وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
الجامعة المستنصرية
كلية التربية الأساسية

مجلة كلية التربية الأساسية

مجلة علمية محكمة تصدرها كلية التربية الأساسية في الجامعة المستنصرية – بغداد

العدد الخاص والسبعون | آذار 2013 | المجلد التاسع عشر

طبعت في دار المصادر
بغداد – الوزيرية – مجاور المكتبة المركزية لجامعة بغداد
Email: nasermkei@yahoo.com
Mobail : 079091979454

تأثير مستخلص قشور ثمرة الرمان في بعض العزلات البكتيرية المرضية

ايناس عبد الهادي حسين
سليمة صالح مهدي
سندس عبد المهيمن
انتصار كريم
جامعة بغداد، كلية التربية (ابن الهيثم)، قسم علوم الحياة

الخلاصة:

درس تأثير المستخلص المائي والكحولي لقشرة ثمرة الرمان على عزلات مرضية مختلفة من البكتريا السالبة والموجبة لملون غرام وشملت هذه العزلات كل من *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus epidermis* و *Eschrichia coli* و *Klebsiella* spp. و *Proteus* spp. واظهر المستخلص تأثيراً واضحاً في جميع العزلات وقورن هذا التأثير مع تاثير ثمان مضادات حيوية وشملت Streptomycin، Vancomycin، Imipenen، Piperacillin، Gentamycin، Amoxicillin وChlororamphenicol وقد تبين من خلال هذه الدراسة ان تأثير المستخلص المائي والكحولي لقشور الرمان كان اكثر في بعض هذه العزلات من تأثير المضادات الحيويه.

المقدمة Introduction

شجرة الرمان *Punic granatum* واسمها الانكليزي هو *Pome Granate* يصل ارتفاعها الى 6 امتار لها اغصان متدلية في اطرافها اشواك و اغصانها و اوراقها تميل الى اللون الاحمر و ازهارها حمراء فاتحة اللون جميله المنظر و تسمى ازهار الرمان بالجنار و هدا معرب لكلمه كنار الفارسية و معناها الورد الاحمر ، اما الثمره كروية الشكل تحمل تاجا و قشر الثمرة جلدية القوام ، الموطن الاصلي للرمان جنوب غرب اسيا (ايران) و الشمال الغربي من بلاد الهند انتقل منها الى شمال افريقيا و بابل و مصر و حوض البحر المتوسط و اوربا.و

الرمان على ثلاثة انواع هو الحامض و الحلو و المعتدل وقد ورد ذكر الرمان في القران المجيد في سوره الرحمن اية 68 (فاكهه و نخل ورمان) (1،2).

استعمل الاغريق و الهنود قشور الرمان لطرد الديدان المعوية اما الفراعنة فقد استعملوا قشور الرمان مخلوطا بالزنجبيل لمنع حالات الاسهال و القئ و عالجوا به حالات الجرب والقروح والجروح وبعض الامراض الجلدية الاخرى على هيئه لخان (3) اما (4) لاحظ ان قشور الرمان لها فوائد طبية اذ تستعمل في حالات الاسهال (Diarrhea) والزحار (Dysentery) لاحتوائه على مادة (Tannin) وهي قابضة (Dstrige) ، وقد اظهرت جرثومة السالمونيلا *Salmonella* المعزولة من المصابين بالاسهال حساسية عالية تجاه المستخلص المائي و الكحولي لقشور الرمان (5) اما (6) فقد اثبتت ان المستخلص المائي و الكحولي لقشور الرمان ذو تأثير عالي على عصيات الزحار *Shigella flexenera*، *Salmonella typhimurium* و المكورات العنقوديه الذهبية *Staphylococcus aureus* هذا وقد اثبتت ان قشور الرمان لها فعالية تثبيطية عالية ضد الجراثيم الممرضة للانسان و ان المستخلص المائي و الكحولي لقشور الرمان له فعاليه تثبيطية قوية ضد الفطريات الجلدية و الانتهازية لذلك فهو يستخدم في علاج اصابات الجلد التي تسببها الفطريات كما يستعمل في علاج الجروح و الخراجات و السعال و الالتهابات البولية (7، 8، 9).

وقد ثبت ان قشور الرمان تحتوي على Glutanic وهو احد مشتقات حامض التنيك ش (Taunic acid) ذي الطبيعة القابضة و نسبة 3% وتحتوي على مواد عفصية بنسبه 20%-25% و تكون عبارة عن Punicalin وPunicalagin وGranatine وGall Taninsp وتحتوي قشرة الرمان على 28% من التانين Tannin و قد فصل من قشره الرمان القلويدات السائلة الطيارة و اهمها البليتارين Pelletiarine و الذي يستعمل بكفاءة لعلاج الديدان الشريطية Tap Worm (10، 11، 12، 13)

وما تزال الدراسات حول استخدام مستخلص نبات الرمان بجميع اجزائه قليلة جدا في العراق علما ان كل عضو من اعضاء هذه الشجرة له تاثير طبي حيث ان شراب الرمان و نقيع و مسحوق القشور و الساق و الجذور يستخدم في علاج الاسهال و الديزنتري لانه يعمل على تغير طبيعه بروتينات الامعاء و يقلل من ارتشاح السوائل فضلاً عن انه يقتل الجراثيم و يمدص السموم الجرثومية (14، 15، 16) و اشير الى ان نقيع القشور يستخدم بمفرده مع الرز لعلاج

الام المعدة و التهابات الامعاء و القولون (16، 17) و عصارة و نقيع القشور و السيقان تستخدم لعلاج كثره الافرازات المهبلية لخواصها القاتلة للبكتريا و الفطريات (16، 18) اما الغرض من هذه الدراسة فهو لبيان تأثير مستخلص قشور ثمره الرمان الكحولي و المائي ضد العديد من البكتريا المرضية المنتشرة داخل القطر علاوة على وضع الاسس الصحيحة حول استخدام هذه المواد في علاج امراض عديدة و مقارنة تأثير المستخلصين الكحولي و المائي مع المضادات الحيوية.

المواد و طرائق العمل

1- مصدر العينات النباتية:

أ- تم شراء 1 كغم من ثمار نبات الرمان من السوق المحلي بتاريخ 2010/7/10.

ب- تم التحقق من الاسم العلمي للنبات قيد الدراسة من قبل استاذ تصنيف متخصص وحفظ قسم من العينة في المعشب.

ج- اخذت قشور ثمار نبات الرمان وجففت ثم سحقت باستخدام Blender كهربائية وحفظت بكيس نايلون لغرض الدراسة.

2- طرق الاستخلاص:

استخدمت الطرائق الاتية لاستخلاص المكونات الكيمياوية لقشور ثمار النبات:

أ- طريقة الاستخلاص الكحولي: حورت طريقة Sato *et al.* (2000) (19) للاستخلاص بوزن 20 غم من مسحوق قشور ثمار النبات وذلك بوضعها في كشتبان Tumble في جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet Apparatus بأستخدام الكحول الاثيلي 150 مل كمذيب واستمرت عملية الاستخلاص ثلاث ساعات بدرجة حرارة 60 م° بعدها رشح المستخلص المتجمع في دورق الاستخلاص باستخدام نظام الترشيح Millipore Filter. جفف المستخلص وجمع بانابيب معقمة وبدرجة حرارة 37 م° وحفظ لحين الاستخدام.

ب- طريقة الاستخلاص المائي الحار:

اتبعت الخطوات للطريقة أ اعلاه لكن بأستخدام الماء المقطر 150 مل كمذيب بدرجة حرارة 100 م° واكملت نفس خطوات الترشيح للحصول على المستخلص حفظت جميع النماذج المتجمعة من طرق الاستخلاص بأوعية زجاجية معقمة وبدرجة حرارة 4 م° لحين الاستخدام.

3- مصدر العينات البكتيرية :

تم الحصول على ست عزلات بكتيرية مشخصة معزولة من مرضى بالغين والقسم الاخر من الادرار والخروج Stool ومن مناطق مختلفة من الجسم اخذت مسحة من الجلد لمرضى راقدين في مستشفى ابن البلدي في بغداد خلال شهر آب لعام 2010 وكمايأتي: *Proteus* spp.، *E. coli*، *Pseudomonas* spp.، *S. aureus*، *S. epidermis*، *Klebsiella* spp. اجريت بعض الاختبارات البايوكيمياوية Biochemical Test للتحقق من اجناس العزلات في المختبر.

4- فعالية المستخلصات تجاه العزلات:

حضرت تراكيز قياسية في المستخلصات النباتية (الكحولية والمائية الحارة) وكما يأتي:

أ- المستخلص المائي:

وزن ا غم من المستخلص واذيب في 1 مل من الماء المقطر المعقم.

ب- المستخلص الكحولي وحضر حسب طريقة Dechmukh & Borle (1975) (20) حيث تم وزن 2 غم من المستخلص واذيب في 1.5% كحول 93% واكمل الحجم الى 5 مل بماء مقطر معقم 400 غم/ مل اعتبرت المحاليل اعلاه محاليل قياسية Stock Solution وحضرت منها تخافيف (40، 100، 200) غم/مل واعتمدت طريقة Miles & Amyes (1996) (21) لاختبار فعالية المستخلصات اعلاه وذلك بنشر 100 مايكروليتر من المزروع البكتيري 1.5 × 10^6 خلية/ مل نمي مدة 18 ساعة ووزعت اقراص ترشيح معقمة ومغمسة بالتراكيز بالمستخلصات اعلاه مع عمل سيطرة Control تتضمن محاليل الاذابة، تركت الاطباق في الثلاجة لفترة نصف ساعة لضمان انتشار المستخلص في الوسط الزرعي، حضنت في 37 م لمدة 18 ساعة، حسبت اقطار مناطق التثبيط بطرح (المعاملة- السيطرة)، اجرينا التجربة بواقع ثلاث مكررات ثم حللت النتائج احصائياً.

اختبار حساسية العزلات البكتيرية تجاه المضادات الحيوية

اعتمدت طريقة WHO (1991) (22) في الفحص واجراء الاختبار لحساسية العزلات المستخدمة تجاه المضادات:

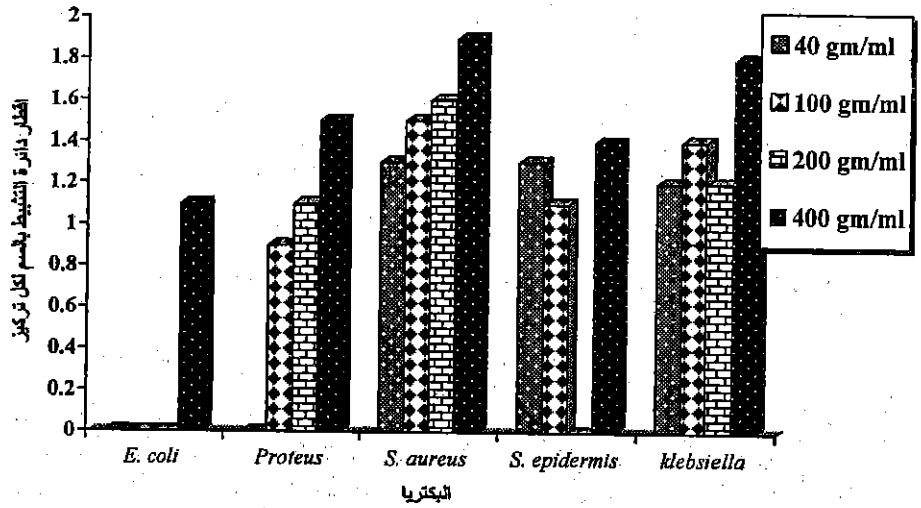
Streptomycin، Pencillin G، Vancomycin، Piperacillin، Gentamycin، Imipenen، Chlororamphenicol، Amoxicillin وقد حسبت اقطار مناطق التثبيط لغرض المقارنة مع المستخلصات وحللت النتائج احصائياً.

النتائج والمناقشة

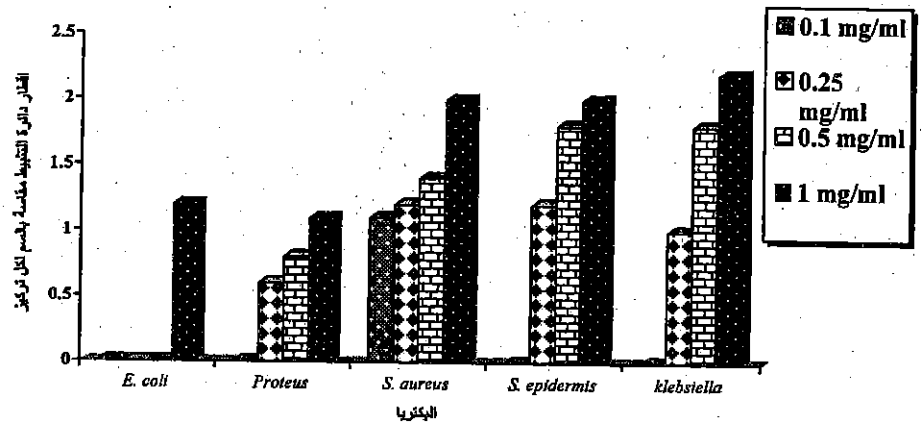
درس تأثير مستخلص قشور ثمرة الرمان المائي والكحولي على انواع عديدة من البكتريا المرضية منها (الموجبة والسالبة لملون غرام) [G^- وG^+] واستخدمت تراكيز مختلفة من مستخلص قشور ثمرة الرمان تراوحت من [0.1، 0.25، 0.5، 1] غم بالنسبة للمستخلص الكحولي والمستخلص المائي، وقد اختلفت قوة تأثيرهما من نوع الى اخر وكان اعلى تأثير لهما ضد بكتريا *S. aureus* حيث كان قطر دائرة التثبيط بتركيز 1 غم 1.9 سم بالنسبة للمستخلص الكحولي، 2 سم بالنسبة للمستخلص المائي بنمو 1.6× 10^6 خلية/ مل ويقل التأثير كلما قل التركيز بالنسبة للمستخلص الكحولي والمائي لنفس النمو وهذا موضح في الشكل (1)، في حين ينخفض قطر دائرة التثبيط 1.8 سم للمستخلص الكحولي على بكتريا *Klebsiella* اما قطر التثبيط على نفس السلالة بالنسبة للمستخلص المائي فكان 2.2 سم لنمو 1.4× 10^6 خلية/ مل لنفس التركيز في حين كان قطر دائرة التثبيط لبكتريا *Proteus* هو 1.5 للمستخلص الكحولي و 1.1 سم للمستخلص المائي لنمو1.1× 10^6 خلية/ مل اما البكتريا *S. epidermis* فكان قطر التثبيط 1.4 سم للمستخلص الكحولي و 2سم للمستخلص المائي لنمو 1.2× 10^5 خلية/مل، اما 1 غم من مستخلص القشور المائي والكحولي فتسبب بتثبيط 1.8× 10^6 خلية/مل من *E. Coli* بدائرة تثبيط قطرها 1.2 سم للمستخلص المائي 1.1 سم للمستخلص الكحولي وهذا يتفق مع ما جاء به (23) الذي اثبت ان مستخلص قشور الرمان لها تأثير ضد البكتريا الموجبة والسالبة لملون غرام (G^+، G^-) وكذلك (8) ومن هذه النتائج يتضح ان المستخلص الكحولي كان تأثيره اعلى من المستخلص المائي لجميع العزلات ما عدا الـ Proteus حيث كان تأثير المستخلص المائي اكبر، واذا ما قورنت هذه النتائج مع تأثير المضادات الحياتية لوحظ ان تأثير مستخلص قشور الرمان المائي والكحولي كان اكبر من تأثير المضادات الحياتية المستعملة في الدراسة ما عدا المضاد الحيوي Imipenen حيث كان تأثيره اكثر على البكتريا الموجبة والسالبة لملون غرام، هذا يتفق مع ما جاء به (24) حيث ان قشور الرمان تحتوي على كمية عالية من العفصيات حيث ان منسوبها العالي يؤدي الى تغيير طبيعة البروتينات للجراثيم وقتلها كما توصل الى ذلك (26,25) كما ذكرت العديد من الدراسات اهمية عصير الرمان بوصفه مضادا لتليف الكبد ومضاد للسرطانات حين ان اهذا العصير فعلا قاتلا للجراثيم وقد اعطيت خلاصات ثمار الرمان فعالية ضد انواع معينة من البكتريا بتخفيف 1-60 (27، 28) وحديثا يجري

استخدام قشور الرمان كمادة في صناعة مواد التجميل والعناية بالبشرة (29) كما ذكر فريق من الباحثين ان لعصير الرمان قدرة على تثبيط نمو وتكاثر فايروس H_1N_1.

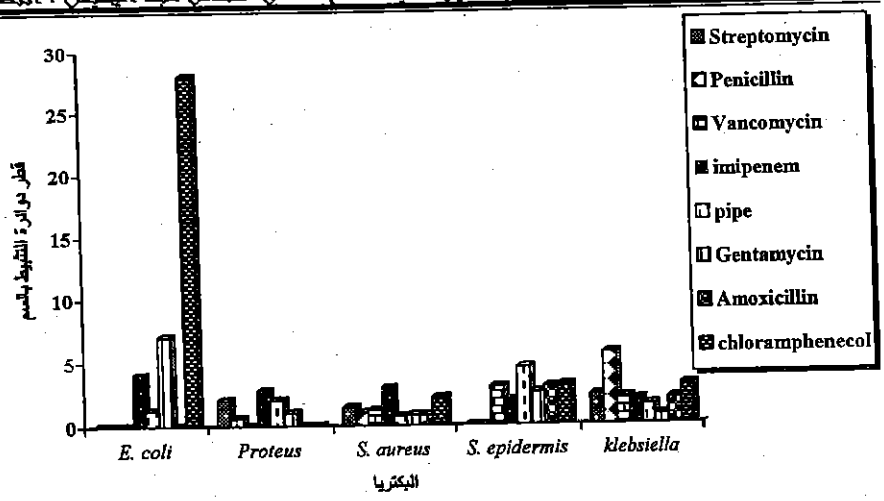
الاشكال:



الشكل (1): تأثير تركيز مستخلص قشور الرمان الكحولي في العزلات البكتيريه



الشكل (2): اقطار دائرة التثبيط التي تسببها مستخلصات قشر ثمار الرمان المائية في نمو عزلات البكتيريه .



الشكل (3): دوائر التثبيط التي تكونها اقراص المضادات الحيوية عند نمو العزلات البكتيريه

الجداول:

جدول (1): تأثير مستخلص قشور الرمان الكحولي على العزلات البكتيريه المدروسه

التراكيز / اسم البكتريا	قطر دائرة التثبيط التي تحدثها كل عزلة			
	400 غم/مل	200 غم /مل	100 غم/مل	40 غم/مل
E. coli	1.1	-	-	-
Proteus	1.5	1.1	0.9	-
S. aureus	1.9	1.6	1.5	1.3
S. epidermidis	1.4	zero	1.1	1.3
Klebsiella	1.8	1.2	1.4	1.2

جدول (2):اقطار دائرة التثبيط التي يسببها مستخلص ثمرة الرمان المائي وكيفية زيادة اقطـــار التثبيط التي تزداد بزيادة التركيز على.

التراكيز / اسم البكتريا	قطر دائرة التثبيط التي تحدثها كل عزلة			
	400 غم/مل	200 غم /مل	100 غم/مل	40 غم/مل
E. coli	1.2	-	-	-
Proteus	1.1	0.8	0.6	zero
S. aureus	2	1.4	1.2	1.1
S. epidermidis	2	1.8	1.2	zero
Klebsiella	2.2	1.8	1	zero

جدول (3): اقطار التثبيط التي تسببها اقراص المضادات الحيوية على العزلات البكتيريه.

المضاد الحيوي / اسم البكتريا	Strept-omycin	Penci-llen	Vanco-mycin	Imip-enen	Piper-acillin	Genta-mycin	Amox-icillin	Chlorora-mphenicol
E. coli	zero	zero	zero	4.1	1.2	7	zero	28
Proteus	2	0.6	zero	2.8	2	1	zero	zero
S. aureus	1.4	1	1.2	3	0.7	0.8	0.8	2.2
S. epidermidis	zero	zero	3	2	4.5	2.5	3	3.1
Klebsiella	2.3	5.6	2.1	2	1.5	0.7	2	3.1

المصادر:

1- قطب، فوزي طه. النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. الطبعة الاولى: 85 صفحة (1977).

2- الشماع، علي عبد الحسين. العقاقير وكيمياء النباتات الطبية: 224-325 صفحة (1989).

3- Kapoor, L. D. CRC Hand book of Ayurvedic medicinal plant. CRC press Boca Raton Florida (1990).

4- Lee, J. & Watson, R. R. Pomerganate a role in health promoation and AIDS in nutrition food and AIDS, Watson R. R. (ed.). CRC press Boca Raton Florida USA: 179-192 (1998).

5- المعجم الطبي الموحد، الطبعة الرابعة، بيروت (2006).

6- Morler, F. & Miani, F. L. Pomograntum In., Fruits of warm climutes: 352-359 (1987).

7- Baron, E. J. & Finegold, S. M. Baily and Scotts diagnostic, Microb. 8th ed C.V. Mosby USA.

8- Brage, L. C.; Shupp, J. W.; Cumming, C.; Jett, M.; Takahashi, J. A.; Carmols; Chartone, S. E. & Nascimento, A. M. A. Pomegranate extract *Staphylococcus aureus* and subsequent enterotoxin production. J. Ethnopharmarol., 96: 330-355 (2005).

9- Nascimento, G. G.; Locatella, J.; Feritos, D. C. & Silva, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotics-resistant bacteria. Brazillan J. Microbiol., 31: 247-256 (2000).

10- Asuzu, L. U. & Onu, O. U. Antiulcer activity of ethanolic extract of *Combrtum dolichopetalum* root. Int. J. Crude Drug Res., 28: 27-32 (1990).

11- Samuelsson, G. Drugs of natural origin Swedish pharmacentical press, Sweden (1999).

12- Borton, S. D. Advanced in medicinal phytochemistry. Center De Recherche Pierre Faber: 64 (1986).

13- Hoffmann, D. The complete illustrated holistic herbal: A save practical guide for making and using herbal elements book Great Britain: 132 (1996).

14- Madabhushi, A. G. Project N. J. 1321 California State Science Fair. (2005).

15- سعدي، شكري ابراهيم؛ القاضي، عبد الله وصالح، عبد الكريم محمد. النباتات الطبية والعطرية والمساحة في الوطن العربي- جامعة الدول العربية المنظمة العربية للتنمية الزراعية، الخرطوم: 59-61 (1988).

16- Segura, J. J.; Morales-Romos, L. H.; Verde-Star, J. & Guerra, D. Growth inhibition of *Entamoeba histolytica* and *E. invadens* induced by pomegranate root (*Punica granatum* L.). Arch. Invest. Med. Mex., 21(3): 235-239 (1990).

17- Watt, J. M. & Breyer-Brandwijk, M. G. The medicinal and poisons plants of Southern and eastern Aferica. E. and S. Livingston Ltd. Edinburgh and London: 875-876 (1962).

18- الجنابي، علي عبد الحسين صادق. تأثير بعض المستخلصات النباتية على نمو بعض الفطريات الممرضة لجلد الانسان. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية (1996).

19- Sato, J.; Goto, K.; Nanjo, F.; Kowai, S. & Murata, K. Antifungal activity of plant extracts against *Arthrinium sacchari* and *Chaetomium funicola*. J. Biosci. Bioeng., 90 (4): 442-446 (2000).

20- Deshmkh, S. D. & Borle, M. M. Studies on the insecticidal properties of indigenous plant products. Indiah. J. Ent., 36(1): 11-18 (1975).

21- Miles, R. S. & Amyes S. G. B. Laboratory control of antimicrobial therapy 151-176 in practical medical micro-biology edit by J. G.College, A. G. Feaser, B. P. Marmion and A. Simmons. 14th ed. International student edition Mackie and Mc Caartney, Churchill living stone.

22- WHO. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. Geneva.

23- Mecarrell, E. M.; Gould, S. W. J.; Fielder, M. D.; Kelly, A. F.; El-Snakry, W. & Naughton, D. P. Antimicrobial activities of pomegranate rind extracts. J. Biomed Central Full Text: 1-8 (2008).

24- درويش، مصطفى وزلزلة، قاسم علي. موجز في علم العقاقير الطبية. بغداد، الهيئة العامة للتعليم والتدريب الصحي (1993).

25- Charzouli, K.; Khennouf, S. & Amira, S. Effect of aqueous extracts from *Quercus ilex* L. root bark, *Punica granutum* L. fruits peel and *Artemisia herba-alba* leaves on ethanol-induced gastric damage in rates. Phytother.Res., 13: 25-42 (1999).

26- Ashawat, M. S.; Saraf, S. & Saraf, S. Preparation and characterization of herbal creams for improvement of skin viscoelstic preparation. Int. J. Cosmet. Sci., 30(3): 93-183 (2008).

27- Neurath, A. R.; Strick, N.; Li, Y. Y. & Debnath, A. K. *Punica granatum* juice provides an HIV-I entry inhibitor and candidate topical microbicide. Ann. New York Acad. Sci., 1056: 311-327 (2005).

28- Lansky, E. P. & Newman, R. A. *Punica granatum* (pomegranate) and potential for prevention and treatment of inflammation and cancer: J. Ethnopharm., 109: 177-206 (2007).

29- Reddy, M. K.; Gupta, S. K.; Jacob, M. R.; Khan, S. I. & Ferrira, D. Antoxdative, antimalari and antimicrobial activities of tannin-rich fraction, ellagitannins and phenolic acid from *Punica granatum* L. Planat med., 73(5): 461-467 (2007).

Effect of *Punic granatum* extraction of some pathogenic isolate

Enas A-H. Hussain, Salima S. Mahdi, Sundus A-M Hadaria and Entisar Karim

Effect of *Punic granatum* extraction of some pathogenic isolate

The effect of (aqueous and alcoholic) extracts of *Punic granatum* cover was studied against some of pathogenic isolates of gram positive and negative bacteria include *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermis, Eschrichia coli, Klebsiella* spp., *Proteus* spp. Both of extracts showed highest inhibition activity as compared with effect of hight antibiotics include Streptomycin, Vancomycin, Imipenen, Piperacillin, Gentamycin, Amoxicillin and Chlororamphenicol. This result showed that the two extracts more effect than the effect of the antibiotics.

Ministry of Higher Education
& Scientific Research
Al-Mustansiriyah University
College of Basic Education

JOURNAL OF THE COLLEGE OF BASIC EDUCATION

A REFEREED SCIENTIFIC JOURNAL

Vol. 19
Nunber: 78
2013