مجلة العلوم البحثة والتطبيقية
Journal of Pure & Applied Sciences
www.Suj.sebhau.edu.ly ISSN 2521-9200
Received 21/05/2019 Revised 17/08/2019 Published online 11/12/2019

# تقييم تأثير مستخلصات الأوراق لنبات الخبيزة كمضاد للبكتريا ضد بعض أنواع البكتريا الممرضة

جمال حسن الدعيك[1] و علي امحمد عبيد[2]
[1]قسم علم النبات–كلية العلوم الأصابعة–جامعة غريان، ليبيا
[2]قسم التقنيات الطبية–المعهد العالي للعلوم والتقنية الأصابعة، ليبيا
*للمراسلة jamaldaek@gmail.com

**الملخص** أُجريت هذه الدراسة بمعمل قسم الاحياء كلية العلوم الأصابعة ، ومعمل قسم التقنيات الطبية بالمعهد العالي للعلوم والتقنية الأصابعة في الفترة من شهر نوفمبر 2017 إلى شهر ابريل 2018م. تم الكشف عن بعض المركبات الفعالة الموجودة في أوراق نبات الخبيزة *Malva parviflora* وكذلك تم دراسة تأثير المستخلصين المائي والكحولي لأوراق هذا النبات على ثلاثة انواع من البكتريا هي المكورة العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus(S. aureus)* ، والكلبسيلا *Klebsiella spp.*، و الاشريكيه القولونية *Escherichia coli( E.coli)*.أُستخدمت فيها طريقة الانتشار بالقرص disc diffusion، وطريقة الانتشار بالحفر well diffusion، وكذلك طريقة التخفيف المتسلسل broth micro dilution. أظهرت نتائج الكشف الكيميائي الأولي وجود القلويدات، الفلافونيدات، والصابونين، كما بينت النتائج أن المستخلصين المائي والكحولي لأوراق نبات الخبيزة لم يكن لهما أي تأثير ضد كل الأنواع البكتيرية المستهدفة للدراسة.

**الكلمات المفتاحية:** البكتيريا، الخبيزة، الفلافونيدات، القلويدات، الصابونين.

# Evaluation of the antibacterial effect of *Malva parviflora* leaves extracts against some pathogenic bacteria

*Jamal H. Deak [a], Ali A. Abeed [b]
[a] Biology Dept., Faculty of Sciences, University of Garian, Al'assabiea –Libya
[b] Medical Technology Dept., Higher Institution for Sciences and Technology, Al'assabiea –Libya
*Corresponding author: jamaldaek@gmail.com

**Abstract** This study was conducted in the laboratory of the Department of Biology, Faculty of Sciences, and the Laboratory of Medical Techniques at the Higher Institute of Al'assabiea Science and Technology from November 2017 to April 2018. Some of the active compounds found in the leaves of *Malva parviflora* have been detected. The effect of aqueous and alcoholic extracts of the leaves of this plant was studied on three bacteria: *Staphylococcus aureus (S. aureus)*, *Klebsiella spp.* and *Escherichia coli (E. coli)*. Disc diffusion, well diffusion, as well as serial dilution was used to evaluate the antibacterial effect of *Malva parviflora* against the target bacteria. Preliminary chemical detection results showed the presence of alkaloids, flavonoids and saponins. The results also showed that the aqueous and alcoholic extracts of *Malva parviflora* leaves had no effect against all bacterial species targeted for the study.

**Key words:** *Bacteria, Malva parviflora, Flavonoids, Alkaloids, Saponins.*

## المقدمة

أثار انتشار السلالات البكتيرية الممرضة السالبة والموجبة لصبغة جرام، وكذلك معالجتها بالمضادات الحيوية المصنعة كيميائيا اهتماما عالميا كبيرا. كان لاستخدام المضادات الحيوية دورا هاما في القضاء على العديد من الكائنات الحية الدقيقة الممرضة، إلا أنه ظهرت العديد من المشاكل في استخدامها كظهور سلالات مقاومة [9] . ومن الجدير بالإشارة إن البكتيريا تملك نوعية من المقاومة الطبيعية، والمقاومة المكتسبة والتي ازدادت بشكل كبير في السنوات الأخيرة [14]. لذا اتجهت الدراسات الحديثة الي استخدام المستخلصات النباتية في المعالجة التي امتازت بفاعليتها، وسهولة الحصول عليها إضافة إلى كونها غير مكلفة وغير ملوثة للبيئة [1+15]. تحتل النباتات منذ ألاف السنين مكانة مهمة في التاريخ الزراعي والصناعي، وتعد في الوقت الحاضر المصدر الرئيسي لصناعة العقاقير الطبية والمواد الفعالة التي تدخل في تحضير الأدوية المختلفة المهمة [3]. تحتوي النباتات على مركبات أساسية تشمل الدهون، البروتينات، الأحماض الدهنية. وكذلك بعض المركبات الثانوية مثل الفينولات والتانينات والتي يعزي اليها التأثير المضاد لبعض الأنواع من البكتيريا السالبة والموجبة لجرام. وتنتشر هذه النباتات الطبية في مناطق مختلفة من العالم ومن بينها منطقة البحر الأبيض المتوسط وشمال افريقيا (منطقة الدراسة). ويعتبر نبات الخبيزة *Malva parviflora* أهم النباتات المنتشرة في منطقة حوض البحر المتوسط، وشمال افريقيا والمستخدمة كغذاء

وعلاج لاحتوائها على العديد من الفيتامينات والمواد الفعالة الطبية، والتي استخدمت منذ ألاف السنين في الطب الشعبي لمعالجة العديد من الأمراض الجهازية والالتهابات والتقرحات الجلدية. يحتوي نبات الخبيزة *Malva parviflora* على العديد من المواد الفعالة منها عديد الفينولات، القلويدات، الفلافونيدات، الراتنجات، الصابونين، والزيوت الطيارة. وهو عبارة عن نبات عشبي سنوي أو كل سنتين أو معمر، يصل نموه إلى 40 بوصة. يحتوي على مجموع جذري قوي والأوراق خضراء داكنة ولها فصوص مسننة تدور من 5 إلى 7 سنوات [8].

**مشكلة الدراسة**

تتمثل مشكلة الدراسة في الزيادات المفرطة في عدد الأنواع البكتيرية الممرضة المقاومة للعديد من المضادات الحيوية الصناعية.

**أهمية الدراسة**

تكمن أهمية الدراسة في إدراك الفعالية المضادة لمستخلصات أوراق الخبيزة تجاه بعض الأنواع البكتيرية المعزولة من عينات بشرية مرضية، بهدف الاستفادة من المواد الفعالة الحيوية الموجودة في النبات والتي تعتبر بديلا للمضادات الحيوية في علاج تلك الأمراض.

**أهداف الدراسة**

استخلاص المواد الفعالة باستخدام الماء المقطر والكحول الايثيلي من أوراق النبات. ودراسة التأثير الحيوي للمستخلصات المائية والكحولية لأوراق نبات الخبيزة في نمو بعض الاحياء الدقيقة الممرضة.

**المواد وطرق العمل**

**جمع العينات النباتية**

جُمعت اوراق نبات الخبيزة من منطقة الأصابعة في الفترة من 9 نوفمبر – 2017 الى 5 فبراير– 2018. غُسلت الأوراق المجمعة بماء الحنفية، ثم جُففت هوائياً ووُضعت بالفرن على درجة 45م° لمدة ساعتين حتى جفت تماماً، طُحنت الأوراق الجافة إلى أن تحولت إلى مسحوق ناعم.

**تحضير المستخلصات النباتية**

**أولاً: المستخلص المائي.** لتحضير المستخلص المائي اُستخدمت طريقة [5] مع بعض التحوير البسيط. حيث وُزن 30 جرام من مسحوق الأوراق الجافة ووضعت في دورق سعته 250 مل، وبعد أن أضيف إليها 150 مل ماء معقم، سُخن الدورق على درجة حرارة 20–25م° وبواقع 3000 لفة في الدقيقة لمدة ساعة، وباستخدام جهاز Hot plate stirrer، رُشح المحلول بواسطة ورق ترشيح، جُففت الخلاصة باستخدام فرن كهربائي على درجة حرارة 50م° وُزنت المادة المستخلصة (0.5 جرام)، حفُظت في الثلاجة إلى حين استخدامها.

**ثانياً: المستخلص الكحولي.** اُتبعت نفس الخطوات السابقة باستخدام الكحول الأيثيلي (96%) على درجة حرارة 50م°، وزنت المادة المستخلصة (1.5 جم).

**جمع العينات البكتيرية**

عُزلت الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة والتي شملت المكورات العنقودية الذهبية، الأشريكية القولونية، والكلبسيلا، من المرضى المصابون ببعض الالتهابات البكتيرية بمستشفى يفرن، أُجري لها إعادة تنشيط عن طريق زراعتها في وسط سائل ووضعها في جهاز رجاج في الحضانة لمدة 24 ساعة، تم التعرف على هذه الأنواع البكتيرية بمختبر المعهد العالي للعلوم والتقنية الأصابعة بعد ان أُجريت لها بعض الاختبارات الكيموحيوية (صبغة جرام، اختبار الكاتليز، اختبار الأوكسيديز واختبار الأندول)، كما زُرعت البكتريا على بعض الأوساط الغذائية الانتقائية لضمان التأكد من هذه الاصناف البكتيرية، عُزلت بكتريا المكورة العنقودية الذهبية *(S. aureus)*على الوسط الانتقائي Mannitol salt agar، بينما عُزلت كلا من الأشريكية القولونية (*E.coli*) والكلبسيلا *(Klebsiella spp.)* , على الوسط التفريقي MacConkey agar.

**حساب المردودية الإنتاجية**

هي النسبة بين كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة التي تم الحصول عليها ويرمز لها بالرمز (Me) على كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة ويرمز لها بالرمز (Mv)، تحسب باستخدام المعادلة التالية $R\% = Me/Mv$

R%= المردودية الانتاجية للمستخلص النباتي.

Me = كتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة بعد تبخير المذيب.

Mv = كتلة المادة النباتية المستخدمة في الاستخلاص [4].

**الكشف الكيميائي عن المواد الفعالة في المستخلص**

للكشف على الصابونين يتم إضافة 2 مل من الماء المقطر إلى 2 مل من المستخلص المائي أو الكحولي، ثم يرج المحلول بقوة ويترك لمدة 20 دقيقة ليتم تقييم محتوى الصابونين [12] .

الفلافونيدات. يوضع 2مل من المستخلص المائي أو الكحولي في انبوبة اختبار يضاف اليها 1مل هيدروكسيد الصوديوم تركيز 1 مولاري، ظهور اللون الأصفر الفاتح دليل على وجود الفلافونيدات [6].

القلويدات. يوضع 1مل من المستخلص المائي أو الكحولي في انبوبة اختبار يضاف أليها عدة قطرات من كاشف

واجنرWagner، ظهور راسب بني دليل على وجود القلويدات[6] .

**التأثير البكتيري للمستخلص بطريقة الانتشار (Disc diffusion assay)**

على أطباق تحتوي على الوسط الغذائي آجار مولر–هنتون Muller Hinton agar. لُقحت البكتيريا باستخدام ماسح قطني cotton swab بطريقة التخطيط streak-plate، جُهزت ورقة ترشيح Whatman No.3 على شكل أقراص بقطر 5 ملم بطريقة معقمة، ثم غُمرت في المستخلص المائي والكحولي لمدة 30 دقيقة، جُففت الأقراص على درجة حرارة الغرفة، ثم وُضعت على الأطباق وحُضنت لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 37م˚ لملاحظة النمو البكتيري من عدمه.

**التأثير البكتيري للمستخلص بطريقة الحفر (Well diffusion assay)**

على الوسط الغذائي آجار مولر–هنتون زُرعت الأنواع البكتيرية المستخدمة للدراسة، عُملت حفر ذات قطر متساوي باستخدام انبوبة درهام Durham في وضع مقلوب وبطريقة معقمة، ثم باستخدام شوكة معقمة Needle أُزيح الوسط الغذائي غير المرغوب فيه ليكون حفر، نقل 25 ميكرو لتر من المستخلص المائي بواسطة ماصة معقمة Pipette ووُضعت في الحفر. وبنفس الطريقة أُجريت على المستخلص الكحولي. أخذ في الاعتبار التركيز الممرض للبكتريا باستخدام معامل ماكفرلاند ومقارنته لعكارة البكتيريا [7].

**قياس التركيز الأقل تثبيط (MIC)للمستخلصين المائي والكحولي**

اعتمادا على التوصيات المقدمة من معهد المعايير السريرية للمختبرات Clinical Laboratory Standards Institute CLSI [10]. تم استخدام طريقة التخفيف المتسلسل broth micro dilution test واستخدمت التراكيز بواقع (200، 100، 50، 25، 12.5 و6.25 ميللجرام/ مل). في الحفرة الأولى وُضع 25 ميكرو لتر من الوسط الغذائي Muller Hinton broth ثم لُقح بـــحوالي 3 من المستعمرات البكتيرية المستهدفة للدراسة وأُضيف اليها 25 ميكرو لتر من المستخلص المائي، أُجري التخفيف المتسلسل ووُضعت الاطباق في الحضانة لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 37م˚. وللتأكد من نمو البكتيريا يتم إعادة زرع كل تركيز على وسط صلب. كُرر العمل بنفس الخطوات مع المستخلص الكحولي.

**النتائج**

**نتائج اختبارات الكشف الكيميائي**

الصابونين: بعد رج الانبوبة بقوة وتركها لمدة 20 دقيقة لوحظ تشكل رغوة مقدارها 1 سم، مما يدل على أن الاختبار إيجابي ويعني وجود الصابونين.

الفلافونيدات: بعد إضافة 2مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري، لوحظ ظهور اللون الأصفر مما يدلل على وجود الفلافونيدات.

القلويدات: عند إضافة قطرات من كاشف واجنر لوحظ تشكل راسب بني، مما يشير على وجود القلويدات.

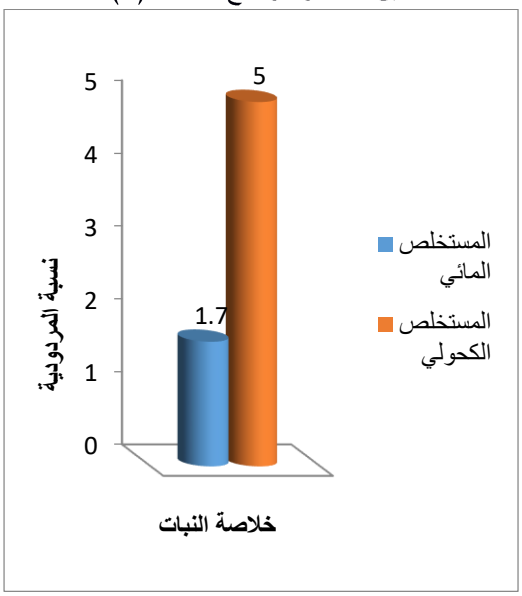
**الجدول (1) المركبات الفعالة للمستخلصين المائي والكحولي.**

| المركبات الفعالة | المستخلص | |
|---|---|---|
| | المائي | الكحولي |
| الصابونين | + | + |
| الفلافونيدات | + | + |
| القلويدات | + | + |

+ تدل على وجود مادة فعالة

**المردودية الانتاجية للمستخلصين**

تم حساب المردودية الانتاجية من كتلة المادة النباتية الجافة المستخدمة كمادة خام، وكتلة المادة النباتية الجافة المستخلصة لكلا المستخلصين كما هو موضح بالشكل (1)




**الشكل (1)** نسبة المردودية الانتاجية للمستخلصين المائي والكحولي.

**نتائج الاختبارات البيولوجية**

في هذه الدراسة تم استخدام ثلاثة أنواع بكتيرية، موجبة الجرام (المكورات العنقودية الذهبية)، وسالبة الجرام (الاشريكية القولونية والكلبسيلا) استخدمت لمعرفة حساسيتها لمستخلصات أوراق نبات الخبيزة *Malva parviflora*، أوضحت النتائج أن المستخلصين المائي والكحولي لم يكن لهما أي تأثير على نمو

كل الأنواع البكتيرية المستهدفة في الدراسة كما هو موضح بالجدول (2) والجدول (3).

**الجدول (2) التركيز الأقل تثبيط للمستخلص الكحولي لأوراق نبات الخبيزة.**

| البكتريا | التراكيز المستخدمة (ملجم/مل) | | | | التخفيف المتسلسل | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 200 | 100 | 50 | 25 | 12.5 | 6.25 |
| *E.coli* | + | + | + | + | + | + |
| *S.aureus* | + | + | + | + | + | + |
| *Klebsiella* | + | + | + | + | + | + |

(+) وجود نمو بكتيري

**جدول (3) التركيز الأقل تثبيط للمستخلص المائي لأوراق نبات الخبيزة**

| البكتريا | التراكيز المستخدمة (ملجم/مل) | | | | التخفيف المتسلسل | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 75 | 37.5 | 18.75 | 9.37 | 4.68 | 2.34 |
| *E.coli* | + | + | + | + | + | + |
| *S.aureus* | + | + | + | + | + | + |
| *Klebsiella* | + | + | + | + | + | + |

(+) وجود نمو بكتيري

**المناقشة**

أظهرت النتائج أن نسبة المردودية الانتاجية للمستخلص الكحولي (5%) بينما بلغت نسبة المردودية الإنتاجية للمستخلص المائي (1.7%)، وقد يعزى ذلك الى ان المواد المستخلصة ذات قابلية للذوبان في الوسط الكحولي أكثر منه في الوسط المائي. وأوضحت نتائج اختبارات الكشف الكيميائي الأولى، أن مستخلص أوراق نبات الخبيزة تحتوي على بعض المركبات الفعالة (الصابونين، الفلافونيدات، القلويدات)، حيث اتفقت دراستنا بهذه النتائج مع دراسة [11] ، والتي تشير إلى وجود المواد الفعالة بنبات الخبيزة ، إضافة الى مواد فعالة أخرى تشمل التانينات ، الراتنجات و الفينولات . بينما اختلف دراستنا مع دراسة [13]، حيث لم يكن هناك أي تأثير للمستخلصين المائي والكحولي لأوراق نبات الخبيزة على تثبيط نمو كل الأنواع البكتيرية المستخدمة في الدراسة، وقد يعزى عدم وجود تأثير لهذه المستخلصات إلى أن التركيز المستخدم قد يكون أقل من التركيز المؤثر على البكتريا، كما قد تمتلك البكتريا خاصية المقاومة للمادة الفعالة الموجودة لهذا النوع من النبات الموجود في البيئة الليبية. وربما قد تكون هناك أسباب أخرى غير معروفة أدت إلى ظهور هذه النتائج.

**التوصيات**

اجراء المزيد من الدراسات على نفس النبات باستخدام تراكيز أعلى و

مذيبات عضوية مختلفة مثل الأسيتون، الميثانول، الكلوروفورم. كما يوصى باستخدام أنواع أخرى من البكتيريا. وكذلك استخدام أجزاء أخرى من النبات مثل، الأزهار والسيقان والجذور كما يراعى في ذلك مواسم جمع النبات والبيئات مختلفة له.

**قائمة المراجع**


[1]- أبولقاسم، ايمان. البلبالي، زهور.عثمان، زهوة. ابوخريص، عمر، هواد، علي. والمختار، إبراهيم. 2015م. التأثير الحيوي للمستخلص المائي والعضوي لنبات حبة البركة ونبات حب الرشاد على بعض أنواع البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة جرام، مجلة جامعة سبها للعلوم البحثية والتطبيقية، المجلد الرابع عشر، العدد الأول، ص ص 28-35.

[2]- زينب ، أسمهان. 2012 م. التأثير الحيوي لمستخلصات نبات الأس الشائع في نمو لعض البكتيريا الممرضة، مجلة الحياة النباتية، المجلد الثامن والعشرون، العدد الثاني، ص ص51-69.

[3]- حسين، فوزي، 1998.النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي، الخرطوم، السودان.

[4]- شمسة، بسمة.2015م. دراسة مقارنة للمردودية والنشاطية المضادة للأكسدة في المستخلص الكحولي والمائي عند نبات *(Zygophyllum album L.)*. رسالة ماجستير. كلية علوم الطبيعة والحياة – جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي.

[5]- عبيد، زينة. محمود، نور. ومزهر، أمير. 2013م. تأثير المستخلص المائي للرمان والنعناع على فعالية ونمو الفطر *Alternaria Alternata*، مجلة جامعة بابل، كلية العلوم الصرفة والتطبيقية، المجلد الحادي والعشرون، العدد الثالث، ص ص 892-901.

[6]- نعمة ، جبار دهري. ابومجداد، نجوى محمد. جبر، افاق مهدي. 2007م. تقييم الفاعلية الضد مايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدر. *Ziziphus spins-christi* (L) Def. مجلة البصرة للعلوم المجلد الخامس والعشرون ،العدد الأول ، ص ص 1-16.

[7]- Abeed, Ali., Bennour, Emad., Sawadi, Ahmed., and Elbaz, Abdulkareem. 2018. Synergistic Antibacterial Activity of Ethanolic Extracts of Olea europaea and Ficus carica Leaves Against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Lebda Medical Journal. Vol. 4, Jun. :127-131.

[8]- Afolayan AJ., Aboyade OM., and Sofidiya MO.2008. Total phenolic content and free

radical scavenging activity of Malva parviflora L. (Malvaceae). J Biol Sci. 8(5):945-949.

[9]- Brooks, G.F Carroll, K.C. Butel, J.S. Morse, S.A. 1998. Jawetz melnick and Adelbergs medical microbiology. 1 St, ed. Appleton and lange. Asimon and Schusterco, California.

[10]- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. seventh edition. clsi document m7-a7 (isbn 1-56238-587- 9). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

[11]- Farhan, Hussein. Rammal, Hassan. Hijazi, Akram. and Badran, Bassam. 2012. Preliminary Phytochemical Screening and Extraction of Polyphenol from Stems and Leaves of a Lebanese Plant Malva Parviflora L. Int J Curr Pharm Res, 4(1): 55-59.

[12]- Shihata, I.M. 1951. A pharmacolog-ical study of Anagallis arvensis. MSc. Thesis, Faculty of Vet. Med. Cairo University. Egypt.

[13]- Tadeg, H. Mohammed, E. Asres, K.and Gebre-Mariam, T.2005.Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders. J Ethnopharmacol. 100:168-175.

[14]- World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. Available at: http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/.

[15]- Yadav, R.S. and Kumar, S. 2006. Antifungal properties of essential oils of menthe spicate L.var. mss – 5, Insian J. crop Scince, 1, 197.