تاثير المثبط لزيوت بذور بعض اصناف القرع ضد بعض انواع البكتريا المرضية

اياد وجيه رؤف الشهواني*، كريم معيان ربيع الزبيدي** وسلفا انترانيك زوكيان***

* كلية العلوم / جامعة بغداد

** كلية الزراعة /جامعة بغداد

*** كلية العلوم /جامعة بغداد

الخلاصة

اجريت دراسة لمعرفة التاثير التثبيطي لزيت بذور ثلاثة اصناف من القرع وهي قرع الكوسة *Cucurbita pepo* L وقرع العسلي *Cucurbita moschata* وقرع العناكي *Cucurbita maxima* على ثلاثة مسببات مرضية جلدية بكترية هي *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Proteus vulgaris* عزلت من تقرحات جلدية، وقد اظهرت النتائج اختلاف في نسب مكونات الاحماض الدهنية لهذه الزيوت مع تباين في بعض الصفات الفيزيائية الامر الذي انعكس على فعاليتها الحيوية، اذ اشتركت جميعها في تاثيرها التثبيطي ضد *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* في حين انفرد زيت بذور القرع صنف العناكي بتثبيطه للـــ *Proteus vulgaris*، كما كانت اكثر التراكيز فعالية 5 و 10و 15% (W/V). لقد اظهرت هذه الدراسة امكانية استخدام زيت قرع العناكي *Cucurbita maxima* في التحضيرات الدوائية ضد بعض المسببات المرضية الجلدية.

المقدمة

يحتل العلاج بالنباتات الطبية في هذه الايام حيزا كبيرا في الاستعمالات الطبية لاسيما علاج الامراض الجلدية والباطنية لاحتوائها على الكثير من المواد الفعالة ذات الفعل الفسلجي الدوائي(9)، كما انها قد تمتلك قدرة تثبيطية كبيرة لانواع بكتيرية لانها تسلك سلوك المضادات الحيوية في قدرتها على احداث خلل او توقف بعض المسارات الايضية في الخلية البكتيرية (2).

تأتي أهمية نبات القرع من استعماله كغذاء للإنسان فضلا" عن استعمالاته الطبية الكثيرة (2). وتكمن الأهمية الطبية في البذور التي تحتوي على نسبة عالية من الزيوت والتي تتجاوز 40% لبعض الأصناف. إذ تستخدم في المجال الطبي لاحتوائها على الـــ cucurbitacin الذي يعمل كمثبط لعملية تحول Testostone إلى Dihydrotesterone (8) كما ان وجود الزنك والأحماض الامينية في بذور القرع يرفع من أهميتها كونهما يعدان من العناصر العلاجية ذات التأثير العميق في معالجة تضخم البروستات واضطراب المثانة (11) إضافة إلى ان زيتها يحتوي على عدد من الاحماض الدهنية غير المشبعة منها oleic acid و linoleic acid (4) و (5).كما يحتوي القرع على أنزيم الـــ peptidase الذي يحول البروتين غير الذائب peptone إلى حالة يمكن الاستفادة منها من قبل المصابين بأمراض الكلي(12)، كما يعالج مستحلب البذور تضخم البروستات عند المسنين وما يرافقه من اضطرابات التبول في حين يع بتو زيت البذور مقويا" للأعصاب ولب الثمرة يستعمل خارجيا" لعلاج حرقة الأطراف بسبب الحمى وككمادات للدمامل(2) تتميز الزيوت الثابتة بأنها لا تتبخر أو تتطاير عند تعرضها للهواء الجوي وهي توجد في خلايا النباتات الدنيا والراقية جميعا وبشكل قطرات دهنية تسبح في سايتوبلازم الخلية إذ تشكل إحدى المواد المولدة للطاقة ضرورية في متطلبات الحمية للإنسان، ومنها ما هو ضروري للنمو إذ إن جسم الإنسان يعجز عن تكوينه مثل حامض Linoleic acid، وحامض Linolenic acid الذي يؤدي الحرمان منهما إلى تساقط الشعر والى آفات جلدية متعددة (1) لقد اثبتت التجارب العلمية ان للنباتات العراقية الطبية تاثيرا واضحا على انواع من البكتيريا المرضية مثل *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و*Proteus vulgaris* ومن هذه النباتات القرنفل وقلف اليوكالبتس وبذور القطن ولسان الحمل وذلك لاحتوائها على القلويدات والراتنجيات

وغيرها من المواد الفعالة الاخرى(1). ان العديد من بذور العائلة القرعية غنية بالزيت والبروتين ورغم ذلك تستغل هذه الزيوت صناعيا"(6).

وبالنظر للاهمية الطبية لزيت بذور القرع ولقلة البحوث والدراسات العلمية لتحديد افضل اصناف القرع ذات الفعالية التثبيطية للمسببات المرضية الجلدية، لذا فقد تضمن هذا البحث دراسة الفعالية التثبيطية لزيت بذور ثلاثة اصناف من القرع (قرع الكوسة *Cucurbita pepo* وقرع العسلي *Cucurbita moschata* وقرع العناكي *Cucurbita maxima*) على ثلاثة مسببات مرضية جلدية بكترية (*Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Proteus vulgaris*) بهدف استخدام افضلها في تصنيع المراهم الطبية لمعالجة الامراض الجلدية خارج جسم الحي.

المواد وطرائق العمل

1 –**تحضير المستخلصات الزيتية لبذور القرع:**

تم الحصول على بذور الاصناف المحليه لقرع الكوسة والعسلي والعناكي من الأسواق المحلية وقد أجريت عملية اختبار لنسبة الإنبات بزراعة 100 بذرة في إطباق بتري وتركت على درجة حرارة الغرفة لمدة يومين وكانت نسبة إنباتها 94%. زرعت البذور في احدى حقول جامعة بغداد في 2006/3/15 خلال الموسم الربيعي وعلى جهة واحدة من المصطبة وعزلت السواقي عن بعضها لتؤمن انفصال الوحدات التجريبية عن بعضها. أجريت جميع عمليات الخدمة المتعلقة بالمحصول من خف وتعشيب وعزق ومكافحة وري وحسب ما جاء في (3)، وقد تم جمع الثمار واستخراج البذور في 2006/8/15.

تم تجفيف البذور على درجة حرارة 50 م^0 لمدة 24 ساعة بعد ذلك طحنت البذور بواسطة مطحنة كهربائية. واستخلص الزيت من مسحوق البذور بإضافة المذيب العضوي(بترولیوم أيثر) درجة غليانه(40–60م^0) وبنسبة 5 غم من المسحوق إلى 100 مل من المذيب باستخدام جهاز soxhlet على درجة حرارة 50م^0 ولمدة 16 ساعة بعدها تم التخلص من المذيب بواسطة جهاز المبخر الدوار على درجة حرارة 50م^0 ايضا" ثم وزن الزيت(3).وقد تم جمع الثمار واستخراج البذور في 2006./8/15

2– **فصل الزيوت الثابتة من زيت بذور القرع**

فصلت الزيوت الثابتة من زيت بذور القرع باستعمال طريقة التقطير البخاري (Steam Distillation) وذلك باستخدام 4 غم من زيت بذور القرع.

3– **تقدير الأحماض الدهنية في زيت بذور نبات القرع:**

أذيب 0.5 غم من زيت بذور القرع في 50 مل من مزيج الميثانول والبنزين(1:1) والذي أضيف إليه 20 مل من(4) عياري هيدروكسيد الصوديوم الميثانولي ووضع المزيج في دورق زجاجي وأجريت عملية الصوبنة لمدة ساعتين بعدها استخلصت المواد الناتجة بوسـاطة (petroleum ether, grase analytical).ثم أخذت الطبقة المائية(المواد المتصوبنة) وجففت بوساطة كبريتات الصوديوم اللامائية(anhydrous Na_2SO_4) ثم جففت بوساطة حامض الهيدروكلوريك(6 عياري إلى pH = 2)، أعقبها استخلاص المحلول الناتج بوساطة (petrollium ether) وأخذت الطبقة الايثرية وركزت بوساطة المبخر الدوار إلى 2 مل وأجريت لها عملية المثيلة (methylation) وذلك بإضافة 2 مل من ثالث فلوريد البورون (14%)(BF3 14 %) إلى الطبقة الايثرية ويسخن المزيج على حمام مائي مغلي، ثم أوقف التفاعل بعد 3 دقائق بإضافة (1) مل من الماء المقطر إلى أنبوبة الاختبار، أخذت الطبقة العليا الحاوية على الأحماض الدهنية، حددت كمية الأحماض الدهنية فيها ونوعيتها باستخدام الغاز الكروموتوغرافي (Gc) نوع sigma 300 capillary Gas chromatograph من شركة(pirken eimer) ذو عمود الفصل(splloowcot column 50 m) وذلك بحضن(1) مايكروميتر من محلول الأحماض الدهنية الحرة المستخلصة من زيت بذور القرع باستعمال غاز الهيليوم كغاز ناقل واستخدمت أحماض دهنية قياسية لغرض المقارنة.

4 – الصفات الفيزيائية

قدرت الصفات الفيزيائية الآتية اعتمادا" على الطرق التي أوردها Guenther (1972) وهي:

1. الوزن النوعي specific gravity
2. معامل الانكسار refractive index
3. الحموضة Acidity.

4. الدوران الضوئي Optical rotation.
5. الرقم اليودي Iodine number
6. الصوبنة Saponification .

5- التراكز المستعملة في التجربة :

بعد الحصول على زيت بذور القرع لكل صنف، تم تحضير التراكيز(15،10،5،2.5%) وذلك باذابة (5،2.5، 10،15) غم من الزيت في (100) مل من Ethylene Glycol.

6-دراسة تاثير زيت بذور نبات القرع في نمو بعض الأنواع البكتيرية:

اجريت هذه الدراسة على ثلاثة انواع من البكتيريا الممرضة، هي *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Proteus vulgaris* المستحصل عليها من مختبرات الاحياء المجهرية للدراسات العليا في قسم علوم الحياة لكلية العلوم-جامعة بغداد وتم الحصول عليها من بعض مستشفيات محافظة بغداد.

7- تحضير المزروع البكتيري:

تم تحضير العالق البكتيري على وسط الاكار المغذي لمدة تتراوح بين (18-24) ساعة وبدرجة حرارة (37)م وبعدها نقلت (3-4) مستعمرات مفردة الى انابيب اختبار حاوية على (5) مل من وسط المرق المغذي وحضنت بدرجة (37) م لمدة (18) ساعة في الحاضنة.

8-تاثير التراكيز المختلفة لزيت بذور القرع في نمو الاحياء المجهرية الممرضة :

استخدمت طريقة Agar well diffusion (14) وعلى النحو الاتي:

أ -صب (25) مل من وسط الاكار المغذي لكل طبق زجاجي.

ب -تمت مجانسة العالق البكتيري ذي زمن (18) ساعة، واجريت له التخافيف العشرية.

ت -لقح الوسط بـــ (0.1) ملم من العالق البكتيري ذي تركيز (1×410) وحدة مكونة للمستعمرة/ مل ونشر باستخدام قطنة معقمة Sterile swab وتركت الاطباق (15) دقيقة حتى تجف.

ث -عملت خمس حفر بقطر(5) ملم داخل كل طبق باستخدام ثاقب زجاجي معقم.

ج -اضيفت (0.1) مل من التراكيز المتدرجة المحضرة للمستخلصات النباتية باستعمال ماصة دقيقة معقمة، وعملت حفرة السيطرة في مركز الطبق المتمثلة باضافة ماء مقطر في حال استعمال المستخلص الكحولي وزيت الزيتون في حال استعمال زيت النبات.

ح -عملت ثلاثة مكررات لكل طبق، بعدها حضنت الاطباق بدرجة (37)م لمدة (24) ساعة في الحاضنة.

خ -حددت فعالية كل تركيز من زيت بذور بقياس قطر منطقة التثبيط(Inhibition zone)، علماً ان منطقة التثبيط هي المنطقة الخالية من النمو البكتيري.

التحليل الاحصائي :

اتبعت طريقة ANOVA table وبثلاثة مكررات واختبار اقل فرق معنوي (LSD) لمقايسة متوسطات المعاملات عند مستوى احتمال (0.05).

النتائج والمناقشة

تشير نتائج جدول(1) الى المكونات الرئيسية للاحماض الدهنية غير المشبعة لزيت بذور الاصناف الثلاثة لثمرة القرع. اذ يلاحظ تباين نسب الزيوت الدهنية الاربعة، فقد كانت متقاربة في نسبها للاحماض palmitic, stearic في حين يلاحظ انخفض Oleic وارتفع Linoleic في زيت بذور صنف النعاكي مقارنة بزيوت باقي الاصناف. كما يظهر الجدول بعض الصفات الفيزيائية والتي كانت قيمها متقاربة للزيوت مع ارتفاع حموضة زيت القرع العناكي مقارنة بباقي الصفات الفيزيائية للزيوت الاخرى.

واظهرت نتائج زيت بذور قرع صنف الكوسة(شكل 1) وجود تاثير تثبيطي فعال لجرثومة *E. coli* و *Staph*، اذ تفوق معنويا تركيز 5% و 10% ضد *E. coli* و *Staph* . على التوالي. ولم تسجل اي تاثير تثبيطي ضد جرثومة *Proteus*. لجميع التراكيزالمستخدمة.

كما تبين نتائج زيت بذور قرع صنف العسيلي(شكل 2) تاثير تثبيطي فعال ضد *E. coli* خاصة عند استخدامه بتراكيز 15% في حين كان تاثيره محدودا لـــ *Staph* . ولم

تكن هناك فروق معنوية بين باقي التراكيز المستخدمة. ولم يلاحظ وجود اي تثبيط ضد الـــ . *Proteus* برغم من زيادة التراكيز المستخدمة من هذا الزيت.

ويتضح من نتائج زيت قرع العناكي (شكل 3) تقارب الفروق المعنوية بين التاثير التثبيطي للـــ *E. coli* و *Staph* للتراكيز 2.5 و 5 و 10%. كما كان هناك تاثير تثبيطي واضح ضد جرثومة .*Proteus* عند معاملتها بتراكيز 2.5 و5 و10%، ولم تكن هناك تاثير لتركيز 15% ضدها بل اقتصر تاثيرة على *E. coli* و *Staph* فقط.

لقد اشارت نتائج في الاشكال الثلاثة الى وجود فروقات معنوية بين معدل فعالية التراكيز المستخدمة، اذ يلاحظ ان اكثرها فعالية كان 10% ويلية 5% اذ لم تكن بينهما فروق معنوية واضحة، اما الاقل فعالية فقد كان 2.5%. كما يلاحظ ان زيت بذور قرع صنف العناكي كان اكثر الزيوت فعالية ضد الـــ *E . coli* و .*Staph* و. *Proteus*، في حين كان اقلها فعالية للـــ .*Staph* زيت قرع صنف العسيلي وللـــ *E.coli* زيت صنف الكوسة.

تشير نتائج اختبار القدرة التثبيطية للزيوت بذور القرع فعالية جيدة عند استخدامها بتراكيز 5 و 10 و 15% في الاوساط الصلبة خارج الجسم الحي، اذ يلاحظ ان الزيوت الثالثة كان لها تاثير تثبيطي ضد *Escherichia coli* و *Staphlycoccus aureus* بسبب كونها احماض امينية(2)، فضلا عن تاثير زيت بذور القرع صنف العناكي ضد *Proteus vulgaris* وهذا قد يعود الى التباين في نسب الاحماض الدهنية الداخلة في تكونة، فارتفاع نسبة الـــ Linoleic acid الى 72% ربما كان هو السبب في زيادة تاثير هذا النوع من الزيوت جدول(1). كذلك ربما كان لتباين لبعض الصفات الفيزيائية الاثر في زيادة الفعالية الحيوية لهذا الزيت من خلال زيادة سرعة انتشارة في الوسط الصلب جدول(1). ويلاحظ ايضا ان تركيز 15% من هذه الزيوت لم يكن لها تاثير تثبيطي على جرثومة الـــ *Proteus* وربما يعود السبب الى لزوجة هذا الزيوت والذي قلل من انتشاره في الوسط النمو الصلب (Agar) وقلة كمية في الوسط المحيط بالبكتيريا.

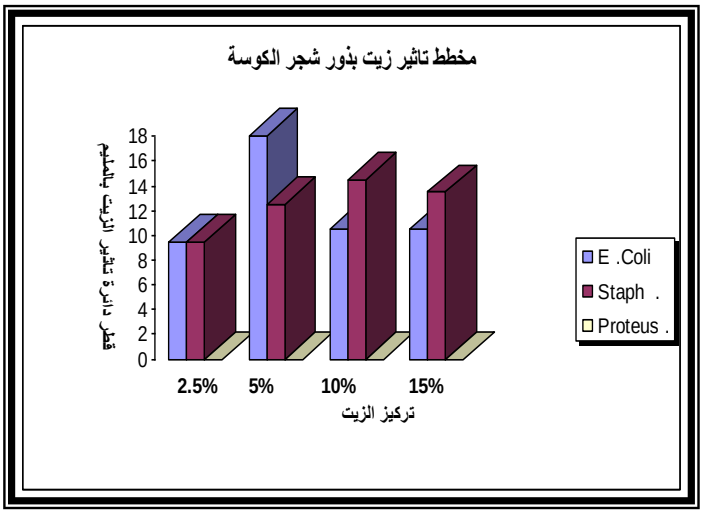
لقد جاءت هذه النتائج متماشية مع ما وجده (7)و(13) من وجود تاثير Anti-bacteria ضد العديد من الجراثيم مما يؤكد على اهمية المواد الفعالة الموجودة في زيت بذور القرع في عالم الادوية كونها مواد تطهر الجلد من بعض المايكروبات وتعمل المادة الزيتية على زيادة نعومة وطراوة الجلد.

لذا نوصي باجراء المزيد من التجارب للوصول الى المادة الفعالة في هذه الزيوت والعمل على زيادة تركيزها لزراعة وتحسين اصناف القرع لاسيما صنف العناكي وتوسع في زراعة محليا لاستخدامها في الصناعات الدوائية.

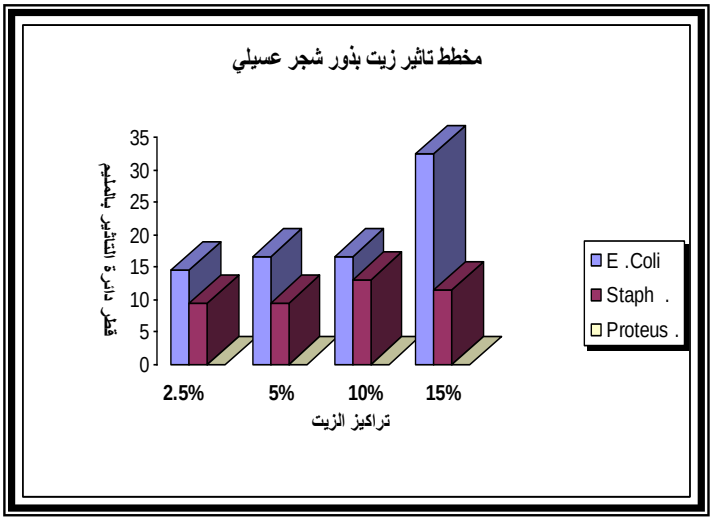
جدول (1)

الصفات الكيميائية والفيزيائية للمستخلصات الدهنية المسببات المرضية.

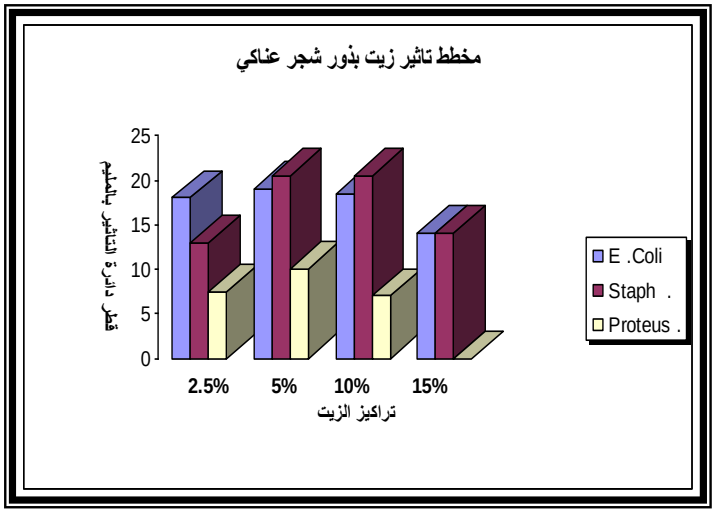
الصفات الكيميائية %				
تسلسل	الاحماض الدهنية	قرع الكوسه	قرع العسلي	قرع العناكي
1	Palmitic	14.63	12.49	12.61
2	Stearic	2.46	3.17	4.09
3	Oleic	47.24	52.99	11.09
4	Linoleic	37.58	32.12	72.27
الصفات الفيزيائية				
1	الوزن النوعي	0.915	1.45	0.99
2	معامل الانكسار	1.46	1.47	1.45
3	الدوران الضوئي	0.35	0.35	0.36
4	الحموضة	0.66	0.36	0.74
5	رقم التصبين	132.33	126.10	130.2
6	الرقم اليودي	23.00	18.66	25.21



شكل (1) تاثير زيت بذور قرع صنف الكوسة على بعض المسببات المرضية.



شكل (2) تاثير زيت بذور قرع صنف العسيلي على بعض المسببات المرضية.



شكل (3) تاثير زيت بذور قرع صنف العناكي على بعض المسببات المرضية .

المصادر

[1] زنكنه، شكريه علي محمد كريم."تاثير مستخلصات عدد من النباتات على نمو بعض انواع البكتيريا المرضية". رسالة ماجستير .كلية العلوم، جامعة الانبار العراق 2004.

[2] مجيد، سامي هاشم ومهند جميل محمود."النباتات والأعشاب العراقية بين الطب الشعبي والبحث العلمي". دار الثورة للصحافة والنشر . بغداد . العراق.1988.

[3] مطلوب، عدنان ناصر، وعز الدين سلطان محمد، وكريم صالح عبدول "انتاج الخضر"– الجزء الثاني– مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر –جامعة الموصل– العراق. 1981.

]4] جامعة الدول العربية–المنظمة العربية للتنمية الزراعي "النباتات الطبية والعطرية والسامة في الوطن العربي" . دار مصر للطباعة1988.

[5] P. Adams, and G.W. winsor, "The effects of nitrogen, Potassium, and sub-irrigation on the Yield, guality and composition of single – truss tomatoes". J. Hort. sci.1973. 48: 123 – 33.

[6] A.S. AL – Khalifa. "physicochcmical characteristic Fatty acid composition, and lipoxygenase actirity of crude pumpkin and melon seed oils" .J. Agr. Food chem. 1996. 44: 964 – 960.

[7] J. Barnes, LA Anderson, "Phillipson JD. Herbal Medicines: A Guide for Healthcare Professionals". Second Edition. London: Pharmaceutical Press 2002.

[8] D.S. Decker, and L.A. Newsom. "Numerical analysisof archaeological cucurbita pepo seeds". Hontoon Island , Florida J. Ethnobiol. 1988. 8 : 35 – 44.

[9] P.A. Oboh., E.O. Abula.The "antimicrobial activities of extracts of Sidium guagava &Citrus aurantifolia ".Niger. J. Biotechnology.1992 .8(1):25-29.

[10] E.Guenther, "Essential oils". Rol.l.,R. E. krieger publishing company, huntington New York, U.S.A.1972 .P. 18 and P.87.

[11] T.W. Walters and D. Decher Walters. "Systematic of the enlarge red Okeechobee Gourd" (Cucurbita okeechobeensis). Systematic Botany.1999. 18(2):175-187.

[12] W.R. Richar, WWW.cornell. Last modified .2000. October 2. 2000. lnternet.

[13] I. Ross.” Medicinal Plants of the World: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses”. Totowa: Humana Press1999.
[14] L.Panizzi, G.Flamini, P. L.Cioni and I. Morelli,.“Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae”. J. Ethnopharmacol.1993. 39 : 167 -170
[15] Z.Yaniv, Y. Elber, M.Zur. and D. Schafferman.” Differencesin fatty acids composition of oils of wild cruciferac seeds phyto chemistry”. 1991.30: 841-843.

Abstract

The study was carried to determine the inhibitory effects of three kinds of pumpkin seed oils *Cucurbita pepo L, Cucurbita moschata* and *Cucurbita maxima* on the growth of number pathogenic bacteria including *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* and *Proteus vulgaris* which isolated from infection skin. the pumpkin seed oils test shows different in fatty acid percentage contain with same physiology character changes. These changes caused a significance inhibition between them .the three pumpkin seed oils shows a good inhibitory effect against *Escherichia coli and Staphylococcus aureus* while only *Cucurbita maxima* shows moderate inhibition effect against *Proteus vulgaris* . The construction 5,10,15% pumpkin seed oils caused a high inhibitory effects against all the microorganisms. Due to the result pumpkin seed oil Var. *Cucurbita maxima* can used in making a drug against some pathogenic skin bacteria.