

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة مؤيد وثريا عبدالحسين ورغد عبداللطيف

الجامعة المستنصرية-كلية العلوم-قسم علوم الحياة

تاريخ قبول البحث : 2011/ 5/29

تاريخ تقديم البحث : 2011/ 3/15

ABSTRACT

The aim of this study was to test the effect of volatile oil extracted from eucalyptus plants leaves on some gram-negative bacteria.

Results of the study have shown that eucalyptus oil extract had high inhibition effect against *K. pneumonia* and *S. marcescens* whereas *P. aeruginosa* bacteria were not inhibited in the volatile oil.

The study revealed that *K. pneumonia* bacteria was more sensitive than others to eucalyptus oil.

Its average MIC was 2900 ppm , MBC 3000 ppm. Then *S. marcescens* with MIC 5600 ppm , MBC 5700 ppm. But *Pseudomonas aeruginosa* bacteria was not Inhibited even with highest concentration of volatile oil with 9500 ppm.

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة على الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس وبيان تأثيره في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي:

Pseudomonas aeruginosa و *Klebsiella pneumonia* و *Serratia marcescens*

اثبتت نتائج الدراسة ان لزيت اليوكالبتوس المستخلص ذو فعالية تثبيطية عالية ضد بكتريا *K. pneumonia* وبكتريا *S. marcescens* بينما اثبتت بكتريا *P. aeruginosa* مقاومة عالية تجاه الزيت الطيار. كما لوحظ ان بكتريا *K. pneumonia* كانت اكثر تحسسا وان التركيز المثبط الادنى MIC لها 2900 ppm والتركيز القاتل الادنى MBC هو 3000 ppm. اما بكتريا *S. marcescens* فكان الـ MIC هو 5600 ppm و MBC هو 5700 ppm بينما ظلت بكتريا *P. aeruginosa* ذات مقاومة عالية حتى وبعد استخدام تراكيز مرتفعة وصلت الى 9500 ppm.

المقدمة

اتجهت انظار العالم في الونة الاخيرة نحو النباتات الطبية في علاج الكثير من الامراض وحتى المستعصية منها نظرا لما تسببه الادوية المستعملة من اضرار عديدة على صحة الانسان. استعملت الزيوت الطيارة كعقاقير طبية منذ وقت طويل فامتلاكها للخواص المعقدة ادى الى

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد

استخدامها ضد البكتريا والفايروسات والفطريات (1) هذا فضلا عن كونها عوامل مضادة للاكسدة (2) واستخداماتها الواسعة في الدراسات الحديثة في علاج الامراض السرطانية (3) كما اظهرت الاهمية الاقتصادية للزيوت الطيارة لاستخدامها في مجالات عديدة طبية وغير طبية وخاصة في مجال الاغذية وحفظها كونها مثبطة للبكتريا المرضية التي تسبب تلف وفساد الاغذية (4) لذا فهي كانت ومازالت ذات مردود اقتصادي كبير ومهم.

اكذ (5) الى اهمية استخدام الزيوت الطيارة في علاج كثير من امراض الجهاز التنفسي كما في نبات اليوكالبتوس كما اشار (6) الى ان الزيت الطيار لنبات القرفة قد ساعد على خفض مستوى نسبة السكر في الدم لدى مرضى السكري كما واكد (7) الى الفعالية التثبيطية لمركب الاليسين المتواجد في الزيت الطيار لنبات الثوم ضد انواع من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام فضلا عن قابلية زيت الثوم على خفض نسبة الكولسترول في الدم.

كما اوضح (8) الى تأثير المستخلص الزيتي للنعناع واللافندر والقرفة في تثبيط البكتريا المسببة لالتهاب اللوزتين والحنجرة *Streptococcus pyogens* و بكتريا *Streptococcus pneumoniae*.

وقد بين (9) الى ان الزيت الطيار لنبات الاس له فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *Salmonella typhimurium* كما اثبت (10) تأثير الزيت الطيار لنبات *Foeniculum vulgare* على بعض انواع البكتريا منها *Pseudomonas aeruginosa* وبكتريا *Klebsiella pneumoniae* كما لاحظ (11) ان الزيت المستخلص من نبات اللافندر له فعالية تثبيطية عالية ضد فطر *Aspergillus flavus*.

كما اظهرت الدراسة التي قام بها (12) الى ان الزيت الطيار المستخلص من نبات حشيشة الليمون *C.citratus* له فعالية تثبيطية عالية تجاه البكتريا السالبة *Pseudomonas aeruginosa* والبكتريا الموجبة *Staphylococcus aureus*.

ونظرا لانتشار زراعة اشجار اليوكالبتوس في العراق وبانواع عديدة وسهولة تكاثره ضمن الظروف العراقية ونظرا للاهمية الطبية للزيوت الطيارة ودورها الفعال في تثبيط العديد من الاحياء المجهرية اجريت هذه الدراسة لبيان تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في ثلاثة انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي *Klebsiella pneumoniae* و *erratia marcescens* و *Pseudomonas aeruginosa* وهي ذات مقاومة عالية لعدد كبير من المضادات الحيوية ومسؤولة عن كثير من الالتهابات التي تصيب الجلد والجهاز التنفسي والقناة البولية.

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على العينات النباتية من اشجار اليوكالبتوس *E.camaldulensis* المزروعة في حدائق الجامعة المستنصرية وتم تجفيفها تحت ظروف الجو الاعتيادية مع التقليب المستمر.

استخلص الزيت الطيار بطريقة التقطير المائي water distillation method باستخدام جهاز كلافنجر Clavenger وحسب الطريقة المتبعة من قبل (13) وجمع الزيت الطيار في عبوة معقمة ومعلمته وغلقت جيدا وحفظت في الثلاجة على درجة حرارة (4-6)°م لحين الاستعمال.

تم الحصول على العزلات البكتيرية من قسم علوم الحياة/الجامعة المستنصرية وهي *Serratia marcescens* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Klebsiella pneumonia*

تم تحضير العالق البكتيري بتركيز مختلفة وتقدير العدد الحي للبكتريا في هذه التراكيز حيث تم تحضير انابيب اختبار حاوية على 9 مل من المحلول الفسلجي Normal Saline نقل اليها 1 مل

من العالق البكتيري *P.aeruginosa* و *K.pneumonia* و *S.marcescens* وتم تحضير التخافيف العشرية

(10^{-1} الى 10^{-7}) خلية/مل لكل نوع بكتيري وتم قياس العدد الحي للبكتريا في هذه التخافيف ومن ثم

انتخاب اعداد الخلايا (1×10^4) خلية /مل لكل من بكتريا *S.marcescens* و *P.aeruginosa* و اعداد الخلايا (1×10^3) خلية/مل لبكتريا *K.pneumonia*.

حضرت الاوساط الزرعية بتركيز مختلفة من الزيت الطيار (9500-1500) ppm وتم اتباع الطريقة الواردة في (10) حيث تم اخذ 20 مايكروليتر من الزيت الطيار ونقل الى 20 مل من الوسط الزرعي

للحصول على تركيز 1000 ppm وعلى اساسها تم تحضير باقي التراكيز. وبعد ذلك تم وضع المزيج في دورق صغير سعة 25 مل ورج جيدا ثم صبت في الاطباق وترك ليبرد وحفظ في الثلاجة

على

درجة حرارة 4°م. تم تلقح الاوساط الزرعية بالعالق البكتيري وتحديد لكل منها التركيز المثبط الادنى

(MIC) والتركيز القاتل الادنى (MBC) حيث تم اخذ 0.1 مل من العوالق البكتيرية وتم نشرها على وسط الاكار المغذي المحضر بتركيز مختلفة ثم وضعت الاطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 25°م

لمدة 24 ساعة بعد ذلك تم حساب المستعمرات في التراكيز المختلفة من الزيت وتحديد كلا من MIC و MBC لكل نوع بكتيري.

النتائج والمناقشة

لقد تم في هذه الدراسة اختيار ثلاثة انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام وهي من الانواع الشائعة والمسببة لالتهابات الجروح والحروق والجهاز التنفسي والقناة البولية وهي مقاومة للمضادات

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد

الحيوية ومن الانواع الخطرة (14) ولقد تم تشخيص العزلات البكتيرية بالطرق المختبرية المعروفة في قسم علوم الحياة - كلية العلوم - الجامعة المستنصرية.

في هذه الدراسة تم استخلاص الزيت الطيار من اوراق نبات اليوكالبتوس بواسطة التقطير المائي وهي من الطرق المعتمدة في استخلاص الزيوت الطيارة دون ان تتأثر مكوناتها الفعالة (13). بينت نتائج الدراسة في الجدول (1) استخدام التراكيز المختلفة للزيت الطيار لنبات اليوكالبتوس ابتداء من تركيز 1500 ppm وصولا الى التركيز 9500 ppm وقد اختلفت الانواع البكتيرية في حساسيتها للزيت الطيار فقد ابدى التركيز 2800 ppm تأثيرا مثبتا لنمو بكتريا *Klebsiella pneumoniae* وبذلك كان التركيز المثبط الادنى MIC لبكتريا *K.pneumoniae* هو 2800 ppm وكان التركيز القاتل الادنى MBC لها عند تركيز 3000 ppm والشكل (1) يوضح ذلك.

اما بكتريا *Serratia marcescens* فقد كان التركيز المثبط الادنى لها هو 5600 ppm والتركيز القاتل MBC الادنى لها فقد ظهر عند تركيز 5700 ppm والشكل (2) يبين ذلك. وفيما يتعلق ببكتريا *Pseudomonas aeruginosa* فقد ابدت مقاومة عالية ضد كل التراكيز المستخدمة من تركيز 1500 ppm وصولا الى التركيز 9500 ppm وبقيت مقاومة مع التركيز 9500 ppm ولم يتمكن من تثبيط نموها . ويعتقد ان هذه المقاومة لبكتريا *P. aeruginosa* تعود الى طبيعة الجدار الخلوي للبكتريا حيث يتألف الغلاف الخارجي لها من مادة LPS ودهون فوسفاتية وبعض البروتينات التي تعمل كحاجز يمنع هذه البكتريا حماية ضد الزيوت الطيارة التي لاتستطيع النفاذ الى داخلها (15).

تتفق نتائجنا في هذه الدراسة مع ماتوصل اليه (16) فيما يخص نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus globules* والتاثير الفعال لزيته الطيار في البكتريا السالبة لصبغة كرام مثل *E.coli* و *K.pneumoniae* والبكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل *Staphylococcus aureus* , *Bacillus cereus* وذلك بسبب وجود المركبين الفينوليين *thymol* & *carvacrol* في زيوتهما الطيارة.

كما جاءت هذه النتائج مطابقة لما توصل اليه (17) حول التاثير الفاعل لزيت اليوكالبتوس على الانواع المقاومة من البكتريا السالبة مثل *E.coli* و *Proteus* و *K.pneumoniae* واتفقت نتائجنا مع ما قام به (18) فيما يخص المستخلص الكحولي لنبات اليوكالبتوس وتأثيره على انواع من البكتريا السالبة مثل بكتريا *Salmonella sp* و *Shigella sp* و *E.coli* و *Klebsiella sp*

كما اشار (19) في دارسته الى ان الزيوت الطيارة لنبات النعناع والزعتر والدارسين والكافور والهيل والقرنفل وغيرها ابدت كفاءة تثبيطية عالية تجاه عدد كبير من انواع البكتريا المدروسة ومنها بكتريا *K.pneumonia* وبكتريا *S.marcescens* وهذا يتفق مع ماتوصلنا اليه في دراستنا. اما الجدول (2) فقد اشار الى اعداد الخلايا الحية البكتيرية (CFU) قبل التثبيط وبعده فلوحظ ان اعداد الخلايا البكتيرية قبل المعاملة بالزيت للعزلة البكتيرية من نوع *K.pneumonia* كان (1×10^3) خلية/مل اما عدد الخلايا البكتيرية بعد المعاملة بالزيت فكان 8 خلية/مل عند تركيز ppm 2900 كما هو موضح في الشكل (1).

اما فيما يخص العزلة البكتيرية نوع *S. marcescens* فقد كان عدد الخلايا البكتيرية (CFU) قبل المعاملة بالزيت (1×10^4) خلية/مل واصبح بعد المعاملة بالزيت (11) خلية/مل عند تركيز ppm 5600 والشكل (2) يوضح ذلك.

وظلت بكتيريا *P.aeruginosa* محافظة على اعداد الخلايا دون اي تثبيط او قتل لخلاياها حتى مع استخدام اعلى التراكيز وهو ppm 9500 كما اشرنا الى ذلك سابقا والشكل (3) يوضح ذلك.

وان هذه النتائج تتفق مع ما اكد عليه (8) في دارسته التي تناولت تأثير زيت اليوكالبتوس مع مجموعة من الزيوت الطيارة التي استخدمت في التأثير على بعض الانواع البكتيرية السالبة ومنها بكتريا *Haemophilus influenzae* وبكتريا *E.coli*.

كما ان النتائج التي توصلنا اليها لم تتفق مع كل من (20 - 21) فيما توصلنا اليه من ان بكتيريا *P.aeruginosa* كانت من اكثر الانواع تأثيرا بالزيت الطيار المستخلص من بذور نبات حبة الحلوة كما لم تتفق نتائجنا مع ماتوصل اليه (18) من ان زيت اليوكالبتوس تمكن من تثبيط النوع المقاوم *P.aeruginosa* وهذا مالم نتمكن من الحصول عليه في دراستنا حتى بالوصول الى تركيز ppm 9500 اما الجدول (3) فقد اشار الى متوسط قيم MIC و MBC.

ان فعالية الزيت الطيار لنبات اليوكالبتوس يمكن ارجاعها الى مركب Eucalyptol (cineole) وهو المركب الاساسي الذي يحويه الزيت الطيار وهو مركب تربيني مسؤول عن اعطاء النبات خواص قاتلة للحياة المجهرية بالاضافة الى مركبات اخرى عديدة (22).

وهذا يفسر الاستخدامات الواسعة لزيت اليوكالبتوس في الادوية المستخدمة لعلاج السعال وحالات البرد والانفلونزا و الالتهابات الجلدية والتهابات الجهاز التنفسي ويؤكد على خواصه المضادة للحياة المجهرية.

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثرثا ورغد

جدول- 1: تأثير تراكيز مختلفة من زيت اليوكالبتوس في فحص البكتريا (ppm)

تركيز الزيت																					البكتريا	
9500	9000	8000	7500	7000	6500	6000	5700	5600	5500	5000	4500	4000	3500	3000	2900	2800	2700	2600	2500	2000		1500
														-	±	+	+	+	+	+	+	<i>Klebsiella pneumonia</i>
							-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(+) نمو ، (±) تثبيط ، (-) التركيز القاتل

جدول - 2: اعداد الخلايا الحية البكتيرية (CFU) قبل التثبيط وبعده

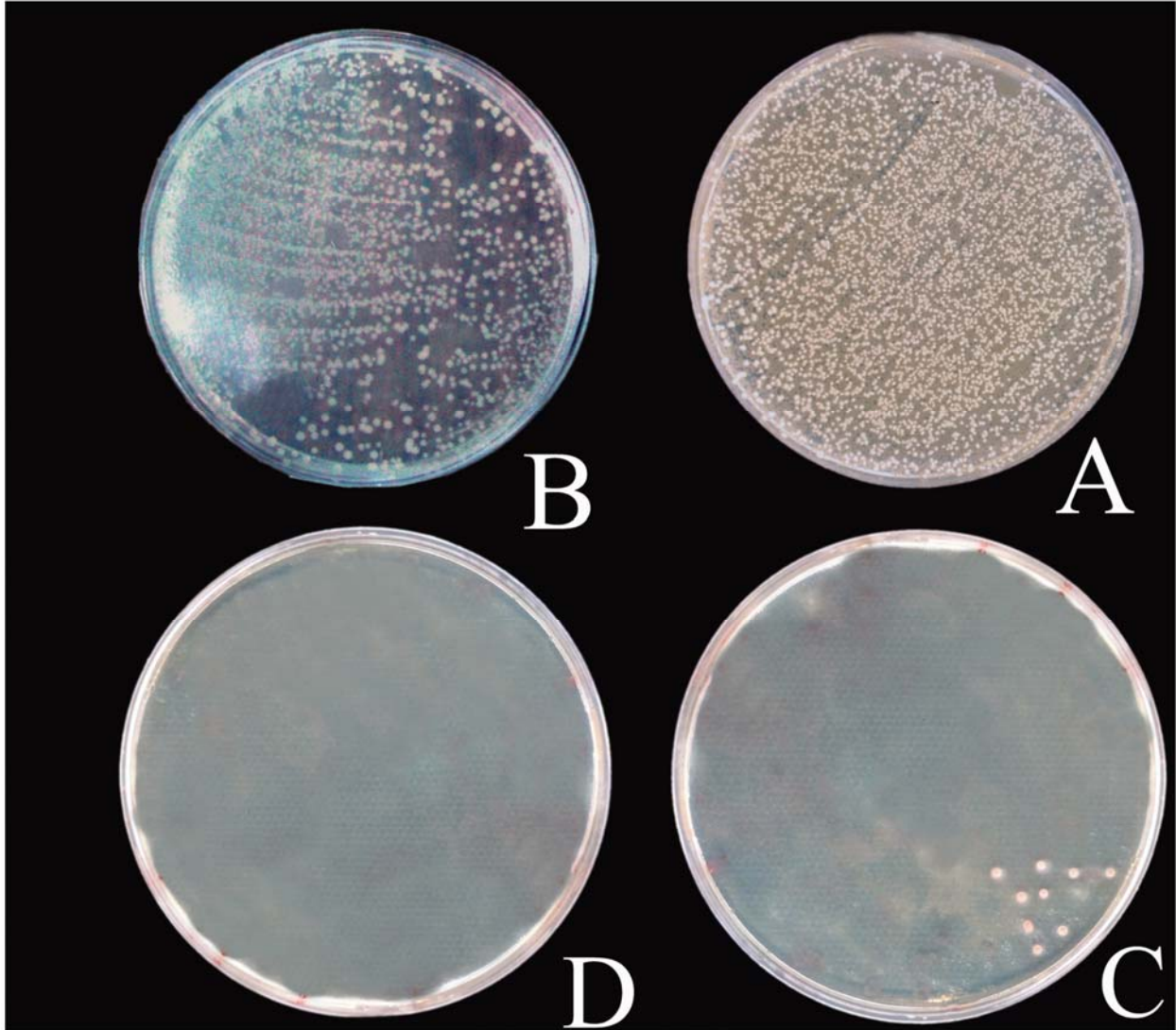
نوع العزلة البكتيرية	عدد الخلايا البكتيرية (CFU) قبل المعاملة بالزيت	عدد الخلايا البكتيرية (CFU) بعد المعاملة بالزيت
<i>K.pneumonia</i>	1×10^3 خلية /مل	9 خلية/مل عند تركيز 2900 ppm
<i>S.marcescens</i>	1×10^4 خلية/مل	11 خلية/مل عند تركيز 5600 ppm
<i>P.aeruginosa</i>	1×10^4 خلية/مل	بقيت مقاومة الى تركيز ppm 9500

جدول - 3: تاثير متوسط قيم MIC و MBC على العزلات البكتيرية

عزلات البكتريا	متوسط قيم MIC ppm	متوسط قيم MBC ppm
<i>K.pneumonia</i>	2900	3000
<i>S.marcescens</i>	5600	5700
<i>P.aeruginosa</i>	بقيت مقاومة الى تركيز 9500	بقيت مقاومة الى تركيز 9500

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد



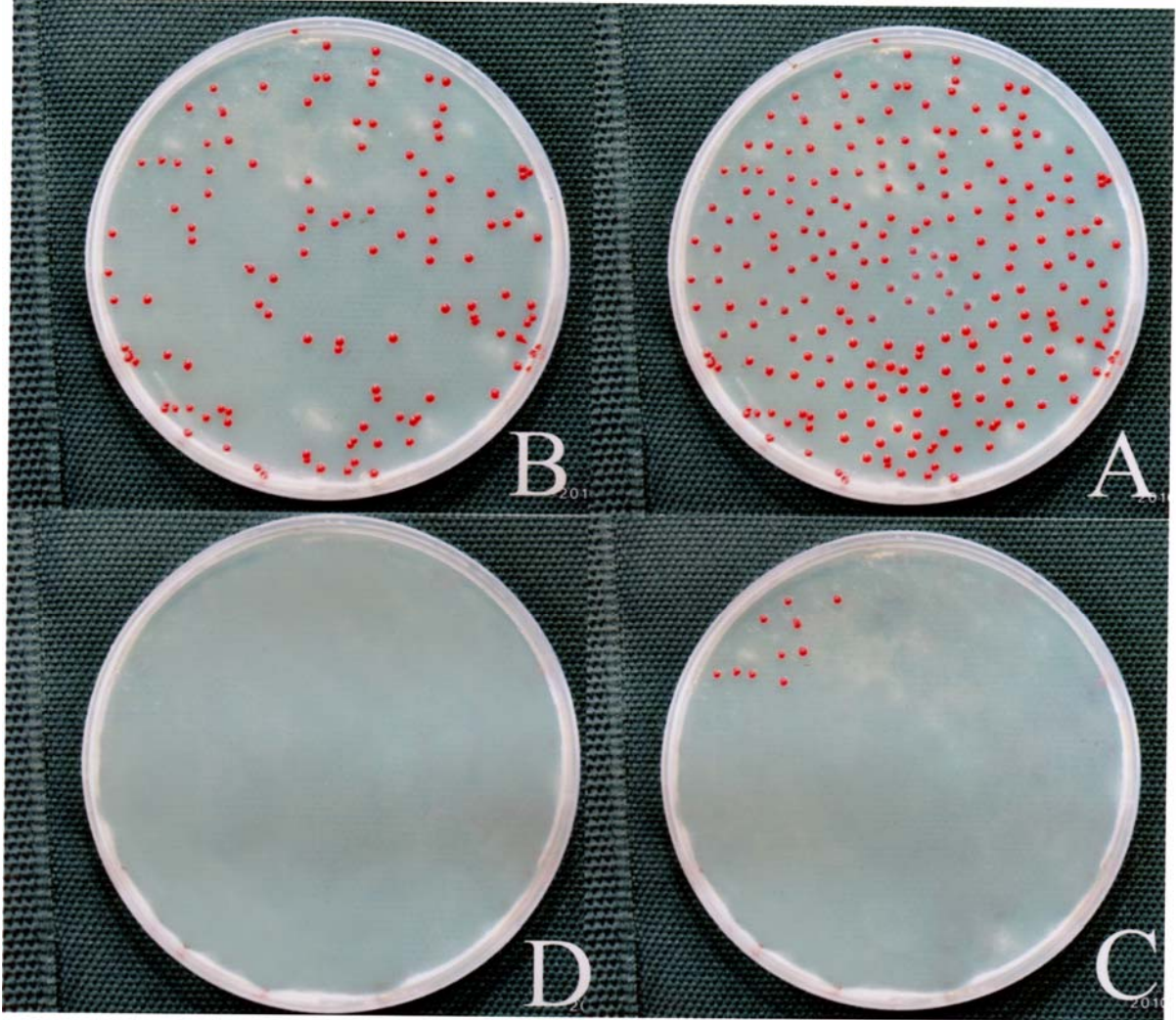
شكل 1- : تأثير تراكيز مختلفة من الزيت الطيار على نمو بكتريا *Klebsiella pneumonia*

B- تركيز 2800 ppm

A- قبل إضافة الزيت

C- تركيز 3000 ppm

B- تركيز 2900 ppm



شكل 2- تأثير تراكيز مختلفة من الزيت الطيار على نمو بكتريا *Serratia marcescens*

A- قبل إضافة الزيت

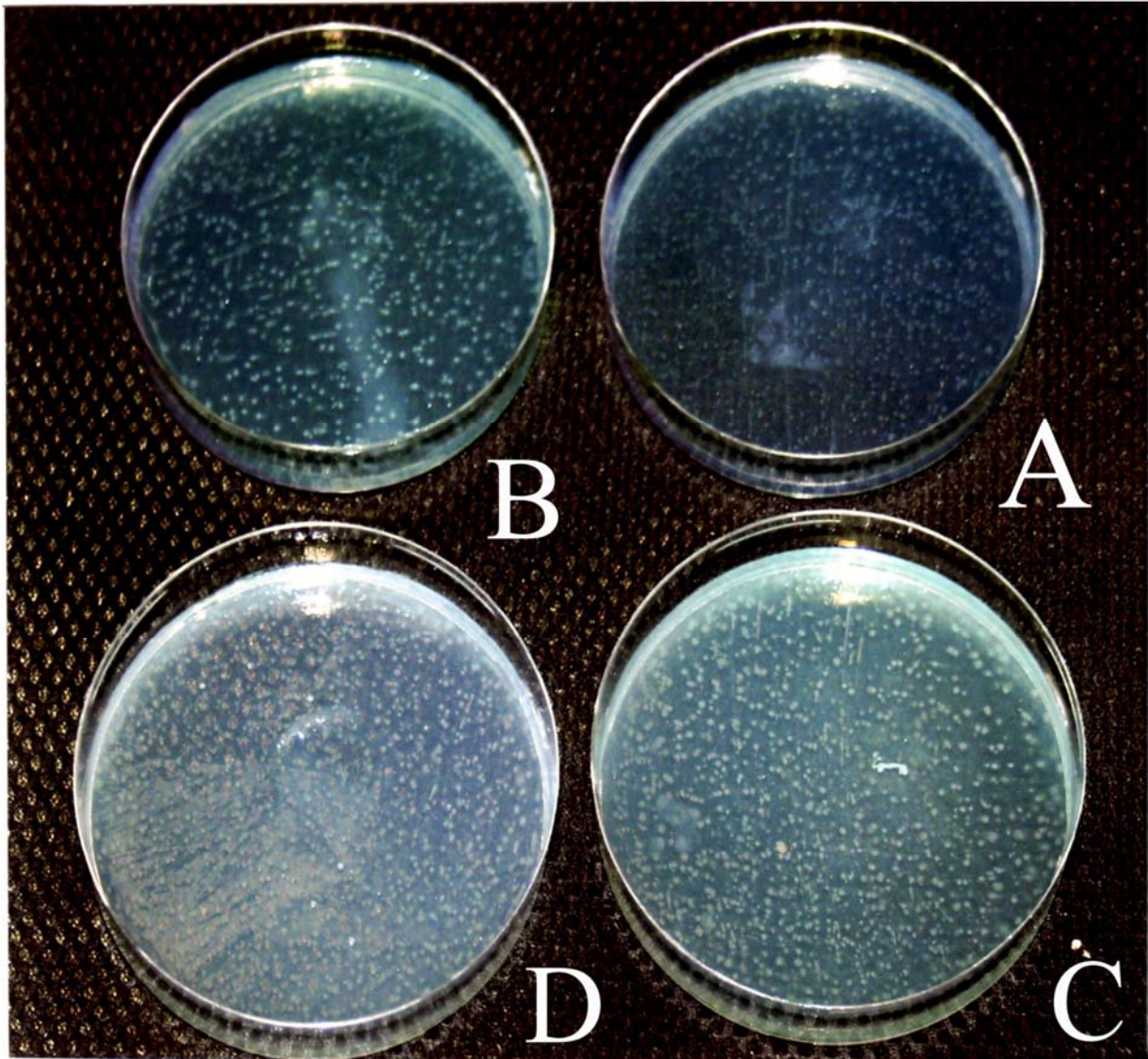
B- تركيز 5500 ppm

C- تركيز 5600 ppm

D- تركيز 5700 ppm

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد



شكل -3 : تأثير تراكيز مختلفة من الزيت الطيار على نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

A- قبل إضافة الزيت

B- تركيز 1500 ppm

D- تركيز 9500 ppm

D- تركيز 2000 ppm

المصادر

1. Burt,S. “Antibacterial properties and potential applications in Foods-areview”. international J. of Food Microbiol (94):223-253 (2004).

2. Kordali ,S. , Kotan,R. , Mavi,A. , Cakir,A. , Ala,A. ,and Yildiri M,A. “Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of Tarkish *Artemisia absinthium* , *A.drancunculus* , *Artemisia santonicum* and *Artemisia spicigera* essential oils” J. of Agri cultural and Food chem (53) , (94) : 52-58 (2005).
3. Sylvestre,M. , Pichette,A. , Longtin,A. , Nagau,F. ,and Legault,d. “Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. From Guade loupe”. J. of Ethnopharmacol. (103) : 99-102 (2006).
4. Zhao ,J. , and Agboola,S. “Functional properties of Australian Bush Foods”. A-report for the rural Industries Research and Development corporation. RI RDC publication. No. 07/030 (2007).
5. Salari,M.H. , Amine,G. , Shirazi,M.H. , Hafezi,R. and Mohammady paer ,M. “Antibacterial effects of *Eucalyptus globules* leaf extract on pathogenic bacteria isolated From specimens of patients with respiratory tract disorders” J. Clinmicrobial infect 12(2): 194-196 (2006).
6. Kim,SH. , Hyun,SH. , and Choung ,SY. “Anti-diabtic effect of *Cinnamon* extracton blood glucose in db/db Mice”. J. Ethnopharmacol. No. (104) :119-123 (2006).
7. Ellen Tatielman , M.D. and Albert ,E. “Health effects of Garlic” J. of the American academy of family physicians. 72 : 103-106 (2005).
8. Shigeharu,A.E. , Inouye,A.T. , Takizawab,D.A. and Hideyo,Y.G. “Anti bacterial activity of essential oil and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact”. J. of Antimicrobial chemotherapy. 47 , Issue (5). (2001).
9. Gandaze,G.T. , Gonul,S.A. , and Karapinar,M. “Efficecy of *Myrtle* oil against *Salmonella typhimurium* on Fresh produce”. Int.Journal. Food Microbiol 130 : 147-150 (2009).
10. الخفاجي ، منال عبداللطيف حسن. تأثير السماد النتروجيني والفوسفاتي في نمو بعض نباتات الجبة الحلوة *Foeniculum vulgare*. وحاصل الزيت الطيار ونوعيته وتأثيره في بعض المجهريات الممرضة. رسالة ماجستير ،كلية العلوم للنبات جامعة بغداد. (2002).
11. Cavanagh,H.M. and Wilkinson,J.M. “Biological activities of *lavender* essentialoil”. J. of phytotherapy Research. No. (16): 301-308 (2002).
12. القيسي ،صفاء الدين احمد شنتر. تأثير عصير اللهانة والزيت الطيار لحشيشة الليمون في نمو بعض الاحياء المجهرية وفعاليتها والمعزولة من حالات مرضية. رسالة ماجستير .كلية التربية/ابن الهيثم/جامعة بغداد. (2003).

تأثير الزيت الطيار المستخلص من اوراق نبات اليوكالبتوس *Eucalyptus camaldulenses* في بعض انواع البكتريا السالبة لصبغة كرام

هالة وثريا ورغد

13. European pharmacopoeia Fourthed. , Council of Europe , Star asbourg cedex , p: 202 (2002).
14. Todar,K. Bacteriology university of Wisconsin Madison (303). P.P. [http: //WWW.bact.wisc.edu/Bac](http://WWW.bact.wisc.edu/Bac).
15. Mann,C.M. , Cox, S.D.& markham,T.L. “The outer membrane of *pseudomonas aeroginosa* NCTC6749 contributed to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)”. Left.Appl.microbiol. ,30.294.297. (2000).
16. Takahashi,T. , KOKubo,R. , Sakaino,M. “Anti Microbial activities of Eucalypts leaf extracts and Flavonoids From *Eucalyptus maculata*”. Letter in Applied microbiology (39) : 60-64.(2004)
17. Trivedi ,N.A. and Hotchandani ,S.C. “Astudy of antimicrobial activity of oil of *Eucalyptus*”. Indian Journal of pharmacology volume:36 Issue:2 page:93-94. (2004).
18. Sule,I.O. and Agbabiaka ,T.O. “Antibacterial Effect of some plant Extracts on selected Entero bacteriaceae”. Department of microbiology ,university of Ilovin ,P.M.B.1525 ,Ilorin ,Nigeria corresponding E-mail. Is Email ao lawales @ yahoo.co.uk. Issued(17) November (2008).
19. EI-Kady,I.A. , EI-maraphy,S.S.M. & Mohamed,E.M. “Antibacterial and antidermatophyte activities of some essential oils from spices” Qat.univ.sci;13(1):63-69. (1993).
20. الزنري ، شيلان خيرالله جبار. تأثير بعض المستخلصات النباتية في الجهاز المناعي للفئران البيض Albino-mice اطروحة ماجستير كلية العلوم للنبات-جامعة بغداد. (2006).
21. Roberto,G. , Baratta,M.T. , beans,S.G. and porman,H.J. “Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum manitimum* essentialoils. Planat-med.66(8):687-693- (2000).
22. جاسم ، عبدالقادر محمد نوري. دراسة بعض مكونات اوراق نبات اليوكالبتوس وتأثير مستخلصاتها في نمو بعض الاحياء الدقيقة. قسم الكيمياء- كلية العلوم-الجامعة المستنصرية-بغداد-العراق المجلد 16 ،العدد (2) : 62-70 (2005).