

الفعالية المضادة للجراثيم لبعض الزيوت العطرية

راما أحمد عزيز*

الملخص

لتقييم الفعالية المضادة للجراثيم لأربعة أنواع من الزيوت العطرية (إكليل الجبل ، الميرمية، الزعتر السوري، والزعتر الأخضر) تجاه خمس سلالات جرثومية، تم استخلاص الزيت العطري بطريقة التقطير البخار، وتم التعرف على المكونات الأساسية للزيوت العطرية وتركيزها بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا الغازية Gas chromatography (GC)، والكروماتوغرافيا الغازية المزود بمطياف الكتلة GC Mass spectrometry (GC-MS). بعدها تم اختبار الزيوت العطرية على أربع سلالات جرثومية سالبة غرام وسلالة واحدة موجبة غرام بأربعة تركيزات مختلفة باستخدام طريقة الأقراص الورقية وتحديد منطقة التثبيط. أظهرت غالبية الزيوت العطرية فعالية متباينة تجاه السلالات الجرثومية المدروسة تبعاً لتراكيزها.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل، مريمية، زعتر سوري، زعتر أخضر، زيت عطري، مكونات الزيت العطري، فعالية مضادة للجراثيم.

* أستاذ مساعد، قسم علوم البستنة، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق سورية.

Antibacterial activity of some essential oils

Dr. Rama Aziz*

Abstract

To evaluate the antibacterial activity of four plant essential oils (*Rosmarinus officinalis*, *Salvia fruticosa*, *Thymus syriacus*, *Thymus serpyllum*), against five bacterial strains. The selected essential oils were extracted by steam distillation method, and the main active constituents of the essential oils and their concentrations were determined by using Gas Chromatography and GC Mass spectrometry. the essential oils were screened against four Gram-negative bacterial strains and one Gram-positive bacterial strains at four different concentrations using disc diffusion method. Majority of the oils showed different antibacterial activity against the tested strains according to their concentration.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, *Salvia fruticosa*, *Thymus syriacus*, *Thymus serpyllum*, Essential oil, Oil components, Carvacrol, Antibacterial activity.

* Assistant Prof. Dep. Horticulture, Fac. Agric. Damascus Univ.

المقدمة

شهدت العقود الأخيرة من هذا القرن اهتماماً متزايداً بالنباتات الطبية والعطرية، وبخاصة تلك التي تحتوي على الزيوت العطرية. وذكر Prabuseenivasan وزملاؤه (2006) أن التفكير العلمي قد اتجه في السنوات الأخيرة لعلاج الكثير من الأمراض عن طريق استعمال الأعشاب، ويعود السبب في ذلك إلى التأثيرات الجانبية للمركبات الكيميائية الدوائية، وإن كانت ذات فعالية علاجية كبيرة، إلا أنها أظهرت خطورة على صحة الإنسان وانتشار الكثير من الأمراض المزمنة، بسبب تأثيراتها الجانبية التي لا تظهر إلا على المدى البعيد، بالإضافة إلى ارتفاع أسعار الأدوية الكيميائية، كل هذه العوامل أدت إلى توجه الدول النامية لاستعمال الأعشاب الطبية، وذلك للتوفير من استيراد هذه الأدوية وبالتالي دعم الاقتصاد الوطني لتلك البلدان. وأورد Lis-Balchin و Deans (1997) أن المواد الدوائية ذات المنشأ الطبيعي أصبحت تحتل مركز الصدارة بين جميع المستحضرات الدوائية المستعملة في الوقاية والعلاج، والقسم الأعظم منها مُحضّر من مصادر نباتية.

ومن المعلوم أن الزيوت العطرية Essential oils تتوافر في العديد من الفصائل النباتية، وبخاصة الفصيلة الشفوية Labiateae، التي تحتوي على العديد من الأجناس ذات القيمة الاقتصادية المرتفعة في إنتاج الزيوت الطيارة. أجريت في السنوات الماضية العديد من الدراسات في دول مختلفة لإثبات كفاءة وفعالية الزيوت العطرية للنباتات الطبية كمضادات جرثومية. فكانت تجارب Kim وزملائه (1995) حول فعالية بعض المكونات الأساسية للزيوت العطرية على مجموعة من السلالات الجرثومية، أثبتت النتائج فعالية مركبات الكارفاكروول، والجيرانبول، والسيترال، والسيترونيلال والليمونين تجاه السلالات الجرثومية التالية: *Salmonella typhimurium*, *Vibrio vulnificus*, *Listeria monocytogenes*. كانت هذه النتائج بشكل عام لدراسة فعالية مركبات الزيوت ولم يتم تحديد الأنواع النباتية المأخوذة منها. وفي دراسة أخرى أجراها Nascimento وزملاؤه (2000) لتقييم فعالية الزيوت والمركبات الكيميائية في مقاومة الجراثيم، حيث استعمل فيها عدة أنواع نباتية للحصول على نتائج أكثر موضوعية، وكانت الأنواع المدروسة هي: الزعتر الشائع (*Thymus vulgaris* L.)، وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.)، والمريمية (*Salvia officinalis* L.)، والريحان (*Ocimum basilicum* L.)، حيث تمت دراستها على سلالات جرثومية سالبة وموجبة غرام، وقد أظهرت النتائج أن الزيوت العطرية لها فعالية كبيرة كمركبات مضادة للجراثيم، وبالتالي يمكن استعمالها في معالجة الأمراض المعدية التي سببها جراثيم مقاومة، وهناك إمكانية لاستعمال مثل هذه الزيوت إذا كانت المضادات الحيوية فعالة بمفردها أثناء المعالجة.

وفي دراسة قام بها Sartoratto وزملاؤه (2004) حول النشاط والتركيب المضاد للميكروبات من الزيوت المستخلصة من النباتات العطرية المستعملة في البرازيل، حيث تم الحصول على الزيوت العطرية من الأجزاء الهوائية للأصناف التالية:

Aloysia, *O. applii*, *Origanum vulgare*, *M. spicata*, (*Thymus vulgaris*, *Mentha piperita* *triphyllo* (*Ocimum gratissimum*, *O. basilicum*). وقد استعملت هذه الزيوت كمضاد جرثومي، وكانت معظمها فعّالة تجاه جراثيم *Enterococcus faecium* و *Salmonella cholerasui*.

وتُعد المريمية من النباتات الطبية المهمة، والتي تمّ التأكيد على فعّاليتها من خلال دراسة أجراها Longaray وزملاؤه (2005)، وتبين أنّ الزيت العطري لنوعي المريمية *Salvia Salvia triloba officinalis* قد أبدى فعّالية ملحوظة في إيقاف نشاط بعض أنواع الجراثيم مثل *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium*, *Bacillus subtilis*, (*Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas sobria*, *Klebsiella oxytoca*)

وكذلك تمّ إثبات فعّالية كلٍ من النعناع الفلفلي والزعتر ضد *Staphylococcus aureus* وغيرها من السلالات الجرثومية، مثل *Escherichia coli* و *Candida albicans*، في بحثٍ قام به Yadegarinia وزملاؤه (2006) عن تأثير النعناع والزعتر كمضاداتٍ جرثومية، وكانت فعّالية زيت الزعتر أكبر من فعّالية زيت النعناع.

وفي بحثٍ آخر قام به Vukojevi وزملاؤه (2009) على نباتي النعناع والزعتر، تبين أنّه من الممكن أن يستعملوا كمادة طبيعية حافظة للغذاء ومضادة للميكروبات. كما اختبرت أيضاً فعّالية أنواع مختلفة من الزيوت العطرية المستخلصة من نباتات المريمية والنعناع والزوفا والأقحوان والأوريغانوم تجاه عدة أنواع من الجراثيم السالبة غرام وأنواع من الجراثيم الموجبة غرام، ووجد Marino وزملاؤه (2000) بأنّ الزيوت العطرية لنباتات المريمية، والنعناع، والزوفا والأقحوان كان لها تأثير في وقف نمو الجراثيم، أمّا الزيت العطري للأوريغانوم فقد أظهر تأثيراً قاتلاً للجراثيم بتركيز أعلى من 400 ppm وذلك بسبب محتواه المرتفع من الفينولات Phenolics والفعّالية الأكبر كانت تجاه جرثومة *Escherichia coli*. وبما أنّ الجراثيم لها قدرة وراثية لاكتساب المقاومة للعقاقير المستعملة كعوامل علاجية، وإنّ هذه المشكلة تزداد لذلك يجب تفاديها، ووفقاً لمنظمة الصحة العالمية ستكون النباتات الطبية أفضل مصدر للحصول على تشكيلة واسعة من العقاقير القادرة على القضاء على مثل هذه الجراثيم الضارة.

ونظراً لأهمية نباتات الفصيلة الشفوية، أجريت هذه الدراسة على بعض الأنواع المهمة في هذه الفصيلة التي تنمو بشكلٍ عفوي في سورية، حيث أجريت الدراسة على مجموعة من الأنواع النباتية لتحديد المكونات الأساسية للزيوت العطرية المستخلصة من هذه النباتات، ولدراسة تأثير هذه الزيوت العطرية على بعض السلالات الجرثومية القياسية.

يهدف البحث إلى تحديد المكونات الأساسية للزيوت العطرية المستخلصة من بعض الأنواع النباتية الطبية التابعة للفصيلة الشفوية والمنتشرة بريا في سورية، ودراسة فعالية زيوتها العطرية على سلالات جرثومية قياسية مختلفة وواسعة الانتشار.

المواد وطرائق العمل

1- المادة النباتية: أجرى البحث خلال عامي 2012-2013، وشملت المادة النباتية المدروسة 4 أنواع من النباتات الطبية والعطرية، التي تتميز بأهميتها الطبية واستعمالاتها الصيدلانية، وهي: نباتات إكليل الجبل (*Rosmarinu officinali* L.) (دمشق، الصبورة)، والمريمية (*Salvia fruticosa* L.) (طرطوس، القموس)، والزعرتر السوري (*Thymus syriacus* L.) (حماء، مصياف)، والزعرتر الأخضر (*Thymus serpyllum* L.) (حمص، حسياء)، التابعة للفصيلة الشفوية (Lamiaceae = Labiateaa).

جمعت أوراق وأزهار النباتات المدروسة من مواقع انتشارها البرية (3 عينات من كل نوع في المواقع المدروسة)، خلال مرحلة الإزهار الأعظمي في شهر حزيران في الصباح الباكر، وجففت العينات تجفيفاً طبيعياً في مكانٍ ظليلٍ مهوى بعيداً عن الرطوبة، وحُفظت إلى حين إجراء التحليل

1-2 استخلاص الزيت العطري: تم استخلاص الزيت العطري بواسطة جهاز تقطير زجاجي لاستخلاص الزيوت العطرية حسب المقاييس المعتمدة من قبل دستور الأدوية البريطاني لعام 1993 (1993 British pharmacopoeia)، بوضع 200 غ من العينة الجافة في جهاز التقطير وأضيف لها 2000 مل ماء مقطر مع استمرار عملية التقطير مدة 3 ساعات، استخلص خلالها القسم الأعظم من الزيت العطري، ثم بعد ذلك حفظ الزيت المستخلص في عبوات زجاجية معقمة داكنة اللون، وأضيف له كبريتات الصوديوم اللامائية، وحفظت العبوات على درجة حرارة منخفضة (4 م°) لحين إجراء التحاليل المطلوبة.

2- 1- مكونات الزيت العطري Essential oil components: استخدمت في السنوات الأخيرة تقنية الكروماتوغرافيا الغازية Gas Chromatography لتعريف المكونات الأساسية لكل زيت عطري تحت الدراسة بالاعتماد على زمن الظهور Retention time وتحديد تراكيزها.

وقد تم إجراء التحليل الكيفي باستعمال نقانة الكروماتوغرافيا الغازية / مطيافية الكتلة GC-MS، واستعمال عمود من نوع BPX5 بطول 60 م، قطر 0.32 مم وفقاً للبرنامج الحراري 60 درجة مئوية مدة 3 دقائق في بداية التحليل، ثم رفعت بمعدل 10 درجة مئوية حتى الوصول إلى 290 درجة مئوية ومدة 20 دقيقة. أما التحليل الكمي، فقد تم باستعمال جهاز GC من شركة Shimadzo واستعمال عمود بطول 30 م، قطر 0.32 مم، وسماكة الطبقة 0.5 ميكروميتر وفقاً للبرنامج الحراري 60 درجة مئوية مدة 2 دقيقة في بداية التحليل، ثم رفعت بمعدل 2 درجة مئوية حتى الوصول إلى 190 درجة مئوية ومدة 5 دقائق.

الفعالية المضادة للبكتريا

- 3-1- السلالات البكتيرية:** استعملت 5 سلالات جرثومية ممرضة موجبة وسالبة غرام لدراسة فعالية الزيوت العطرية المدروسة المضادة للجراثيم وكالتالي: الجراثيم سالبة غرام: *E. coli* ATCC No (8739)، *Klebsiella pneumonia* ATCC No (13311) معزولة من مريض، حُدثت هويتها باختبارات API_{20} ، *Pseudomonas aeruginosa*. وقد استعملت سلالة واحدة من الجراثيم موجبة غرام هي (*Staphylococcus aureus* ATCC No (6538)
- 3-2- البيئات المستعملة:** استعمل الوسط المغذي موللر- هينتون Muller – Hinton المتوافر تجارياً والمدعم بالشوارد الموجبة (من أملاح المغنسيوم Mg أو الكالسيوم Ca) أي المثبت بشاردة موجبة CAMHA Muller – Hinton Agar Cation – Adjusted
- 3-3- طريقة تحضير أطباق بتري المحتوية على الجرثوم المدروس:** تم تحضير معلقات جرثومية بكثافة 0.5 Mc F. (0.5 مكافارلند) لكل 10 مل من الوسط المغذي، أُضيفت للوسط المغذي المُعقَّم والمصهور بدرجة حرارة 42-45°م، وبعد مجانسة الوسط جيداً وُزِع على أطباق بتري وترك ليتصلب (أي تم استعمال المزرعة متساوية التوزيع)، حيث أن 0.5 Mc F تعادل $10^8 \times 1.5$ خلية جرثومية. وقد تم استعمال جهاز مكافارلند Mc. Farland المصمّم خصيصاً لقراءة المعلقات الجرثومية وتقدير عدد الخلايا الجرثومية في الوسط السائل وطريقة مكافارلند مأخوذة من اللجنة الوطنية للمواد القياسية للمخابر السريرية الطبية لعام 1990 وهي المواد القياسية (الشاهد) لاختبار الحساسية بالأقراص (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1990)
- 3-4- طريقة تحضير العامل المضاد للنمو الجرثومي:** تم تحضير تمديدات متسلسلة مزدوجة من الزيوت العطرية المدروسة مع استعمال زيت البارافين المعقَّم لأنه لا يؤثر في نمو الجراثيم، وهي كالتالي:
- التركيز الأول 50% (2/1): يحوي 50% من الزيت + 50% من زيت البارافين المُعقَّم.
- التركيز الثاني 25% (4/1): يحوي 25% من الزيت + 75% من زيت البارافين المُعقَّم.
- التركيز الثالث 12.5% (8/1): يحوي 12.5% من الزيت + 87.5% من زيت البارافين المُعقَّم.
- التركيز الرابع 6.25% (16/1): يحوي 6.25% من الزيت + 93.75% من زيت البارافين المُعقَّم.
- 3-5- طريقة إجراء اختبارات الحساسية:** تم وضع أقراص ترشيح مُصنّعة تجارياً قَطرها 0.6 سم Filter paper disk بعد أن شُرِّبت بالعامل المضاد لنمو الأحياء الدقيقة بالتراكيز المحددة سابقاً (50%-25%-12.5%-6.25%) على سطح طبق بتري الحاوي على الجرثوم المدروس، وتم عمل 3 مكررات من المعلق الجرثومي الواحد (3 أطباق بتري من كل جرثوم) لكل عينة زيت، ووضع على سطح كل طبق أربعة أقراص مُشربة بالعامل المضاد مختلفة التركيز. ثم حُضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م مدة 24 ساعة.

النتائج والمناقشة

1- المكونات الأساسية للزيوت العطرية المستخلصة من الأنواع المدروسة:

يختلف تركيب الزيوت الطيارة بشكل عام تبعاً للنوع ومرحلة النمو الفيزيولوجية والمعطيات البيئية المحيطة بالنوع. ويهدف دراسة تركيب الزيت العطري، تم الحصول على الزيت العطري من النباتات المدروسة بالتقطير البخاري، ومن ثم تمت دراسته باستعمال تقانة كل من جهازي الـ GC و C-MS.

يظهر الجدول رقم (1) المكونات الأساسية في الزيوت العطرية للأنواع المدروسة التي أمكن تحديدها باستعمال تقانتي GC و GC-MS.

يتضح من خلال الجدول أن الزيت العطري المستخلص من نبات إكليل الجبل يتكون بشكل أساسي من مركب الكامفور Camphor، وقد شكلت نسبته 37.47% من الزيت العطري، كما لوحظ وجود مركب البورنيول Borneol بنسبة 12.9%، ومركب السينيول Cineol بنسبة 9.61%، بالإضافة إلى مجموعة من المركبات المهمة، وقد توافقت ذلك مع ما ذكره كل من Fadel و Massry (2000) و Penalver وزملائه (2005). وقد أمكن تحديد مجموعة من المكونات شكلت ما نسبته 81.56% من الزيت العطري.

كما يوضح الجدول رقم (1) المكونات الأساسية للزيت العطري المستخلص من نبات الميرمية باستعمال تقانة GC و GC-MS. ويتضح من خلاله أن مركب السينيول Cineol شكل المكون الأساسي في الزيت العطري، حيث كانت نسبته 42.98%، يليه الميرسين (7.95% Myrcene)، ثم بيتا باينين β -pinene (5.07%)، والثوجون Thujol (5.61%)، والكامفور Camphor (4.88%)، والكاريوفيللين Caryophyllene (5.10%)، والبورنيول Borneol (4.55%)، والفاباينين α -pinene (4.88%). ومن الواضح وجود بعض المركبات ذات النسب البسيطة مثل مركب الكامفين Camphene وألفا ترينينين α -terpinene والباراسيمين P-cymene والبورنيول أسيتات Bornyl acetate. وقد كان إجمالي ما تم تحديده من المكونات 81.58% من الزيت العطري. وقد توافقت نتائج الدراسة مع النتائج التي حصل عليها Muller وزملاؤه (1997) عند تحليل الزيت العطري لنبات الميرمية (*S. fruticosa*) النامي برياً في تركيا بواسطة جهاز GC، حيث تبين أن الزيت العطري يتكون بشكل أساسي من المواد الأكسجينية أحادية الترئين، وهو 8,1 سينول، وأن أفضل موعد للجمع هو خلال مرحلة الإزهار الأعظمي للحصول على أفضل مكونات للزيت العطري. كما توافقت النتائج أيضاً مع ما ذكره Blumenthal (2000) أن الزيت العطري المستخلص من نبات الميرمية للنوع (*S. fruticosa*) يتكون بشكل أساسي من 8,1 سينول.

ويتضح من خلال الجدول رقم (1) المكونات الأساسية للزيت العطري المستخلص من نبات الزعتر السوري (*Thymus syriacus* Boiss)، وقد أمكن تحديد النسب المئوية لنحو 14 مركباً، وقد شكلت هذه المكونات ما نسبته 83.38% من الزيت، وشكلت ثلاثة مركبات

أساسية هي الكارفاكرول Carvacrol والثيمول Thymol والباراسيمين P-cymene النسبة العظمى من الزيت، فقد كانت نسبة الكارفاكرول Carvacrol 1.69 %، والثيمول Thymol 59.09 %، والباراسيمين P-cymene نحو 7.33 %، بالإضافة إلى وجود مركبات ألفا باينين- α pinene (1.54 %)، وكامفين Camphene (0.39 %)، وبيتا باينين β -pinene (0.35 %)، وميرسين Myrcene (2.04 %)، وألفا ترابينين α -terpinene (1.93 %)، وسينيول Cineol (1.26 %)، والليمونين Limonene (1.36 %)، وبورنيول Borneol (0.79 %)، وكاريفيللين Caryophyllene (1.93 %). وقد توافق ذلك مع النتائج التي حصل عليها Chorionopoulos وزملاؤه (2004).

ويوضح الجدول رقم (1) أيضاً المكونات الأساسية للزيت العطري المستخلص من الزعتر الأخضر (*Thymus serpyllum* L.)، ويتبين من خلال الجدول أنّ المكونات الأساسية للزيت العطري كانت الثيمول Thymol والكارفاكرول Carvacrol وتشكل مانسبته 6.49 و 65.99 % من نسبة الزيت على التوالي. وقد توافقت نتائج الدراسة مع النتائج التي حصل عليها كل من Avetisyan وزملائه (1988) ; Banaeva وزملائه (1998) ; Loziene وزملائه (1998) ; Azaz وزملائه (2004) ; Raal وزملائه (2004)، عند تحليل الزيت العطري لنبات الزعتر الأخضر، حيث تبين أنّ الزيت العطري يتكون بشكل أساسي من الكارفاكرول Carvacrol

الجدول رقم (1): المكونات الأساسية (%) للزيت العطري المستخلص من الأنواع المدروسة

باستعمال تقاّنتي GC / MS

Thymus serpyllum	Thymus syriacus	Salvia fruticosa	Rosmarinus officinalis	الأنواع	
				المكونات الأساسية	RT
0.70	1.54	4.48	2.46	8.100	α -pinene
0.14	0.39	0.77	2.32	8.668	Camphene
0.19	0.35	5.07	1.12	9.993	β -pinene
0.65	2.04	7.95	1.78	10.583	Myrcene
0.24	1.93	0.51	1.87	12.100	α -terpinene
7.54	7.33	0.83	-	12.283	P-cymene
0.23	1.26	42.98	9.61	12.738	Cineol
0.15	1.36	اثر	3.24	12.870	Limonene
-	-	5.167	-	17.167	Thujone
0.25	اثر	اثر	1.43	17.600	Linalool
-	-	4.88	37.74	19.317	Camphor
0.31	0.79	4.55	12.6	20.767	Borneol

-	0.23	0.15	-	22.933	Linalyl acetate
0.22	3.46	0.15	5.96	23.483	Bornyl acetate
6.49	59.09	-	-	23.900	Thymol
65.99	1.69	-	-	24.133	Carvacrol
0.24	1.93	5.1	-	25.883	Caryophyllene
83.22	83.38	81.58	81.56		المجموع

Rt: Retention time

2- تقييم فعالية المضادات الجرثومية في الزيت العطري للأنواع المدروسة: تم تقييم الفعالية المضادة للجراثيم باستعمال طريقة Paper disc infusion، وتم قياس قطر هالات عدم النمو لتحديد الحساسية وحددت النتائج وفق ما يلي: سلالات ذات حساسية مرتفعة (S) Susceptible (قطر الهالة أكبر من 12 ملم)، وسلالات ذات حساسية متوسطة (I) Intermediate (قطر الهالة 12 ملم أو أصغر)، وسلالات مقاومة (R) Resistant (عدم ظهور هالة)، فكانت النتائج على الشكل التالي كما هو موضح في الجداول (2،4،3،2) والأشكال (1،3،2،4):

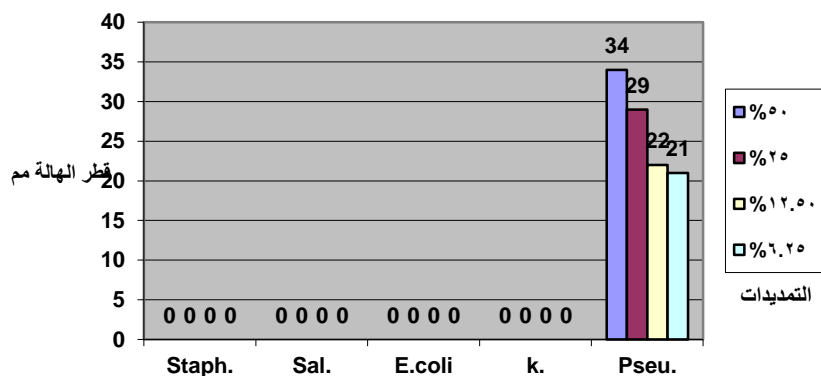
يظهر الجدول رقم (2) والشكل رقم (1) أن الزيت العطري لنبات إكليل الجبل كان فعالاً تجاه جرثومة *P. aeruginosa* وبكافة التراكيز المدروسة، في حين أنه لم يؤثر في بقية السلالات في التراكيز المختلفة، فقد كانت هذه السلالات مقاومة. وقد توافقت ذلك مع ما ذكره Mounchid وزملاؤه (2003)؛ Bozin وزملاؤه (2007)؛ Faleiro وزملاؤه (2010). وقد تعود فعالية الزيت إلى احتوائه على نسبة مرتفعة من مركب الكامفر، إذ وصلت إلى 37.74% من نسبة الزيت العطري.

الجدول رقم (2): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص من نبات

إكليل الجبل بالتراكيز المستعملة

التركيز الرابع %6.25	التركيز الثالث %12.5	التركيز الثاني %25	التركيز الأول %50	زيت إكليل الجبل الجرثوم
S	S	S	S	<i>P. aeruginosa</i>
R	R	R	R	<i>K. pneumonia</i>
R	R	R	R	<i>E.coli</i>
R	R	R	R	<i>Salmonella</i>
R	R	R	R	<i>Staph.aureus</i>

* (S: قطر الهالة أكبر من 12ملم، R: عدم ظهور هالة).



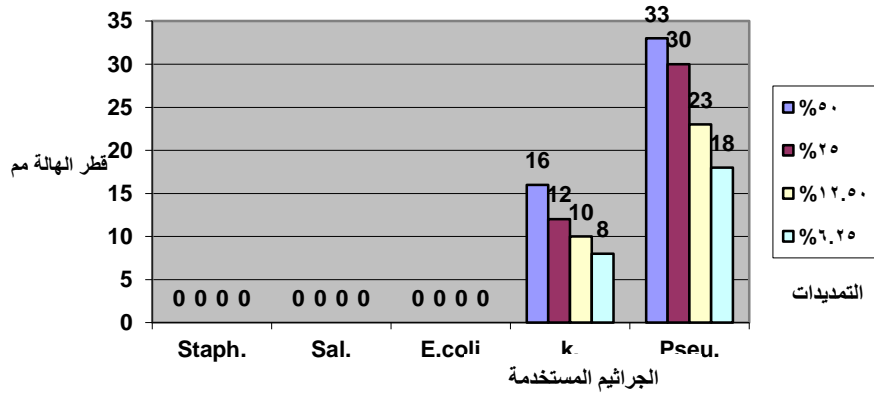
الشكل رقم (1): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص من نبات إكليل الجبل ويتضح من خلال الجدول رقم (3) والشكل رقم (2) أنّ الزيت العطري المستخلص من نبات الميرمية الذي تميز بمحتواه المرتفع من السينيول، الذي وصل إلى ما نسبته 42.98% من الزيت العطري، كان فعالاً تجاه جرثومة *P. aeruginosa*، حيث أظهرت هذه السلالة الجرثومية حساسية تجاه الزيت وبتراكيزه المدروسة كافة، في حين أنّ السلالة الجرثومية *K. pneumonia* كانت حساسة فقط بتركيز 50% تجاه الزيت العطري المستعمل، في حين كانت متوسطة الحساسية تجاه بقية التراكيز المدروسة. أما بقية السلالات الجرثومية المدروسة فكانت مقاومة تجاه التراكيز المدروسة كافة من زيت الميرمية. وقد توافق ذلك إلى حد كبير مع دراسة Bartol و Baricevic (2000)، وكذلك مع دراسة Marino وزملائه (2000) حول جرثوم *E. coli*، وكذلك دراسة Longaray وزملائه (2005) حول فعالية الميرمية الملحوظة في إيقاف نشاط بعض أنواع الجراثيم.

الجدول رقم (3): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص من نبات

الميرمية (*Salvia fruticosa*) بالتراكيز المستعملة

التركيز الرابع %6.25	التركيز الثالث %12.5	التركيز الثاني %25	التركيز الأول %50	زيت الميرمية الجرثوم
S	S	S	S	<i>P. aeruginosa</i>
I	I	I	S	<i>K. pneumonia</i>
R	R	R	R	<i>E. coli</i>
R	R	R	R	<i>Salmonella</i>
R	R	R	R	<i>Staph. aureus</i>

* (S): قطر الهالة أكبر من 12 ملم، I: قطر الهالة 12 ملم أو أصغر، R: عدم ظهور هالة).



الشكل رقم (2): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص من نبات المريمية

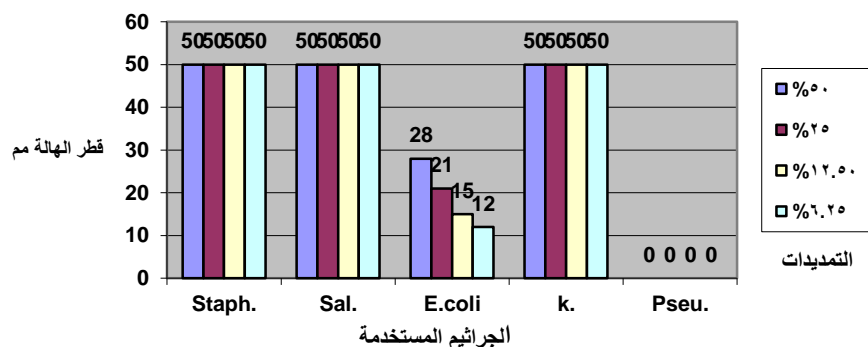
يوضح الجدول رقم (4) والشكل رقم (3) أنّ الزيت العطري المستخلص من نبات الزعتر السوري الذي يُشكل فيه التيمول النسبة العظمى من الزيت، الذي وصل إلى ما نسبته 59.09% منه، كان فعّالاً تجاه معظم السلالات الجرثومية بتركيزه المدروسه كافة، حيث أظهرت السلالات كافة حساسية كبيرة تجاه الزيت العطري بتركيزه المختلفة، وكانت السلالة *E.coli* متوسطة الحساسية عند التركيز الرابع (6.25%)، في حين أنّ السلالة *P. aeruginosa* كانت مقاومة بكافة تراكيزه المدروسة. وقد توافقت ذلك مع مذكره Yadegarina وزملاؤه (2006) حول فعالية نبات الزعتر تجاه جرثيم *P. aeruginosa* و *Staph.aureus* و *E.coli*

الجدول رقم (4): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص من نبات الزعتر

السوري (*T(hymus syriacus)*) بالتركيز المستعملة

التركيز الرابع %6.25	التركيز الثالث %12.5	التركيز الثاني %25	التركيز الأول %50	زيت الزعتر السوري الجرثوم
R	R	R	R	<i>P. aeruginosa</i>
S	S	S	S	<i>K. pneumonia</i>
I	S	S	S	<i>E.coli</i>
S	S	S	S	<i>Salmonella</i>
S	S	S	S	<i>Staph.aureus</i>

* (S: قطر الهالة أكبر من 12ملم، I: قطر الهالة 12 ملم أو أصغر، R: عدم ظهور هالة).



الشكل رقم (3): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص

من نبات الزعتر السوري

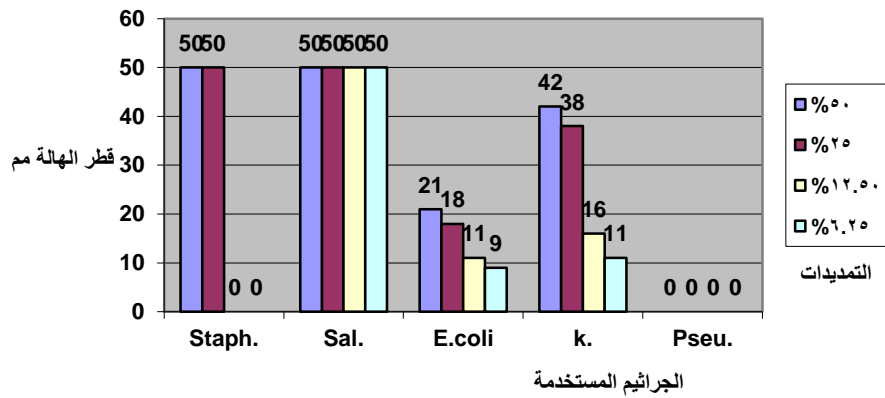
ويتضح من خلال الجدول رقم (5) والشكل رقم (4) أنّ الزيت العطري المستخلص من نبات الزعتر الأخضر الذي شكّل فيه الكارفاكول (نظير التيمول) النسبة العظمى من الزيت العطري، وصلت نسبته إلى قرابة 65.99% منه، كان فعّالاً تجاه معظم السلالات الجرثومية وبمعظم التراكيز المدروسة، حيث أظهرت السلالة *K. pneumonia* حساسية كبيرة تجاه الزيت العطري بتراكيز 50%، 25%، و12.5%، في حين كانت متوسطة الحساسية عند استعمال الزيت العطري بتراكيز 6.25%. وكانت بكتريا *E.coli* حساسة عند التركيز 50 و25% للزيت العطري، ومتوسطة الحساسية عند التركيز 12.25 و6.25%. أما السلالة *Staph. aureus* و *Salmonella* فكانت حساسة عند تراكيزه المستعملة كافة، في حين أنّ السلالة *P. aeruginosa* كانت مقاومة لكافة تراكيزه المدروسة. وقد توافق ذلك مع مآذره Yadegarina وزملاؤه (2006) حول فعالية نبات الزعتر تجاه جراثيم *P. aeruginosa* و *Staph. aureus* و *E.coli*، وكذلك مع مآذره Chorianopoulus وزملاؤه (2004)؛ Azaz وزملاؤه (2004).

الجدول رقم (5): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص من نبات الزعتر

الأخضر *Thymus serpyllum* بالتراكيز المستعملة

التركيز الرابع %6.25	التركيز الثالث %12.5	التركيز الثاني %25	التركيز الأول %50	زيت الزعتر الأخضر الجرثوم
R	R	R	R	<i>P. aeruginosa</i>
I	S	S	S	<i>K. pneumonia</i>
I	I	S	S	<i>E.coli</i>
S	S	S	S	<i>Salmonella</i>
S	S	S	S	<i>Staph.aureus</i>

* (S: قطر الهالة أكبر من 12 ملم، I: قطر الهالة 12 ملم أو أصغر، R: عدم ظهور هالة).



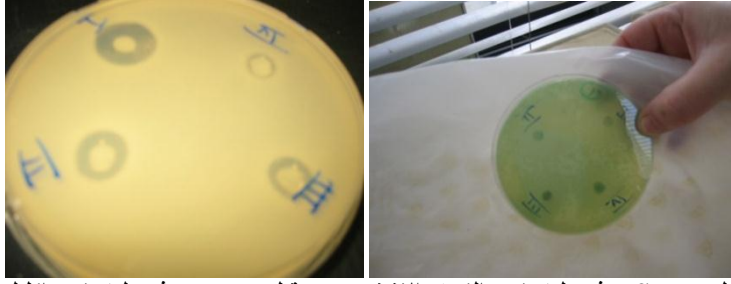
الشكل رقم (4): حساسية السلالات الجرثومية المدروسة للزيت العطري المستخلص من نبات الزعتر الأخضر



صورة لـ Staph. مؤثر عليه بزيت الزعتر الاخضر



صورة لـ Kleb. مؤثر عليه بزيت الزعتر السوري صورة لـ Sal مؤثر عليه بزيت الزعتر الاخضر



صورة لـ Staph. مؤثر عليه بزيت الزعتر الاخضر صورة لـ Pseu. مؤثر عليه بزيت اكليل الجبل

الشكل رقم (5): صور لأطباق بتري بعد إجراء اختبار التحسس

الخلاصة والتوصيات

أثبتت النتائج أنّ الزيوت العطرية المستخلصة من النباتات المدروسة أظهرت تبايناً في فعاليتها المضادة للجراثيم وفق التراكيز المدروسة، وهذا يرتبط إلى حد كبير بتركيز المواد الفعالة في الزيت العطري، الذي يؤدي بدوره دوراً كبيراً في تحديد الفعالية المضادة للجراثيم، الذي يختلف من زيت إلى آخر، وأيضاً ضمن النوع الواحد يختلف تبعاً للموقع المأخوذ منه العينة والفترة التي تمّ بها الجمع. وضمن ظروف الدراسة الحالية والخاصة بمناطق جمع العينات المدروسة، التي وجدت هذه الأنواع تنمو برياً ويكثر في البيئة السورية تمّ الحصول على هذه النتائج التي أظهرت أنّ نبات إكليل الجبل يتميز بمحتواه المرتفع من مركب الكامفور، في حين أنّ المكون الأساسي لزيت المريمية العطري تميز بمحتواه المرتفع لمركب السينيول، أمّا نبات الزعتر فتميز بمحتواه الفينولي المرتفع سواءً الثيمول للزعتر السوري، أو الكارفانول للزعتر الأخضر، الذي كان له الدور الفعال في منع نمو الأحياء الدقيقة لمعظم السلالات الجرثومية وضمن شروط الدراسة، ما يعطي هذه الزيوت قيمة اقتصادية. تعطي هذه النتائج إمكانية استعمال الأنواع المدروسة (إكليل الجبل، المريمية، الزعتر السوري، الزعتر الأخضر) كمصدر تجاري للزيوت العطرية في سورية، بالإضافة إلى إمكانية استعمالها الآمن كمضاد جرثومي في الأغذية.

وبناءً على النتائج السابقة يمكن اعتماد أكثر السلالات الجرثومية حساسية تجاه الزيت المحدد، لدراسة ما إذا كان هذا الزيت قاتلاً لتلك الأنواع أم هو مثبط لنموها فقط وتحديد التركيز الأدنى المثبط والقاتل في حال وجد.

المراجع الأجنبية

- 1- Avetisyan, R. G., L. K. Aslanyants, E. G. Arutyunyan and S. V. Akopyan. 1988. The essential oils of *Mentha longifolia* (L.) Huds. and *Thymus serpyllum* L. Rastitelnye-Resursy, 24: 4, 605 – 610; 12 ref.
- 2- Azaz, A., M. Kurkuoglu and K. Baser. 2004. Composition and the *in vitro* antimicrobial activity of the essential oils from some thymus species. Z Naturforsch, 59 (1 – 2): 75 – 80.
- 3- Banaeva, J.A., L.M. Pokrovsky and A.V. Tkachev. 1998. The composition of the essential oil of *Thymus serpyllum* growing wild in Altai regions. Proceedings of Conference on Natural Products and Phy Substances (ICNPAS – 98), Nov 30– December 3.
- 4- Baricevic, D. and T. Bartol. 2000. The biological / pharmacological activity of the Salvia genus. Hardwood Academic Publishers, pp. Amesterdam, 143 –184.
- 5- Blumenthal, M. 2000. Herbal Medicine. Integrative Medicine Communications, U.S.A.
- 6- Bozin, B., N. Dukic, I. Samojlik and E. Jovin. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 212-217.
- 7- British Pharmacopoeia .1993. Published on the recommendations of the Medicines commission pursuant to the medicines ACT 1968. HMSO, London,165-168.
- 8- Chorianopoulos, N., E. Kalpoutzakis, N. Aligiannis and G. Nychas. 2004. Essential oil of Origanum and Thymus species: Chemical composition and antibacterial activity against foodborne pathogens. Agric. Food Chem, 52 (26): 8261 – 7.
- 9- Fadel H.H.M. and K.F. El-Massry. 2000. *Rosmarin officina* L.: effect of drying on the volatile oil of fresh leaves and antioxidant activity of their extracts. J. Essential Oil Bearing Plants, 3:5-19.

- 10- Faleiro, L., G. M. Miguel, C. Guerrero and J. Brito. 2010. Antimicrobial activity of essential of *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* (L) L. ssp *mastichina* and *Thymus albicans* hofmanns & link . ISHS Acta Horticulturae,345-351.
- 11- Kim, J. , M. Marshall and I. Cheng. 1995. Antibacterial activity of some essential oil components against five food borne pathogens. Journal of Agricultural and Food Chemistry,179-184.
- 12- Lis-Balchin, M. and S.G. Deans. 1997. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. J. Appl. Bacteriol., 82: 759–762
- 13- Longaray Delamare, A. , L. Moschen-Pistorello, L. Artico, L. Serafini and S. Echeverrigaray. 2005. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil . Journal of Agricultural and Food Chemistry,200-204.
- 14- Loziene, K., J. Vaiciuniene and P. Venskutonis. 1998. Chemical composition of the essential oil of Creeping Thyme (*Thymus sepyllum*). *Planta – Medica*, 64: 8, 772 – 773.
- 15- Marino, M. , C. Bersani and G. Comi. 2000. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. Journal of Eessential Oil Research, 7 (6) 364 – 368.
- 16- Mounchid, K. , F. Bourjilat, T. Aboussaouira, A. Rachidai, A. Tantaoui-Elaraki and M. Alaoui-Ismaili. 2005the susceptibility of *Escherichia coli* strains to essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Eucalyptus globulus*. African Journal of Biotechnology, Vol. 1 .75-82.
- 17- Muller, K.H.C., N. Kirimer and H. Malyer. 1997. The essential oil of *Salvia fruticosa* grown in Turkey. Journal of Essential Oil Research., 5 (6) 594–599.
- 18- Nascimento, G., J. Locatelli, P. Freitas and G. Silva. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology, 73-81.
- 19- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance
- 20- Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test, 4th Ed.,
- 21- Approved Standard. NCCLS Document M2-A4. Villanova, PA:1990.

- 22- Penalver, P., B. Huerta, C. Borge and R. Astorga. 2005. Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the Enterobacteriaceae family. *APMIS*, 113 (1): 1-6.
- 23- Prabuseenivasan, S., M. Jayakumar and S. Ignacimuthu. 2006. *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC. Complementary Altern. Med.*, 6: 39.
- 24-Raal, A., U. Paaver, E. Arak and A. Orav. 2004. Content and composition of the essential oil of *Thymus serpyllum* L. growing wild in Estonia. *Medicina (Kounas)*, 40 (8): 795 – 800.
- 25-Sartoratto, A. , A. Machado, C. Delarmelina, G. Figueira, M. Duarte and V. Rehder. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 314-321.
- 26-Vukojevi, J. , M. Sokovi, P. Marin, D. Brki, V. Vajs and V. Griensven. 2009. Thyme and Peppermint studied for antimicrobial and antioxidant actions. *Journal of Biotechnology*, Vol. 3 .103-109.
- 27-Yadegarinia, D. , L. Gachkar, M. Rezaei, M. Taghizadeh, S. Astaneh and I. Rasooli. 2006. Biochemical activities of Thyme essential oil. *International Journal of Food Microbiology*,165-170.

Received	10/05/2015	البحث إيداع
Accepted for Publ.	05/08/2015	قبول البحث للنشر