Minia J. of Agric. Res. & Develop.
Vol. (٣٢) No. ٦ pp ١٠٧٧-١٠٨٦, ٢٠١٢

FACULTY OF AGRICULTURE

الفعالية المضادة للجراثيم لزيت نبات أكليل الجبل الذي ينمو في سوريا

أحمد محمد - سماهر صقور

قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سوريا.

Received ٢ Dec. ٢٠١٢ Accepted ٢٥ Dec. ٢٠١٢

الملخص

الهدف من هذا البحث هو تقييم الفعالية المضادة للزيت العطري المستخلص من نبات أكليل الجبل العطري الذي ينمو في سوريا، على بعض البكتريا والفطريات الممرضة والخمائر وذلك للبحث عن مواد طبيعية جديدة ذات فاعلية مضادة للجراثيم المسببة للمرض، حيث تم إعداد تركيزات من ١-١٠% منه، وأُختبر التأثير المثبط لها على مجموعة من البكتيريا موجبة وسالبة الغرام (*Staphylococcus aureus, E.coli,* *Klebsilla pneumonia* ،*Salmonella typhi, Pseudomonas aerogenosa,* *Listeria monocytogenes, Bacillus subtilis,*)، ونوعين من الفطريات (*Penicillium digitatum, Fusarium sp*)، ونوعين من الخمائر (*Candida* *Rhodotorolla glutins, albicans*)، وقد أوضحت الدراسة أن التأثير المثبط للزيت العطري يتناسب طرداً مع تركيز الزيت المستخدم، فقد أظهر قدرة على تثبيط *Klebsilla pneumonia* و *Pseudomonas aerogenosa* و *Listeria monocytogenes* عند تركيز ٢%، في حين تأثر كل من *Salmonella typhi* ، *Staphylococcus aureus*، *E.coli*، *Bacillus subtilis* بالتركيز ١%، وقد أظهر هذا الزيت قدرة على تثبيط كل من *Penicillium digitatum*، *Rhodotorolla glutins* بالتركيز ٩%.في حين تأثر

الفطر *Fusarium sp* بالتركيز ١%، أما الخميرة *Candida albicans* فقد تأثرت بالتركيز ٥%.

١. المقدمة:

ينتمي نبات أكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* إلى الفصيلة الشفوية *lamiaceae*. وهو عبارة عن نبات شجيري معمر قوي النمو، كثير التفرع يصل ارتفاعه إلى ١٢٠ سم، الأوراق عطرية بسيطة شريطية ولها عرق وسطي بارز، يميل لون سطح الورقة السفلي إلى الرمادي أو الفضي والعلوي إلى الأخضر الفاتح. تخرج الأوراق من الساق في مجموعات ثلاثية الورقات. الأزهار زرقاء أو بنفسجية، تجتمع الأوراق في نورات عنقودية طرفية تزهر بدءاً من شهر أيار (مايو). تحتوي الأوراق والقمم المزهرة ٢.٥-١% زيتاً عطرياً ذي طعم كافوري، يتميز زيت أكليل الجبل بخواصه القاتلة للبكتريا المرضية والفطريات ، وداخلياً يعمل الزيت فاتحاً للشهية وطارداً للغازات وهاضماً بتأثيره الإيجابي في العصارة الصفراوية، كما يتمتع الزيت أيضاً بخواص مدرة للبول، يدخل هذا الزيت في الكثير من الصناعات الغذائية (المشروبات الكحولية، ومنتجات اللحم) لإكسابها الطعم والرائحة وحفظها مدة طويلة أثناء التخزين منعاً لفسادها وتعفنها، يستخدم الزيت في صناعة مستحضرات التجميل والعطور رخيصة الثمن. (الحكيم، ٢٠٠٨).

٢. المواد والطرائق:

١.٢ مكان البحث: نُفذ هذا البحث في مخابر كلية الزراعة –قسم علوم الأغذية، الهيئة العامة للبحوث الزراعية والهيئة العامة للتقنية الحيوية في الفترة الواقعة – ٢٠١٠ ٢٠١١.

٢.٢ جمع العينات:

جُمعت ٢٠ عينة عشوائية من المنطقة الساحلية (محافظة اللاذقية) من أوراق نبات *Rosmarinus officinalis* خلال شهر نيسان (ابريل).

٣.٢ تنقية وتنظيف وتجفيف النباتات المدروسة:

تمت عملية **تنقية** وتنظيف العينات النباتية المجموعة بغية التخلص من الشوائب العالقة من نباتات مجاورة أو غبار. والمقصود بعملية التجفيف إزالة الماء من النبات، وتكمن

أهمية التجفيف في المحافظة على نسبة المادة الفعالة فيه وحمايته من الفساد وإعداده للتخزين، حيث اتبعت طريقة التجفيف الطبيعي، حيث نشرت العينات النباتية التي تمَ جمعها على صفائح من الورق على طاولات خشبية مرفوعة عن الأرض في مكان مظلل مع وجود مجرى من الهواء، كما رُوعي عدم وضع النباتات في طبقات كثيفة فوق بعضها البعض، ثم قُلبت بشكل مستمر لضمان تعرض كل النباتات لعملية التجفيف وحرصاً على عدم تعرض الطبقات السفلية للتعفن في حال عدم تعرضها للهواء، وبلغت مدة التجفيف أسبوع تقريباً حيث فقدت هذه النباتات معظم رطوبتها، وضعت العينات في أواني زجاجية معتمة ليتم استخلاص الزيت العطري منها لاحقاً.

٤.٢ استخلاص الزيوت العطرية بالتقطير للنباتات العطرية:

استخلصت الزيوت العطرية الطيارة حسب منظومة الأدوية الأوروبي (A.O.A.C, ٢٠٠٠) وقد تم العمل وفقاً للخطوات التالية:

أ) طحنت العينة النباتية المجففة بصورة خشنة يدوياً وذلك لتأمين أكبر سطح للتماس بين المادة النباتية والماء المقطر وذلك بهدف الحصول على أكبر كمية ممكنة من الزيت الطيار من المادة النباتية المدروسة.

ب) وزنت العينة المراد تقطيرها بواسطة ميزان حساس (حساسية ٠.٠١ جم) حيث تمَ وزن ٥٠ جم من العينة.

ت) تم غسل الجهاز بالكحول الإيثيلي بهدف إزالة الشوائب والمعلقات السابقة بشكل جيد.

ث) وضع العينة النباتية المطحونة في الدورق الزجاجي ثمَ تمت إضافة كمية من الماء المقطر تعادل نصف حجم الدورق المستخدم (٥٠٠ مل ماء مقطر للدورق ذو سعة ١ ليتر).

ج) رفعت درجة حرارة السخان الكهربائي بشكل تدريجي تجنباً لحدوث تبخر سريع للزيت الطيار الموجود في العينة حتى الوصول إلى درجة حرارة ٨٥م°.

ح) استمرت عملية التقطير لمدة ثلاث ساعات تقريباً وذلك لضمان الحصول على كامل كمية الزيت الطيار الموجود في العينة. وحددت كمية الزيت المستخلصة من خلال أنبوب القياس، ثم حفظ الزيت العطري على درجة حرارة ٤ ْم.

٥.٢ الزرع الجرثومي وتحديد الفعالية الحيوية للزيوت العطرية المدروسة:

١.٥.٢ الأحياء الدقيقة المستخدمة ومصادرها:

أ) **البكتيريا:**

اختيرت خمس أنواع بكتيرية ممرضة ومسببة لفساد الأغذية، حيث اختير نوع واحد موجب الغرام وخمسة أنواع سالبة الغرام وهذه الأنواع موضحة في الجدول (١.٢):

الجدول(١.٢): الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة

اسم العزلة البكتيرية	اسم الوسط المستخدم	المصدر
Staphylococcus aureus	Braid Parker Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Pseudomonas aeruginosa	Cetrimide Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Klebsilla pneumonia	الآجار المغذي(NA)	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Salmonella typhi	XLD Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Escherichia coli	EMB Agar	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Bacillus subtilis	الآجار المغذي(NA)	الهيئة العامة للتقنية الحيوية
Listeria monocytogenes	الآجار المغذي (NA)	الهيئة العامة للتقنية الحيوية

ب) **الفطريات والخمائر:**

اختير نوعين من الفطريات ونوعين من الخمائر المسببة لفساد الأغذية، والجدول (٢.٢) يوضح أنواع الفطريات والخمائر المستخدمة في الدراسة.

الجدول(٢.٢): أنواع الفطريات والخمائر المستخدمة في الدراسة

النوع	المصدر	اسم الوسط المستخدم
Fusarium sp.	الهيئة العامة للبحوث الزراعية / قسم الوقاية	آغار ديكستروز البطاطا (PDA)
Penicillium digitatum	الهيئة العامة للتقانة الحيوية	
Candida albicans	الهيئة العامة للطاقة الذرية/ دمشق	
Rhodutorula glutins	الهيئة العامة للطاقة الذرية/ دمشق	

ت) **الزرع الميكروبي: طريقة أقراص التحسس**:(NCCLS, ٢٠٠٠; Benson, ١٩٩٤)
استخدمت طريقة Agar disc diffusion حسب الخطوات التالية:

١- تحضير تركيزات متدرجة من الزيت العطري من: ١%، ٢%، ٣%، ٤%، ٥%، ٦%، ٧%، ٨%، ٩%، ١٠%، وذلك بحلها باستخدام عامل استحلاب هو (التوين ٢٠)، وبمعدل خمس مكررات لكل تركيز.

٢- غمس الأقراص السيللوزية بالتركيزات المحضرة ووضعها على سطح الأوساط التي تم زرع الأحياء الدقيقة المدروسة (المنشطة قبل ٢٤ ساعة).

٣- التحضين لمدة ٢٤ ساعة على درجة حرارة ٣٧°م للبكتيريا، ولمدة ٧٢-٤٨ ساعة على درجة حرارة ٣٠°م للفطريات والخمائر.

٤- قياس قطر دائرة التثبيط (مم).

٣. النتائج والمناقشة:

يبين الجدول (١.٣) تأثير التركيزات المختلفة في تثبيط البكتريا تحت الدراسة والمحددة بمتوسط بقطر الدائرة بالمليمتر ومنه نجد بأن *Klebsilla pneumoniae* قد تأثرت بالتركيز ٢% حيث بلغ القطر ٦ مم، كما أظهرت علاقة إيجابية بين التركيز وقطر التثبيط حتى وصل إلى ١٢ مم عند التركيز٩%، في حين تأثرت *Staphylococcus aureus* بالتركيز ١% بقطر قدره ٥ مم وكذلك لوحظ وجود علاقة إيجابية بين التركيز وقطر التثبيط حيث أن قطر التثبيط عند التركيز١٠% بلغ ١٥.٥ مم وهذا يتوافق مع نتائج Jiang وزملائه عام ٢٠١١، أما بالنسبة لبكتيريا *Escherichia coli* فقد تأثرت أيضاً بالتركيز ١% بقطر تثبيط قدره ٦ مم وكذلك أظهرت النتائج وجود علاقة إيجابية بين التركيز وقطر

التثبيط الذي بلغ ١١.٥ مم عند التركيز ١٠%. وكذلك تأثرت البكتيريا *Pseudomonas aeroginosa* بالتركيز ٢% بقطر ٤.٣ ملم، وقد سبب التركيز ١% تثبيط لبكتيريا *Salmonella typhi* بقطر ٥.١ مم، وقد أثر هذا التركيز على بكتيريا *Bacillus subtilis* بقطر تثبيط ٥ مم، في حين تأثرت بكتيريا *Listeria monocytogenes* بالتركيز ٢% وقد كانت أقل أنواع البكتيريا المدروسة تأثراً بالزيت العطري وهذا يدل على مقاومة عالية لهذه البكتيريا مقارنة بأنواع البكتيريا الأخرى وهذا يتوافق مع نتائج Dorman وزملائه عام ٢٠٠٠.

الجدول(١.٣): تأثير التركيزات المختلفة من أوراق نبات أكليل الجبل في تثبيط البكتريا المدروسة والمحددة بمتوسط قطر الدائرة بالمم X±SD*

التركيز	الأحياء الدقيقة المدروسة حسب قطر التثبيط X±SD						
%	*Pseudomonas aeroginosa*	*Klebsilla pneumonia*	*Salmonella typhi*	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*	*Bacillus subtilis*	*Listeria monocytogenes*
١٠	٩±٠	١٢±٠.١٧	١٣±٠	١٠.٥±٠.٤٥	١١.٥±٠	١٢.١±٠	٨±٠.١٧
٩	٨±٠	١٢±٠.١٧	١٢.٨±٠.٣٣	١٠±٠.٤٥	١١±٠.١٧	١١.١±٠.٣	٨±٠.٣
٨	٧.٧±٠.٢٢	١١.٢±٠.٠٨	١٢.٢±٠.٣٣	٩.٣±٠.٢٢	١٠. ٧±٠.٢	١٠±٠.١٧	٧.٦±٠.٢٢
٧	٧.١±٠.٢٢	١٠.٤±٠.٠٨	١١.٩±٠.١٧	٩.٣±٠.٢٢	٩.١±٠.١٧	٩.٦±٠.٠٨	٧.٦±٠.٢٢
٦	٦.٣±٠.٢٢	٩.٨±٠.٠٨	١١.١±٠.١٧	٦.٨±٠.٢٢	٨.٤±٠.١٧	٩.١±٠.١٧	٦.٦±٠.٢
٥	٥. ٦±٠.٢	٩.٣±٠	١٠±٠.١٧	٥.٩±٠	٧.٣±٠.١٧	٧.٥±٠	٦±٠.١٧
٤	٥ ±٠.٢	٩.١±٠.٠٨	٩. ٤±٠.١٧	٥.٩±٠.٢٢	٧.٢±٠.٠٨	٧.١±٠	٥.٦±٠.٢
٣	٤.٥ ±٠.٢	٧. ٢±٠.٠٨	٧.١±٠.١٧	٥. ٦±٠.٢٢	٦.٨±٠.١١	٦.٥±٠.١٧	٥.٦±٠.٢
٢	٤.٣ ±٠.٢	٦±٠.٠٨	٦.١±٠.١٧	٥±٠.٢٢	٦.٥±٠.١١	٥.٦±٠.٢٢	٥.١±٠.٢٢
١	٠	٠	٥.١±٠.١٧	٥±٠.٢٢	٦±٠.١١	٥±٠.٢٢	٠

* القيمة تمثل متوسط لخمس مكررات .

تأثير الزيت العطري المستخلص من أوراق نبات أكليل الجبل في الفطريات والخمائر:

تمت دراسة تأثير الزيت العطري المستخلص من أوراق نبات أكليل الجبل في الفطريات والخمائر وقد ظهرت النتائج المبينة في الجدول(٢.٣).

الجدول(٢.٣): تأثير التركيزات المختلفة من أوراق نبات أكليل الجبل في تثبيط الخمائر والفطور المدروسة والمحددة بمتوسط قطر الدائرة بالمم X±SD*

التركيز المستخدم	أقطار بقع التثبيط مقاسة بالملم			
	Fusarium S.P	*Penicillium digitatum*	*Rhodutorula glutins*	*Candida albicans*
١٠٪	١٣±٠	٤±٠	٨. ٧±٠.٥٥	١٠±٠.٢٢
٩٪	١٢.٧±٠.٤٤١	٤±٠	٧. ٩±٠.٥	٩.٤±٠
٨٪	١٢.٧±٠.٤٤١	٤±٠	٧. ٧±٠.٥	٩±٠
٧٪	١١±٠	٠	٠	٨.٥±٠
٦٪	٨.٦±٠.٥	٠	٠	٧.٦±٠.٥
٥٪	٧.٦±٠.٥	٠	٠	٦.٦±٠.٥
٤٪	٦.٤±٠	٠	٠	٠
٣٪	٥.١±٠.٥	٠	٠	٠
٢٪	٤.٢±٠.٥	٠	٠	٠
١٪	٤±٠	٠	٠	٠

* القيمة تمثل متوسط لخمس مكررات .

كما هو ملاحظ من الجدول السابق تأثرت الأنواع المدروسة من الفطريات والخمائر بالتركيزات المستخدمة ويلاحظ زيادة قطر التثبيط الميكروبي بزيادة التركيز المستخدم بالنسبة لمختلف الأنواع، حيث كان قطر بقع التثبيط عند تطبيق التركيز ١٠% على الفطر *Fusarium sp.* حوالي١٣ مم في حين انخفض قطر التثبيط عند تطبيق هذا التركيز على الفطر *Penicillium digitatum* إلى٤ مم وهذا يتوافق مع نتائج Chebli وزملائه عام ٢٠٠٣، أما عند تطبيق التركيز ٨% على خميرة *Rhodutorula glutins* فقد كان قطر التثبيط ٨.٧ مم ، وارتفع قطر التثبيط عند تطبيق التركيز ١٠% على خميرة *Candida albicans* إلى ١٠ مم وهذا ما يتوافق مع نتائج Daferera عام ٢٠٠٣، وبالنظر إلى

التركيزات المنخفضة نلاحظ بأن التركيز ١% قد سبب تثبيط فقط للفطر *Fusarium sp* في حين تأثرت خميرة *Candida albicans* بالتركيز ٥٪، أما *Penicillium digitatum* و *Rhodutorula glutins* فم تظهر أي تأثر إلا عند تطبيق التركيز ٨%.

٤. الاستنتاجات:

أظهرت البكتيريا سالبة الغرام تدرجاً في حساسيتها لتأثير زيت أكليل الجبل العطري. وقد كانت بكتيريا *Listeria monocytogenes* أكثرها مقاومة. وكذلك أظهرت الفطريات والخمائر مقاومة أعلى من البكتيريا لتأثير زيت أكليل الجبل العطري.وقد أظهرت خميرة *Rhodutorula glutins* وفطر *Penicillium digitatum* أعلى مقاومة.في حين كان فطر *Fusarium sp* أقلها مقاومة.

المراجع

المراجع العربية:

الحكيم، وسيم (٢٠٠٨) النباتات الطبية والعطرية. منشورات جامعة دمشق.

المراجع الأجنبية:

A.O.A.C, (٢٠٠٠). Official methods of analysis of AOAC international, ١٧th edition. USA.

Benson. H. J. (١٩٩٤). Microbiological Application, sixth Edition WCB, Melborn, Australia.

Chebli, B; Mohamed,A; Idrissi,H; and Hmamouchi,M. (٢٠٠٣). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan labiatae against Botrytis cinerea pers:fr.gournal of Ethnopharmacology.٨٩:١٦٥-١٦٩.

Daferera, D; Ziogas, N; and Polissiou, G.(٢٠٠٣). The effectiveness of plant essential oils on the growth of Botrytis cinerea, Fusarium sp.and clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis. Crop protection. ٢٢:٣٩-٤٤.

Dorman, H. J. D. and Deans, S. G. (٢٠٠٠). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils .J.Appl.Microbiol. ٨٨:٣٠٨-٣١٦.

Jiang, Y; WuN; Fu; Wang, W; Luo, M; Zhao, C; Zu ,Y; and Liu ,X. (٢٠١١). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Rosemary environmental toxicology and pharmacology journal.٢٣:١٢٩-١٣٤.

NCCLS (National committee for clinical laboratory standards). (٢٠٠٠). Methods of dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically.٥th edn.Wayne:Approved Standard.

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OIL OF ROSEMARY PLANT GROWN IN SYRIA

E. Ahmed Mohammad and E. Samaher Saqour
Aide Instruction Assistant, Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

ABSTRACT

The aim of this study was the investigation of antibacterial and antifungal activities of the essential oil of Rosemary plant. Concentrations (١-١٠٪) of essential oil were prepared and its antimicrobial effects were tested on the growth of a group of bacteria positive and negative bacteria , namely *E.coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aerogenosa, Bacillus subtilis, Salmonella typhi, Klebsilla pneumonia, Listeria monocytogenes* , two fungal species (*Fusarium sp, Penicillium digitatum*) and two species of yeasts (*Candida albicans, Rhodotorolla glutins*). The results showed that antimicrobial effect of the tested oil has a direct relationship with the applied concentration. Results for microorganisms inhibiation showed that *Klebsilla pneumonia, Pseudomonas aeroginosa* and *Listeria monocytogenes* were inhibited by ٢% concentration of the tested oil. In addition *Salmonella typhyi, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* were inhibited by ١٪ concentration of the tested oil. *Rhodotorolla glutins* and *Penicillium digitatum* were inhibited by ٩٪ concentration. Also, *Fusarium sp* was inhibited by ١٪ concentration of the tested oil and *Candida albicans* was inhibited by ٥٪ concentration.