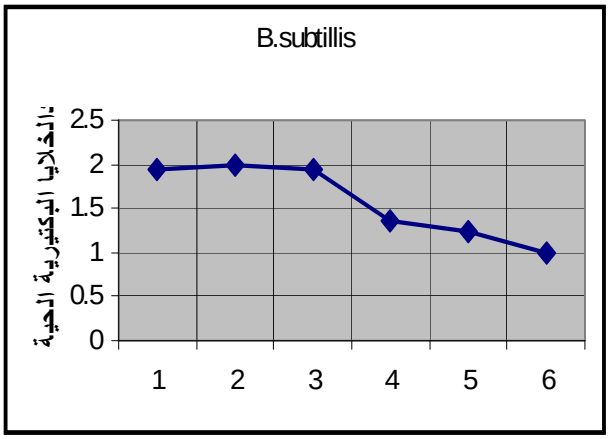
P. fluoresenc: لوحظ من النتائج تأثير مستخلص الثوم على هذه البكتريا حيث تأثرت بتركيز 2 ملغرام/مل وكانت النتيجة (0.01 ±0.3) بينما كانت السيطرة (0.050 ± 0.33) كما يلاحظ حدوث نقص في عدد الخلايا الحية حيث كانت السيطرة 1.65× 10^8خلية /مل واصبحت بتركيز 2 ملغرام/مللتر 1.5 ×10^8 خلية/مل وهو التركيز المثبط الادنى لهذه البكتريا وكما موضح في شكل (1) .

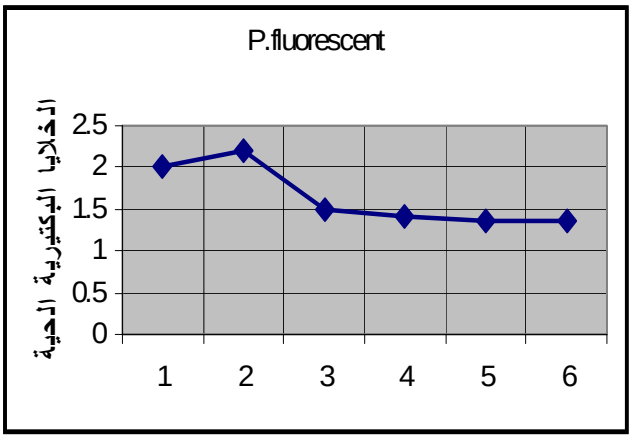
St. faecalis : لوحظ من جدول (1) تأثرها بالمستخلص بتركيز 4 ملغرام/مللتر حيث كانت (0.003 ± 0.42) مقارنة بالسيطرة ± 0.54)

(0.004 أي تاثرها بتركيز اعلى من النوعين السابقين اما عدد الخلايا فتناقص بتركيز 4 ملغرام/ مللتر واصبح 2.1× 10^8 خلية/مل مقارنة بالسيطرة 2.7×10^8 خلية/مل وهو التركيز المثبط الادنى كما موضح في شكل (2) .

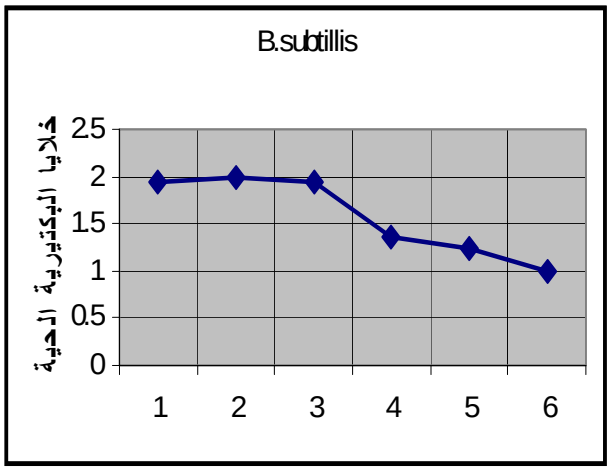
B. subtillis : فيلاحظ تأثرها بتركيز 4 ملغرام/ مللتر حيث كانت (0.005 ± 0.27) مقارنة بالسيطرة التي كانت (0.003 ± 0.39) وانخفاض اعداد الخلايا الحية من 1.95× 10^8 خلية/مل في السيطرة الى 1.35 ×10^8 خلية/مل بتركيز 4 مللغرام/مليلتر من المستخلص وهو التركيز المثبط الادنى كما موضح في شكل (2) .

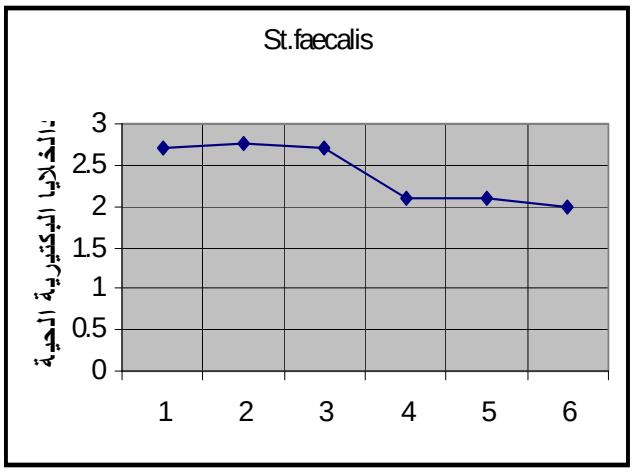
شكل (1) تأثير مستخلص الثوم على اعداد البكتيريا السالبة لصبغة كرام





شكل (2) تأثير مستخلص الثوم على اعداد البكتيريا الموجبة لصبغة كرام





المناقشة

لوحظ من النتائج السابقة تأثر البكتريا السالبة لصبغة كرام *E.coli* ، *P.fluoresenc* حيث تأثرت بتركيز قليل من مستخلص الثوم وهو 2 ملغرام/ مللتر بينما كانت البكتريا الموجبة لصبغة كرام اكثر مقاومة للمستخلص حيث تأثرت بتركيز اعلى وهو 4 ملغرام/مللتر *St. faecalis* ، *B. subtillis* لذا كان التركيز المثبط الادنى للبكتريا الموجبة لصبغة كرام اعلى من البكتريا السالبة لصبغة كرام ويعزى سبب فعالية مستخلص الثوم الى احتوائه على القلويدات ، الصابونينات ، التربينات والتانينات [14] حيث تعمل التربينات كمضاد للبكتريا ، الفايروسات ، الفطريات والابتدائيات [15] .

اما القلويدات فآلية عملها تتلخص بايقاف تصنيع الاحماض النووية في الخلية الحية المجهرية وذلك من خلال تثبيط عمل انزيم co-enzyme التي تنتجها الخلية البكتيرية [16] .

ان تأثير الصابونينات يعود الى ازالة اغشية الاحياء المجهرية حيث يعمل على تحليل الخلايا الحية [17]

اما التانينات فتعمل على تثبيط الانزيمات والبروتينات الناقلة الموجودة في غشاء الخلية والتصاق الخلايا المجهرية [18] . من ناحية اخرى فهناك اربع اساليب لفعالية المستخلصات النباتية الخام المختلفة ويمكن تصنيفها كالاتي : تثبيط تكوين الجدار الخلوي المايكروبي ، تثبيط التصنيع الحيوي لبعض البروتينات الاساسية ، ايقاف العمليات الايضية للحامض النووي (DNA) وتغيير الوظائف الطبيعية للغشاء الخلوي [19] .

كما يمتاز مستخلص الثوم بكونه ذو تأثيرات جانبية قليله ومضاد للبكتريا وقليل السمية اضافة الى سهولة الحصول عليه وسهولة تحضيرة وثباتيته العالية [20] . اما الاختلاف في تأثير مستخلص الثوم على البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام فتعزى الى الاختلاف في تركيب غشائها الخلوي اضافه الى احتواء البكتريا الموجبة لصبغة كرام على الغشاء الخارجي outer membarian مما يؤدي الى قلة تأثرها اومقاومتها لمستخلص الثوم [21] .

المصادر :

1. شرباش محمود توفيق محمد (1996) تكنولوجيا الاشعة في الاغذية الزراعية جامعة الدول العربية –المنظمة العربية للتنمية الزراعية والهيئة العربية للطاقة الذرية –الخرطوم .
2. Newall, C.A.; Anderson, L. A. and Phillipson, J.D.(1996). Herbal medicines,Aguide for health- care professional. London-The pharmaceutical press.
3. Gruenwald,J.; Brendler, F.and Jaenicke, C.(1998). PDR-for herbal medicines. 1st ed. Medical Economics company.
4. Tsao,S.M.; Yin, M. C. (2001). Invitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and chinese leek oils. J. Med. Microbial, 50: 646-649.
5. Cruichshank, R. and Duguid, J.P.(1999). The practic of medical microbiology. 12th ed. Vol.11, Edinburgh; churchillliving stone, London, New York.

6. محمد سامي هاشم ومحمود مهند جميل (1988) النباتات والاعشاب العراقية _بين الطب الشعبي والبحث العلمي . مطابع دار الثورة /بغداد .

7. Al-Delaimy, Kh. S. and Barakat, M.M. (1971) Antimicrobial and preservative activity of garlic on fresh ground camel meat. J. Sci. Fd Agric.,22:96-98.

8. Holt, J.G. ; Krieg, N.R. and Williams, S.T.(1994) . Bergeys Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins, U.S.A.

9. Al Delaimy, Kh. S. and Ali, S. H.(1970). Antibacterial of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria. J.Sci. Fd Agric., 21:110-112.

10. Moss ,R.W.(1993) . Enzyme in garlic may protect against liver cancer. Cancer chronicles.

11. Yarnell, E.(1999) . Garlic continuing education module. Natural healing track.New Hope Institute (NHI).

12. Ueda, Y.and Sakaguchi, M. (1995). Charocterstic flavor consyituents in water extract of garlic. Agric. Biol. Chem. 59:163-169.

13. العكيلي عدنان حنون . (2002) دراسة تأثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في اصابات الحروق . كلية العلوم /الجامعة المستنصرية .

14. Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews , 12(4) : 564-582.

15. Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley,J.T. and Willims,S.T.(1994). Gram-negative aerobic / microaerophilie rods and cocci pp.79-150. In Bergeys manual of determinative bacteriology.9th ed. Williams and Wilkins, USA.

16. البالاني ماجد رشيد (2003) تأثير المستخلصات النباتية الخام وقلويد الفازيسين لنبات حلق السبع الشجيري على بعض الجراثيم المرضية.

17. قطب حسين فوزي (1979) النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها . الدار العربية للكتاب ليبيا – تونس .

18. Cowan , M.M. (2000) . Plant product as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 15:112-115.

19. Tsao, S. M. and Yin, M.C. (2002) . In vitro antimicrobial activity of plant extracts. J.Med. Microbial. 14th ed . vol. 15: 25-30.

20. Taylor, D. and Holl, K.T. (1998). Aminoacid requirements for the growth and production of some exocellular products of *E.coli* . J. of Applied Bacteriology, 66:319-329.

21. Collee, G. J.; Fraser, A.G. and Simmons, A. (1998). Partical medical microbiology 18th ed. , Churchill Living Stone, Singapore.