

الفعالية الحياتية لعصير اوراق الزيتون الطازج على بكتريا الاشريشيا القولونية *Escherichia coli*

دعاء كامل يوسف

محمد احمد عمران

عادل عبيد حسوني

الكلية التقنية/المسيب

الخلاصة :

هدفت هذه الدراسة الى اختبار فعالية المضاد المايكروبي لعصير اوراق الزيتون الطازج المركز بعد عصره وحفظه في الثلاجة . لغرض اجراء البحث . اذ انتخبت 10 عزلات محلية من بكتريا اشريشيا القولون *E coli* بعد ان تم عزلها وتنقيتها وتشخيصها في مختبر الدراسات العليا في الكلية التقنية / المسيب . اختبرت الفعالية الحياتية لعصير اوراق الزيتون على بكتريا اشريشيا القولون *Escherichia coli* باستخدام طريقة الانتشار في الاكار . اوضحت النتائج بان عصير اوراق الزيتون الطازج كان له تاثير فعال في البكتريا المدروسة . اذ بينت النتائج التي تم الحصول عليها ان الفعالية الحياتية لعصير اوراق الزيتون كان له تاثير مثبط لنمو البكتريا من خلال قياس قطر منطقة التثبيط (Inhibition Zone) . اذ بلغ قطرها 34 ملم مقارنة مع معاملة السيطرة .

Abstract :

The aim of this work was to examine antimicrobial activity of the concentrate fresh Olive Leaves juice after squeezing and keeping it in a refrigerator. A total of 10 isolates of *Escherichia coli* were selected after and purified in higher studying laboratory in Almussiab Technical College . The bioactivity of olive leaves juice was tested by using agar diffusion method on *Escherichia coli* .

The result revealed that Olive Leaves juice had an effect on tested microorganism . Antimicrobial activity was present via inhibition zones. The results showed that diameter of inhibition zone was 34 mm as compared with the control group .

المقدمة :

تحتوي اوراق الزيتون (**Olive Leaves**) على حوالي 5% من وزنها املاح معدنية عبارة عن كالسيوم، فوسفور، مغنسيوم، سيليكون، كبريت، بوتاسيوم، صوديوم، حديد، كلور مع احماض عضوية أهمها ماليك، وطرطيك، ولاكتيك، وجلوكوليك، و احماض دهنية عبارة عن أوليك، وصابونيك، ومادة عفصة قابضة هي التانين (Tannis)، ومادة مرة مقوية ومنشطة لوظائف المعدة والأمعاء ومقاومة لحالات الحمى (Panizzi, 1960)، وأثبتت المشاهدات الطبية أن لأوراق ثمار الزيتون تأثيرات مطهرة (Antiseptic)، ومقوية (Astringent)، ومهدئة (Zarzuelo, 1991) . وتحتوي على مركب يسمى حامض ابروبين وهي مركبات قاتلة للفيروسات و الجراثيم و الفطريات ومضادات أكسدة من أهمها ثلاث عناصر وهي هيدروكس تيروزول وحمض فانيليك و فيبراسكوزيد - حمض البنزويك ومادة اوليفيل وكذلك سكر مانيت - بلورات ترولين تريبلانين ومواد مثل استراركيديك وكمية قليلة من حمض الفري أوليك - نسبة هامة من المعادن مثل الكالسيوم و الخمائر و الفيتامينات أهمها فيتامين E-A-B1-B2 . ومن اهم الاستعمالات لاوراق الزيتون اذ ان تناول ما بين 500 و 100 ميليغرام من مستخلصات ورق الزيتون يمكن أن يخفض الكوليسترول وضغط الدم .

أكدت الدراسة أن مستخلصات أوراق الزيتون (EFA 943) تحتوي على خواص لمنع ارتفاع ضغط الدم خصوصاً ارتفاع ضغط الدم الخفيف ، و تساعد في علاج داء الملوك (النقرس) (Visioli , 1994 ; Hertog, 1993) و تعمل على خفض نسبة السكر في الدم . وافادت الأبحاث أن أوراق الزيتون استخدمت منذ القدم في علاج البواسير ولتطهير الكبد وارتفاع درجة حرارة الجسم وكمطهر عام وتستهمل أوراق الزيتون أيضاً في علاج الإجهاد المزمن وآلام العضلات والحكة والملاريا ومشاكل البروستات والطفيليات والصدفية ويمكن استعمالها أيضاً في علاج تسمم البوتوليوليزم والتهاب أنسجة المخ والتهاب الكبد والتهاب الرئوي والتهاب المثانة . وتساعد أوراق الزيتون أيضاً في علاج تصلب الشرايين والروماتيزم وفي عملية التوازن في الدم وفي مكافحة الفيروسات و الجراثيم و الفطريات (Fleming and Etchells, 1969) داخليا وخارجيا وأثبتت الدراسات الحديثة تأثيره في مكافحة فيروس نقص المناعة المكتسبة وتخفيف أعراض المرض المصابين به بالإضافة إلى تأثيره الفعال على فيروس الهيربس وكفاح الوهن والتعب وكذلك يكافح الإصابات الفيروسية بأشكالها مثل الرشح والأفولوزا بطريقتين : الأولى منع تكاثر الفيروسات و الثانية عن طريق تنشيط وتفعيل أجهزة المناعة بإنتاج خلايا خاصة تقتل الفيروسات (Renis, 1969; Elliot, 1969) وله دور في علاج تصلب الشرايين وضغط الدم وأمراض القلب إن وجود كمية كبيرة من مضادات الأكسدة المختلفة في زيت ورق الزيتون بالإضافة إلى مضادات الأكسدة في زيت بذر العنب المذيب لأوراق الزيتون يكمل بعضها الآخر ويجعل من زيت ورق الزيتون العلاج المثالي لمرضى تصلب الشرايين وارتفاع الضغط و يمنع

تصلب الكوليسترول على الشرايين ويقلل من نسبة الكوليسترول الضار (LDL) (Low Density Lipoprotein) ويرفع من نسبة الكوليسترول (HDL) (High Density Lipoprotein) (Paiva, 2001).

المواد وطرق العمل :

أ- البكتريا

تم الحصول على 12 عزلة بكتيرية من اشريشيا القولون (*E coli*) من مختبر الدراسات العليا في الكلية التقنية / المسيب واجريت عليها الفحوصات التأكيدية لغرض التأكد من نقاوتها واستخدمت الاوساط التالية لغرض تنمية وتشخيص البكتريا وهذه الاوساط هي : الوسط المغذي الصلب (Nutrient agar)، الوسط المغذي السائل (Nutrient broth)، وسط نقيع المخ والقالب (Brain heart infusion)، وسط الماكونكي الصلب (MacConk's agar) ووسط ايوسين المثيل الازرق () EMB ، وسط مولر هنتون الصلب (Muller Hinton agar) . استخدمت صبغة غرام (Gram stain) لغرض تفريق البكتريا قيد الدراسة عن الانواع البكتيرية الاخرى . كذلك تم اجراء الاختبارات الكيموحيوية (Biochemical test) لغرض التأكد من تشخيصها (Holt and Krig , 1994 ; Baron and fingold , 1990) .

ب- عصير اوراق الزيتون

اجريت عدة تجارب في المختبر لدراسة التأثير الحياتي لعصير اوراق الزيتون المركز على نشاط وفعالية بكتريا الاشريشيا القولونية *E coli* . اذ حضر عصير اوراق الزيتون بوساطة عصر اوراق الزيتون بخلاطة كهربائية نظيفة وجافة ، حفظ العصير في الثلجة لحين استخدامه في التجربة . حضرت اطباق بتري معقمه ونظيفه وحاوية على الوسط الزرعي الصلب(مولر هنتون) وزرعت بالعالق البكتيري لانوبية ماكفرلاند (العدد التقريبي لخلايا البكتريا مقداره $10^8 \times 1.5$ خليه / مل) (Barry , 1976) المراد اختباره لبكتريا اشريشيا القولون *E. coli* بوساطة مسحة قطنية معقمة ، بعدها تم عمل حفرة في كلا جانبي الوسط الزرعي بقطر 6 ملم باستخدام الثاقب الفليني المعقم (Cork borer) . اضيفت كمية مقدارها 0.2 مل من عصير اوراق الزيتون في الحفرة الواحدة لكل طبق . بحيث امتلات الحفرة وبعد اضافة العصير تركت الاطباق الحاوية على المزروع البكتيري والعصير في الثلجة لمدة 24 ساعه لغرض انتشار العصير في الوسط الزرعي (Saxena et al , 1995; Hernandez et al , 1994) . ثم نقلت الاطباق بعد ذلك الى الحاضنة بدرجة 37م لمدة 24 ساعه . وقرات النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط بوساطة المسطرة مقارنة مع معاملة السيطرة (Hernandez et al,1994) .

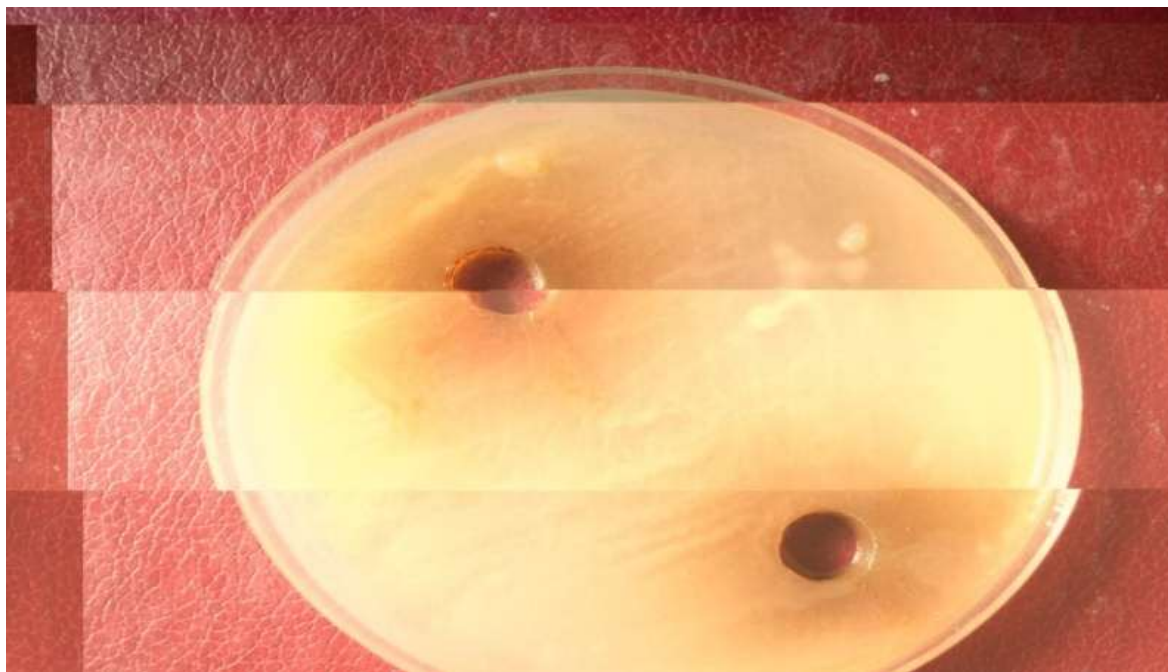
النتائج والمناقشة :

أ- بكتريا اشريشيا القولونية *E. coli*

اجريت الفحوصات التأكيدية التقليدية على العزلات البكتيرية قيد الدراسة والتي وصفت بانها عزلات اختبار محلية ومنها الوصف المزروع الخاص بمظهر المستعمرات والوصف المجهرى الخاص باشكال الخلايا البكتيرية كذلك تم اجراء الوصف الكيموحيوي . اذ اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بان 10 عزلات من مجموع 12 عزلة بكتيرية كانت تعود الى بكتريا *Escherichia coli* . (Holt and Krig , 1994 ; Baron and fingold , 1990) .

ب-

التاثير الحياتي لعصير اوراق الزيتون على البكتريا يتضح من الشكل (1) تاثير عصير اوراق الزيتون على بكتريا اشريشيا القولون مقدرًا بقياس قطر منطقة التثبيط Inhibition zone . اذ اظهر عصير اوراق الزيتون تأثيرا تثبيطيا واسعا على نمو بكتريا الـ *E. coli* . اذ ان حلقة التثبيط بلغ قطرها 34 ملم في الوسط الزرعي .



شكل (1) تأثير عصير اوراق الزيتون على بكتريا اشريشيا القولون *Escherichia coli* ان بلغ قطر منطقة التثبيط (34)

لقد اثبتت الدراسة فعالية حيائية واضحة لعصير اوراق الزيتون الطازج على نمو بكتريا اشريشيا القولون من خلال قطر منطقة التثبيط وهذا يدل على التأثير الفعال لعصير اوراق الزيتون في تثبيط نمو البكتريا المدروسة . وربما يعود هذا التثبيط على نمو البكتريا من قبل عصير اوراق الزيتون لاحتواء اوراق الزيتون على مركب يسمى ابروبين اسيد وهي مركبات قاتلة للفيروسات و الجراثيم و الفطريات . وهذه النتائج تتفق مع ما جاء به (Renis, 1969; Elliot, 1969) ان تأثير عصير اوراق الزيتون الطازج على الاحياء المجهرية المسببة للعديد من الاصابات للانسان والحيوان والنبات وذلك بسبب احتواء عصير الزيتون على مضادات أكسدة من أهمها عناصر وهي هيدروكس تيروزول وحمض فانيليك اسيد و فيبراسكوزيد - حمض البنزويك ومادة اوليفيل وكذلك سكر مانيت - بللورات ترولين تريبلانتين ومواد مثل استراركيديك وكمية قليلة من حمض الفري أوليك أسيد وهذا دليل واضح على صحة النتائج التي توصلنا اليها في هذا البحث (Fleming and Etechells, 1969) . كذلك ذكر Gudzic وجماعته (1998) بان لعصير اوراق الزيتون نشاط فعال للعديد من الاحياء المجهرية اذ اثبت تأثيره المثبط على بكتريا الاشريشيا القولونية وبكتريا الخناق (الدفثريا) وغيرها من الاحياء المجهرية الاخرى. وهذا ياكّد نشاط وفعالية عصير اوراق الزيتون على مختلف الاحياء المجهرية لما يمتلكه من مضاد مايكروبي اتجاه هذه الاحياء .

الاستنتاجات :

نستنتج من خلال الدراسة والنتائج التي تم التوصل اليها بان عصير اوراق الزيتون الطازج كان له نشاط مضاد لبكتريا اشريشيا القولون *Escherichia coli* حيث ابدت البكتريا حساسية واضحة اتجاه هذا العصير من خلال منطقة التثبيط .

المصادر :

- Baron, E.T; and S. Finegold . (1990) . Diagnostic Microbiology , 8th ed . Bailey and Scotts , The C.V. Mosloy Company .
- Barry, A.L. (1976) . The Antimicrobial Susceptibility Test , Principles and Practices , Lea and Febiger , Press Philadelphia .
- Elliot, G. (1969) . Preliminary safety studies with calcium elenoate, an antiviral agent. Antimicrob Agents Chemother.,: p. 173.
- Fleming HP, and W.W., Etechells JL. (1969) . Isolation of a bacterial inhibitor from green olives. Appl Microbiol., 18: p. 856-860.
- Hernandez,M.R.Lopez; R.M.Abonal ; V.Darias, and A.Arias .(1994).

- Antimicrobial activity of *Visnca mocanera* . Leaf extract , J, Ethnopharmacology . 41: 115-119.
- Hertog, M. (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: Zutphen Elderly Study. Lancet., 342: p. 1007-11.
- Holt, J.G; and N.R.Krig.(1994) . Bergys manual of Determinative bacteriology . 9th . ed. Williams and Welkins, USA .
- Panizzi, L.(1960) .The constitution of oleuropein, a bitter glucoside of the olive with hypotensive action. Gazz. Chim Ital., 90: p. 1449-85.
- Paiva-martins, F. (2001). Isolation and characterization of the anitoxidant component 3,4-dihydroxyphenylethyl 4-formyl-3- formylmethyl-4 hexenoate form olive leaves. J Agric Food Chem., 49(9): p. 4214-9.
- Renis, H. (1969) . In vitro antiviral activity of calcium elenolate. Antimicrob Agents Chemother,: p. 167-172
- Saxena,G.S.Farmer, Hancoek; R.E.W, and G.H.N.Towers .(1995) . Antimicrobial compounds from *Alnus rubra* , Int.J. of pharmacognosy , 33: 33-36 .
- Visioli F, G.C.(1994). Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. Life Sci., 55(24): p. 1965-1971- Zarzuelo, A.(1991). Vasodilator effect of olive leaf. Planta Med., 57(5): p. 417-9.