تشخيص المركبات الفعالة بأستخدام جهاز GC- MS في الزيوت العطرية المستخلصة من نباتي الزعتر *Thymus vulgaris* والينسون النجمي *Illicum verum*

و دراسة فعاليتها التثبيطية على بعض البكتريا المرضية

م.د. زينة كاظم عيسى اليونس

كلية الزراعة / جامعة البصرة

المستخلص

استخلصت الزيوت العطرية في هذه الدراسة من الزعتر والينسون النجمي باستعمال جهاز الكلافنجر وكانت نسب الأستخلاص للزيوت العطرية ٢,٤% و٤,٥% على التوالي، درست الصفات الفيزيائية للزيوت المستخلصة وكانت قيم معامل الأنكسار للزيوت العطرية المستخلصة١,٤٩٥٢ و١,٥٥٨٤ على التوالي، كما كانت ألوان الزيوت العطرية المستخلصة اصفر ذهبي واصفر باهت على التوالي وكان طعم زيت الزعتر حار حارق وطعم زيت الينسون النجمي حلو،كما اظهرت الزيوت العطرية ذوبان كلي في المذيبات العضوية وعديمة الذوبان في الماء.

شخصت المركبات الكيميائية الفعالة الموجودة في الزيوت العطرية باستخدام تقنية GC-MS ووجد ان زيت الزعتر يحتوي على٢٩ مركباً وأهم هذ المركبات Thymolالذي تواجد بأعلى تركيز حيث بلغت نسبته ٥٤,٨٧% ،كما وجد ان زيت الينسون النجمي يحتوي على١٩ مركباً وأهم هذ المركبات Anethol الذي تواجد بأعلى تركيز إذ بلغت نسبته ٨٦,٨٨%.

Idntificaion activity compounds as use GC-MS in essential oil from Thyme (*Thymus vulgaris*) and Star anise (*Illicum verum*) and

Study the Inhibitory Activity of Against many pathogenic Bacteria

Abstract

In this study, essential oils were extracted from Thyme and Star anise using Clevenger method. Oil yield extracted were 2.4% and 4.5% respectively. The physical properties of extracted oils have been studied. Refractive index values for

essential oils were 1.4952 and 1.5584 respectively. colors of extracted essential oils were yellow gold and pale yellow respectively, and the taste of Thyme oil was hot burning and the taste of Star anise oil was sweet,as essential oils were dissolved in organic solvents and did not dissolve in water.

The Active chemical compounds of the essential oils were characterized using GC-MS. Thyme oil contains 29 compounds,and the most important one of them was Thymol 54.87%. Star anise oil contains 19 compounds, the most important one of them was Anethol ٨٨.٦%.

المقدمة

أستعملت العلاجات الكيميائية في علاج العديد من الأمراض ألا ان اثارها الجانبية الضارة وظهور سلالات بكتيرية مقاومة لها بالاضافة الى كلفتها الاقتصادية وغيرها من العوامل الاخرى ادت الى وضع النباتات الطبية من جديد امام انظار العلماء والباحثين (عيسى ويونس ،٢٠٠٦).تمتلك النباتات الطبية خصائص مضادة للبكتريا ، للفايروسات، للفطريات ومبيدة للحشرات التي تعود الى الزيوت العطرية الناتجة من الأيض الثانوي للنباتات (Adam *et.al.*,1998 ;Bakkali *et al.*,2008).ان الزيوت العطرية عبارة عن مواد متطايرة توجد في الأزهار والأوراق النباتية وهي المسؤولة عن الرائحة العطرية في تلك النباتات والتي تميزها عن بعضها البعض وهي مهمة تغذوياً وصناعياً وتجارياً إذ تستخدم كتوابل ومواد منكهة ومطيبات أغذية في مختلف أنواع الأغذية والمشروبات كما تعتبر مواد فعالة طبيعية لذلك تدخل في صناعة الأدوية (Burce & John 1998).

الزعتر *Thymus vulgaris* نبات ينتمي للعائلة الشفوية Lamiceae وهو شجيرة ذات رائحة زكية دائمة الخضرة تنمو في عدة مناطق بالعالم(Davis,1982)، أستخدم نبات الزعتر منذ العصور القديمة لأضافة نكهة للأجبان (Akarca *et.al.*,2016) والخمور (Karabegovic *et.al.*,2012)وللحوم الأرنب،الخنزير والحمل (Cornara *et.al.*,2000) ،بالأضافة الى انه كدواء عشبي لعلاج داء الثعلبة وتكلسات الأسنان والألتهابات الجلدية والتهابات القصبة الهوائية والسعال وامراض الجلد الألتهابية واضطرابات الجهاز الهضمي (Basch *et.al.*,2004) وكمطهر وطارد للغازات وكمضاد للمكروبات ومضاد للأكسدة (Baranauskiene *et.al*.2003).

يعتبر زيت الزعتر من بين افضل عشر زيوت عطرية في العالم يستخدم كمضافات غذائية (Stahl_Biscup&Saez,2002) ويستخدم في صناعة العطور ومستحضرات التجميل نظراً لخواصها ومميزاتها العطرية الخاصة (Zarzuelo &Crespo,2002) ،تبلغ نسبة الزيوت العطرية في الزعتر من ٠,٣٢-٤,٩%(Carlen *et.al.*,2010) . يعتبرThymol وCarvacrol من المركبات الفينولية الأساسية في زيت الزعتر اما المركبات غير الفينولية السائدة فيه هما Linalool و P-Cymene (Atti-Santos *et.al.*,2004 &Goodner *et.al.*,2006).

الينسون النجمي *Illicum verum* عبارة عن ثمرة على شكل نجمة صغيرة لنبات دائم الخضرة من عائلة Illiciaceae (Wong *et al.*,2014) وهو موزع بصورة اساسية في المناطق الأستوائية وشبه الأستوائية في قارة اسيا ،ثماره تستخدم بكثرة كتوابل في الصناعات الغذائية وكمستحضرات دوائية لعلاج الام المعدة ،المغص،الام التشنجات وطرد الغازات كما ان زيت الينسون النجمي يستخدم كمستحضر موضعي لعلاج الروماتيزم ،الم الاذن وكمعقم (De *et al.*,2002 & Lee *et al.*,2003) و اشارت العديد من الدراسات السابقة ان الزيت العطري للينسون النجمي يمتلك خصائص قاتلة للحشرات ومضادة للمكروبات ومضادة للأكسدة(Singh *et al.*,2006)وان المكونات الأساسية للزيت العطري للينسون النجمي هي Anethole ,Limonene, Linalool، α_Pinene (Wang *et al.*,2006).

هدفت الدراسة الحالية

١-أستخلاص الزيت العطري من الزعتر والينسون النجمي وتقدير كميته ودراسة بعض صفاته الفيزيائية.

٢- الكشف عن المركبات الكيميائية الفعالة في الزيوت العطرية المستخلصة من نباتي الزعتر والينسون النجمي ودراسة تأثير تلك الزيوت في تثبيط بعض انواع البكتريا المرضية.

مواد وطرائق العمل

العينات:تم الحصول على اوراق نبات الزعتر المجففة وثمار نبات الينسون النجمي المجففة من السوق المحلية لمدينة البصرة وتم تنظيف العينات وسحقها وطحنها بمطحنة كهربائية وحفظت في قناني زجاجية لحين الأستعمال.

استخلاص الزيت العطري:تم استخلاص الزيت العطري بطريقة التقطير المائي Hydrodistillation بإستخدام جهاز التقطير الكلافنجرGlevenger Apparatu وكما ورد في حسين(1981)و رومو (2005).

نسبة الحاصل للزيت المستخلص: قدرت النسبة المئوية للزيت العطري المستخلص من الزعتر بعد إن اخذ وزن العينة قبل الاستخلاص و وزن الزيت المستخلص وحسبت النسبة كالأتي :

نسبة الحاصل= وزن الزيت/وزن العينة × ١٠٠

قياس الصفات الفيزيائية :

١_معامل الانكسار

قيس معامل الانكسار للزيت العطري المستخلص من الزعتر عند درجة حرارة ٢٠ م بجهاز Abbe Refractometer والمصنع في أنكلترا وفق الطريقة الواردة في الجمعية الأمريكية لكيميائي الزيوت.A.O.C.S(1971). وحسب المعادلة التالية :- $R = \acute{R} + K(\acute{T} - T)$

R: القراءة المصححة لمعامل الانكسار

Ŕ: قراءة معامل الانكسار عند درجة ٣٣ م

T: درجة الحرارة القياسية المطلوبة

Ť: درجة الحرارة التي عندها أخذت القراءة R

K: ثابت مقداره ٠,٠٠٠٣٨٥ للزيوت السائلة

٢- لون وطعم الزيوت العطرية قيد الدراسة:

قيس لون الزيوت العطرية بالاعتماد على العين المجردة واجري تقييم حسي لتحديد طعم الزيوت العطرية من قبل عشرة محكمين من منتسبي قسم علوم الأغذية والتقانات الإحيائية في كلية الزراعة - جامعة البصرة.

٣- قابيلة ذوبانية الزيوت العطرية في المذيبات العضوية و الماء

قيست الذوبانية للزيوت العطرية وذلك بأذابتها بالايثانول ،الميثانول،الهكسان،الأيثر و الماء (نسبة حجم الى حجم)(١:١) (المالكي،٢٠١٦).

تشخيص المركبات الفعالة في الزيوت العطرية قيد الدراسة

تم تشخيص المركبات الفعالة في الزيوت العطرية قيد الدراسة باستعمال جهاز كروموتوكرافي الغاز المتصل بمطياف الكتلة نوعGC-MS QP2010 Ultra، SHIMADZU , JAPAN، استعمل عمود شعري ذو فلم بسمك (50 µm) لغرض الفصل، وكانت درجة حرارة الفرن الأولية.Column Oven Temp ٤٠ م° ودرجة الحرارة النهائية ٢٨٠ م°. ولغرض المحافظة على درجة حرارة البرنامج ثبتت لمدة ١ دقيقة عند حرارة 120 م° ومعدل الارتفاع في درجة الحرارة ٨ م°/ دقيقة الى ان تصل الى ٢١٠ م° ثم تثبت لمدة ٤٥ دقيقة عند ٢١٠ م°. وحجم العينة اللازمة للزرق ١ مايكروليتر، ودرجة حرارة منطقة الزرق . Injection Temp (280 م°) ودرجة حرارة المكشاف (٢٨٠ م°). الغاز الحامل هو الهليوم عند ضغط Pressure ثابت بحدود ٩٦,١ kPa، معدل جريان الغاز الحامل في العمود Column Flow هو ١,٧١ مل / دقيقة (Stoffel *et al.*,1959) .

الاختبارات البكتريولوجية

العزلات البكتريولوجية المستعملة في اختبار فعالية التثبيط

تضمنت بكتريا الاختبار خمـــــــسة انواع من البكتريا الموجبة لصبغة كرام وهي *Bacillus subtilis, Micrococcus roseus* والسالبة لصبغة كرام وهي *Klepcilla pneumoniae , pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli*التي تم الحصول عليها من قسم علوم الحياة /كلية العلوم /جامعة البصرة . تم تنشيط المزارع على الوسط المغذي السائل Nutrient Broth تحت درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة ثم قورنت مع محلول ماكفرلاند القياسي المحضر كما ذكره Garvy et al(1977) . استعملت طريقة الحفر (agar well diffusion method) حسب ما ذكر Perez *et al.*(1990) وكما يلي :

١- حضر وسط Muller Hinton وحسب توصيات الشركة المجهزة وعقم بالاوتوكليف بدرجة حرارة 121 °م لمدة 15 دقيقة وصبت في اطباق بتري بمقدار 20 مل وترك حتى يتصلب

٢- نقل 0.1 مل من الوسط السائل الحاوي على البكتريا المرضية ونشرت بواسطة L. Shape وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 °م لمدة ساعتين ثم ثقبت الاطباق بواسطة ثاقب فليني بقطر5 ملم ووضع 0.1 مل من تراكيز الزيوت العطرية قيد الدراسة ٨٠،٦٠،٤٠،٢٠ % نقلت الاطباق الى الثلاجة لمدة ساعتين بعد ذلك نقلت للحاضنة بدرجة حرارة 37°م لمدة 18ساعة وقيس قطر هالات التثبيط بواسطة مسطرة وبضمنها الحفرة

النتائج والمناقشة

يبين الجدول(١) نسبة الحاصل للزيوت العطرية المستخلصة بطريقة التقطير البخاري من نباتي الزعتر والينسون النجمي والتي بلغت ٢,٤% لزيت الزعتر وجاءت هذه النسبة مطابقة لنسبة الحاصل التي حصل عليها Golmakani &Rezaei(2008) والتي بلغت ٢,٣٩%،كما ان هذه النسبة مقاربة للنسبة التي حصلت عليها الحديثي(٢٠٠٦) والتي كانت ٢,٦٣% وانها ضمن مدى محتوى الزعتر من الزيت العطري الذي ذكره Carlen *et al.*(2010) والذي كان ٠,٣٢_٤,٩%. اما نسبة الحاصل لزيت الينسون النجمي فبلغت ٤,٥% وهذه النسبة اقل من النسبة التي حصل عليها Qin *et al.*(2007) والتي كانت ٨,٢%وقد يعود السبب الى اختلاف البيئة وطريقة تجفيف النبات.

يوضح الجدول (١) قيم معامل انكسار الزيوت العطرية قيد الدراسة حيث بلغ معامل انكسار زيت الزعتر ١,٤٩٥٢ وهي تتفق مع ماوجده Golmakani &Rezaei(2008) و ابو زيد(1992) والتي كانت١,٥٠٣٠،١,٤٩٣٤ على التوالي.اما قيمة معامل انكسار زيت الينسون النجمي فكانت ١,٥٥٨٤ وهي مطابقة لما وجده Tuan & Ilangantileke (1997) و Yadav *et al.*(2015)والتي كانت ١,٥٥٥٣ ، ١,٥٥٠٠ على التوالي.

جدول (١): نسبة الحاصل وبعض الصفات الفيزياوية للزيوت العطرية قيد الدراسة

نسبة الحاصل والصفات الفيزيائية	زيت الزعتر	زبت الينسون النجمي
نسبة الحاصل%	٢,٤	٤,٥
معامل الأنكسار	١,٤٩٥٢	١,٥٥٨٤
اللون	اصفر ذهبي	اصفر شاحب
الطعم	حار حارق	حلو

كما يبين الجدول (١) لون وطعم الزيوت العطرية قيد الدراسة والتي كانت اصفر ذهبي وطعم حار حارق لزيت الزعتر واصفر باهت وطعم حلو لزيت الينسون النجمي وهو مطابق لما وجده Yadav *et al.*(2015).

تشير نتائج الجدول(٢) قابلية ذوبان الزيوت العطرية قيد الدراسة في عدة مذيبات عضوية والماء وقد اعتمدت عملية الأذابة على أنواع الزيت العطري والمذيب العضوي المستعمل للأذابة ، وقد لوحظ ذوبان

الزيوت العطرية ذوبانا تاما في المذيبات العضوية (الكحول) أما الماء فقد تعذر الذوبان فيه،ان صفة الإذابة التامة للزيوت العطرية في الكحول هي من الصفات المهمة التي تبين مدى نقاوة الزيت وعدم غشه وعدم احتواءه على مواد الغش المختلفة (أبو زيد ،١٩٩٢) وان الزيوت العطرية المستخلصة في الدراسة كانت درجة ذوبانيتها تامة في الكحول دلالة على نقاوتها وعدم احتواءها على مواد أخرى تسبب عدم ذوبانها في الكحول.

جدول(٢): قابلية الذوبان للزيوت العطرية قيد الدراسة في المذيبات العضوية و الماء

الزيت	المذيبات	الذوبانية
الزعتر	ايثانول	يذوب
	ميثانول	يذوب
	هكسان	يذوب
	أيثر	يذوب
	ماء	لا يذوب
الينسون النجمي	ايثانول	يذوب
	ميثانول	يذوب
	هكسان	يذوب
	أيثر	يذوب
	ماء	لا يذوب

توضح النتائج في الجدول(3) والشكل (1) المركبات الكيميائية المفصولة بطريقة GC-MS لزيت الزعتر والتي بلغ عددها ٢٩ مركباً وأهم هذ المركبات Thymolالذي تواجد بأعلى تركيز في الزيت العطري للزعتر حيث بلغت نسبته ٥٤,٨٧% وهي مقاربة للنسبة التي حصل عليها Agili(2014) والتي كانت ٥٤,٢٦%،وهي اكثر من النسبة التي حصل عليها Golmakani &Rezaei(2008) والتي كانت٣٧,٢٠%.

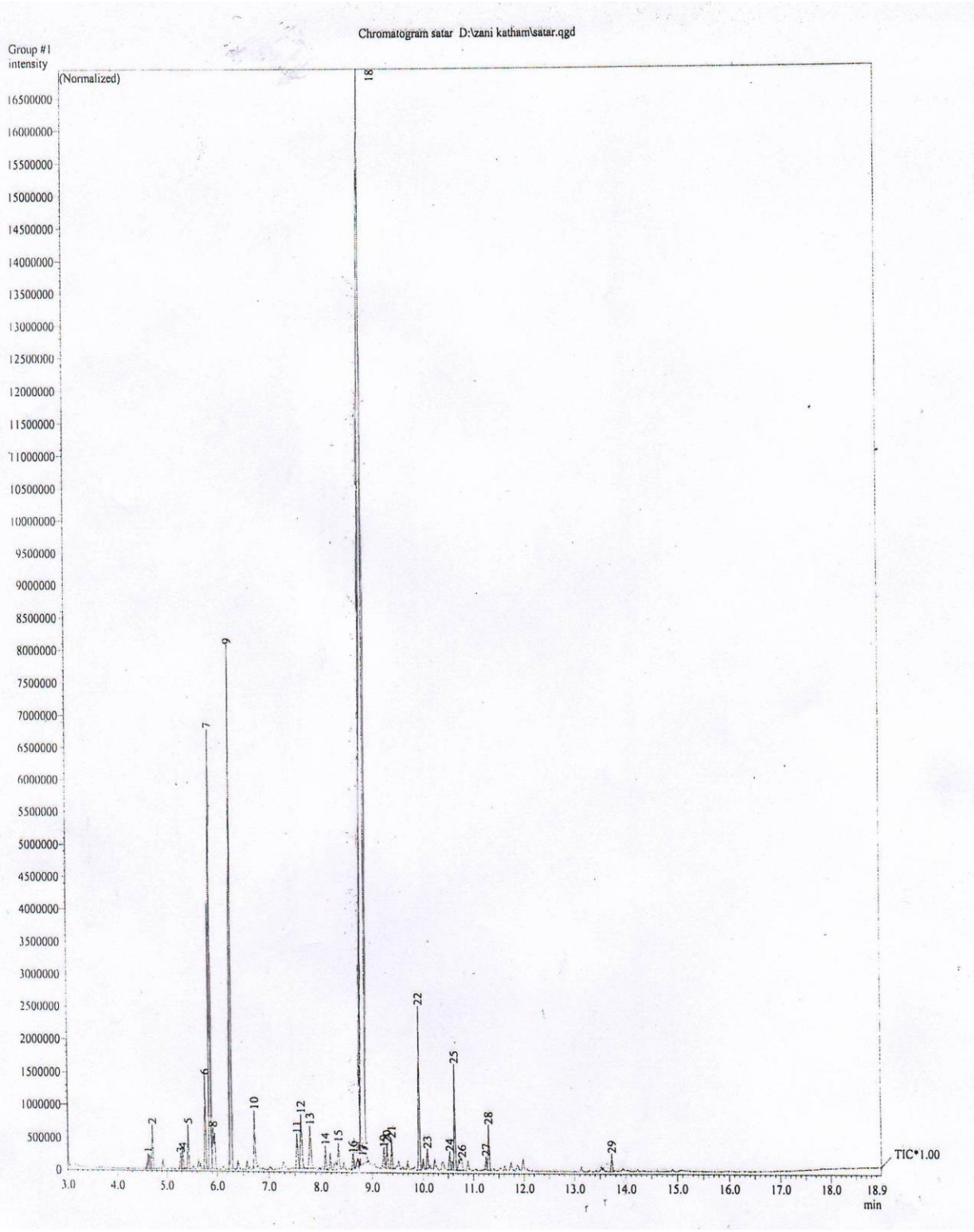
كما نجد ان نسبة كل من P-Cymen،D-Limonen و Y-Terpinen بلغت ١٦,٤٥%،١,٢% و١٠,٠٥% على التوالي وهي نسب مقاربة لما وجده Miladi *et al.* (2013) والتي كانت ١٨,٠٨% ،٠,٨٥% و١٣,١٢% على التوالي،كما ان نسبة كلاً من P-Cymen و Y-Terpinen كانت مطابقة لما وجده Golmakani &Rezaei(2008) والتي كانت١٦,٨٥% و٩,٠٦% على التوالي.

ان نسبة كلاً من Thymol و P-Cymen تقع ضمن المدى الذي ذكره Burt(2004) والذي كان ١٠-٦٤% للThymol ومن ١٠-٥٦% للP-Cymen .

نلاحظ ايضاً ان مركب Carvacrol بلغت نسبته ٢,٣٢% وهي اقل مما وجده Grigore *et al.*(2010) وGolmakani &Rezaei(2008) والتي كانت٣,٣٧% ، ٦,٨١%على التوالي.وان نسبة Terpineol كانت ١,١٠%وهي مقاربة لما وجده Agili(2014) والتي بلغت ١,٣٧%.

تبين النتائج في الجدول(٤) والشكل (2) المركبات الكيميائية المفصولة بطريقة GC-MS لزيت الينسون النجمي والتي بلغ عددها ١٩ مركباً ومن هذه النتائج يتضح إن مركب Anethol قد تواجد بأعلى تركيز في الزيت العطري للينسون النجمي إذ بلغت نسبته ٨٦,٨٨% وهي مقاربة للنسبة التي حصل عليها Huang *et al.*(2010) و Yadav *et al.*(2015) والتي كانت ٨٩,٥% و٩٠,٤٣% على التوالي،وهي اكثر من النسبة التي حصل عليها Zhang *et al.*(2015) والتي بلغت ٧٥,٧٦%.

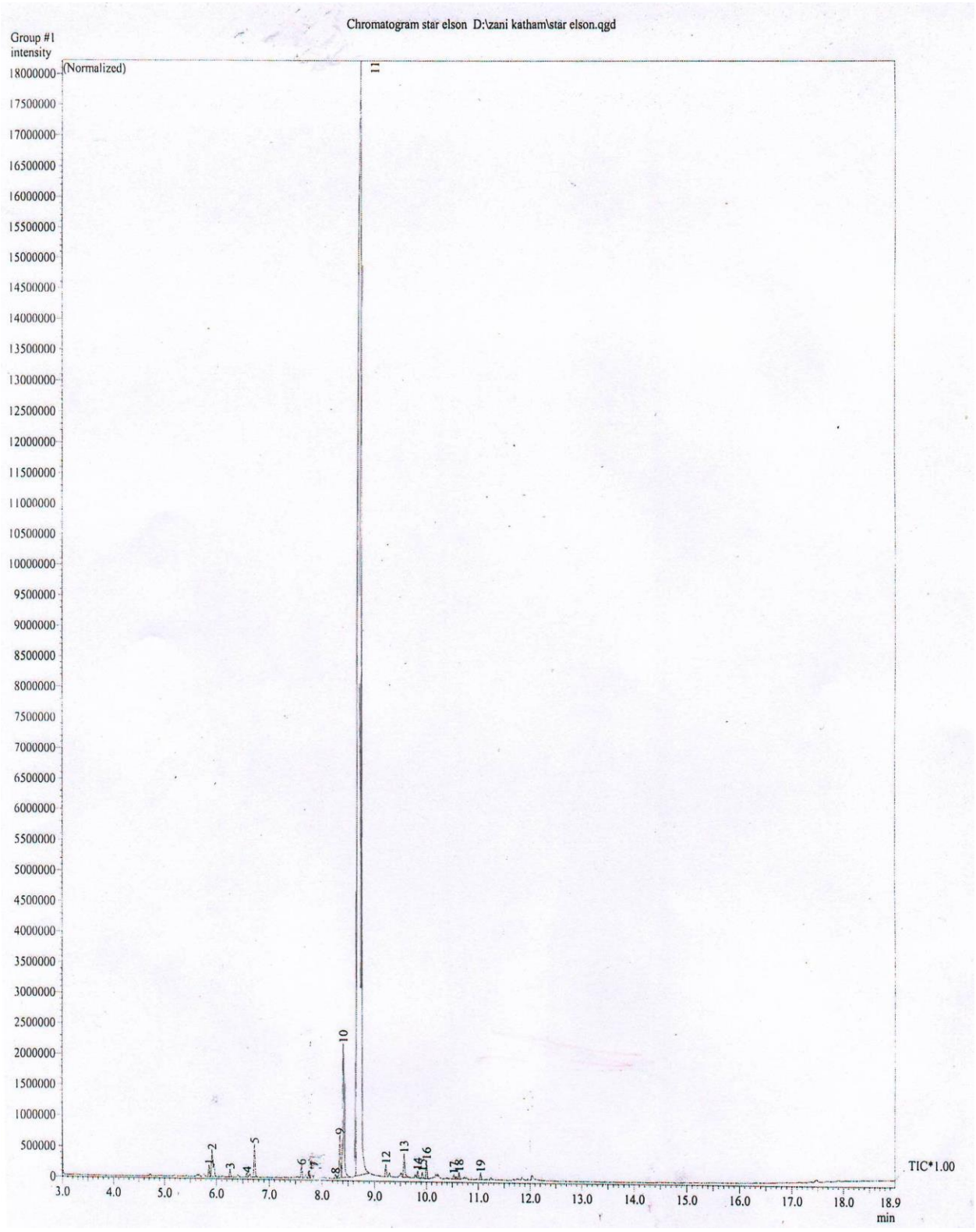
كما نلاحظ ان نسبة كل من anisaldehyde، linalool وlimonene كانت ٠,٨١%،٦,٥٨% و١,٠٣% على التوالي وهي مقاربة لما حصل عليه Zhang *et al.*(2015) والتي كانت ٨,٦٥%،١,٤٤% و٣,٢٦% على التوالي ،كما ان نسبة linalool وlimonene كانت مقاربة لما وجده Huang *et al.*(2010) والتي كانت ٠,٣%،٠,٤% على التوالي، بينما كانت نسبة anisaldehyde اكثر مما وجده Yadav *et al.*(2015) والتي بلغت ٢,١%.



شكل(1): كروموتوكرامGC-MS للزيت العطري المستخلص من الزعتر

جدول (٣):اسماء المركبات الكيميائيةالمفصولة بتقنيةGC-MS ونسبها في زيت الزعتر

Peak	R.Time	Area%	Name
1	4.624	0.23	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-
2	4.717	0.68	.alpha.-Pinene
3	5.281	0.24	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-
4	5.323	0.29	Guanosine, N,O,O,O,O-pentakis(trimethylsilyl)-
5	5.434	0.64	beta.-Myrcene
6	5.769	1.35	(+)-4-Carene
7	5.866	16.45	P-Cymene
8	5.921	1.20	Limonene
9	6.268	10.05	Y-Terpinene
10	6.725	0.89	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-
11	7.544	0.68	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-
12	7.623	1.10	4-Terpineol
13	7.794	0.98	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
14	8.091	0.34	Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl)-
15	8.344	0.71	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-
16	8.625	0.28	3-Methyl-4-isopropylphenol
17	8.700	0.11	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
18	8.847	54.87	Thymol
19	8.847	0.30	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, acetate
20	8.847	0.36	3-Allyl-6-methoxyphenol
21	9.383	0.41	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate
22	9.926	2.32	Carvacrol
23	10.088	0.34	1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-
24	10.532	0.32	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.a
25	10.634	1.61	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-
26	10.775	0.57	Cyclopropanecarboxylic acid, 1-(phenylmethyl)-, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylp
27	11.249	0.19	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1a.alpha.
28	11.302	0.72	Caryophyllene oxide
29	13.725	0.27	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptane



شكل(2): كروموتوكرامGC-MS للزيت العطري المستخلص من الينسون النجمي

جدول (٤):اسماء المركبات الكيميائيةالمفصولة بتقنيةGC-MS ونسبها في زيت الينسون النجمي

Peak	R.Time	Area%	Name
1	5.861	0.29	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-
2	5.919	1.03	D-Limonene
3	6.260	0.19	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-
4	6.579	0.12	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-
5	6.724	0.81	Linalool
6	7.615	0.30	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-
7	7.794	0.12	Benzaldehyde, 4-(1-methylethyl)-
8	8.091	0.13	1-(3-Methyl-2-butenoxy)-4-(1-propenyl)benzene
9	8.347	1.20	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
10	8.416	6.58	Anisaldehyde
11	8.747	86.88	Anethol
12	9.223	0.31	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, acetate
13	9.572	0.73	2-Propanone, 1-(4-methoxyphenyl)-
14	9.831	0.16	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-
15	9.923	0.16	Caryophyllene
16	10.005	0.47	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6-methyl-2-methylene-6-(4-methyl-3-pentenyl)-, [1R-(1.alpha.
17	10.005	0.14	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-
18	10.632	0.21	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-
19	11.048	0.17	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E)-

يبين الجدول رقم (٥) ان زيت نبات الزعتر قد ثبط نمو البكتريا قيد الدراسة تثبيط تام كونه يمتلك قدرة تثبيطية عالية وتعزى قابلية الزيت العطري لنبات الزعتر في تثبيط الانواع البكتيرية الى المركبات الفينولية التي من اهمها Thymol و Carvacrol الموجودين بنسبة كبيرة في زيت الزعتر، إذ تعمل هذه المركبات الفينولية على تثبيط الأنزيمات المسؤولة عن التفاعلات الأساسية بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات ممايؤدي الى دنترة البروتين وعدم قابلية البكتريا على الأستمرار بالأضافة الى ذلك ان المركبين(Thymol و Carvacrol)لهما القدرة على تحليل غشاء الخلية البكتيرية وموت الخلايا (حبيب واخرون،٢٠٠٧ ;Marino *et al.*,2001) وهناك دراسات مختبرية اخرى نسبت الفعالية التثبيطية العالية لزيت الزعتر الى احتواء مركب الثايمول على مادة polymethoxy flavones التي تمتلك فعالية مثبطة لنمو الجراثيم(Ghazanfar, 1994).

جدول(٥) قياس الفعالية التثبيطية لزيت الزعتر في البكتريا قيد الدراسة

البكتريا	معدل قطر مناطق تثبيط النمو بالملم			
	%٢٠	%40	%٦٠	%80
Staphylococcus aureus	+	+	+	+
Escherichia coli	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa	+	+	+	+
Micrococcus roseus	+	+	+	+
Klebsiella pnemoniae	+	+	+	+

(+)تثبيط تام

يوضح الجدول رقم(٦)الفعالية التثبيطية لزيت الينسون النجمي ضد بكتريا الاختبار لوحظ من نتائج الجدول ان فعالية الزيت العطري المثبطة ازدادت مع زيادة تركيز الزيت وكان اعلى تثبيط للزيت عند تركيز ٨٠% وتبين نتائج الجدول ان اعلى تثبيط للزيت كان تجاه بكتريا *Klebsiella pnemoniae* إذ بلغ قطر التثبيط ٥٠ ملم عند تركيز ٨٠%.كما يبين الجدول ان زيت الينسون النجمي قد ثبط فعالية بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تثبيط تام وهذا يتفق مع ماوجده (Singh *et al.* ,2007).

ان قابلية زيت الينسون على تثبيط فعالية البكتريا يعود الى محتواه من مركباتAnethol وLinalool حيث اشارت العديد من الدراسات الى فعالية هذه المركبات ضد البكتريا (De *et al.* ,2002; Singh *etal.* ,2007)

تمتلك المركبات الفينولية والحلقية في الزيوت العطرية تأثيراً مثبطاً على الكائنات الحية الدقيقة من خلال عملها على إحداث تغيير في تركيب ووظيفة الغشاء السايتوبلازمي الذي يؤدي إلى قتل الخلايا (Coisin *et al.*,2012).

جدول(٦) قياس الفعالية التثبيطية لزيت الينسون النجمي على البكتريا قيد الدراسة

البكتريا	معدل قطر مناطق تثبيط النمو بالملم			
	%٢٠	%40	%٦٠	%80
Staphylococcus aureus	١٠	16	22	30
Escherichia coli	٢٠	٢٤	٣٠	٣٦
Pseudomonas aeruginosa	+	+	+	+
Micrococcus roseus	١٨	٢٦	٣٠	٣٤
Klebsiella pnemoniae	٢٢	٣٤	٤٠	٥٠

(+)تبثيط تام

الاستنتاجات

نستنتج من الدراسة الحالية ان الزيوت العطرية المستخلصة من نباتي الزعتر والينسون النجمي تمتلك تاثير تثبيط نمو على بعض البكتريا المرضية ممايجعل امكانية استعمالها كبدائل دوائية وذلك بعد اجراء الدراسات

السريرية تفصيليا عليها وتحديد جرعتها الدوائية.

المصادر

1-أبو زيد ، الشحات نصر .١٩٩٢. **النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية** .الطبعة الثانية . الدار العربية للنشر والتوزيع ، مدينة نصر . القاهرة .جمهورية مصر العربية. ٤٧٣ ص.

٢-الحديثي,سلفانا طارق شعبان .٢٠٠٦. الصفات النوعية للزعتر المحلي والمزروع واستعمالها مانعا لنمو البكتريا ومضاداً لاكسدة الزيوت. رسالة ماجستير ،كلية الزراعة .جامعة بغداد. جمهورية العراق.

3-المالكي،رفل عبد الحسين رسن .٢٠١٦.دراسة تاثير طرق الأستخلاص على مكونات الزيوت العطرية لبعض بذور العائلة الخيمية باستخدام تقنية GC MS.رسالة ماجستير ،كلية الزراعة .جامعة البصرة. جمهورية العراق.

4 -حبيب ،خالد عبد الرزاق؛الجميلي ،عصام فاضل وعبد المجيد،سرى مؤيد(٢٠٠٧).تأثير المستخلص الزيتي لأوراق نبات الزعتر*Thymus vulgaris* في نمو الخمائر والبكتريا المعزولة من أفواه الأطفال المصابين بداء السلاق الفمي –**المجلة العراقية للتقانات الحياتية**-٦(٢):٧٧-٨٧.

5- حسين، فوزي طه قطب .1981.**النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها** .دار المريخ للنشر الرياض . المملكة العربية السعودية .

6- رومو ،احمد .٢٠٠٥.**الدليل إلى المعالجة بالعطور**. (الزيوت العطرية – طرق الاستعمال – دليل التوليف). الطبعة الأولى . دار علاء الدين .دمشق . سوريا.

7-عيسى،محسن ايوب ويونس،رنى وعدالله(٢٠٠٦).الفعالية المضادة لعدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام للمستخلصات المائية والكحولية لأزهار نبات الخطمية *Althea rosa* -**مجلة علوم الرافدين**-١٧(١١):١٧-,٢٦

8-Adam, K.; Sivropoulou, A.; Kokkini, S.; Lanaras, T.; Arsenakis, M.(1998). Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Menthaspicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oilsagainst Human Pathogenic Fungi. ***J. Agric. Food Chem.***, 46:1739-1745.

9-Agili, F. A..2014. Chemical composition, antioxidant and antitumor activity of *Thymus vulgaris L*. Essential Oil. **Middle-East Journal of Scientific Research**, 21 (10): 1670-1676.

10-Akarca, G.; A. Caglar and Tomar, O.. 2016. The effects of spicing on quality of mozzarella cheese, 66: 112–121.

11- A . O .C .S . .1971. Official and Tentative Methods 3rd. American Oil Chemists Society Chicago. USA.

12-Atti-Santos, A.C., M.R. Pansera; N. Paroul; L. Atti Serafini and Moyna, P. (2004). Seasonal variation of essential oil yield and composition of *Thymus vulgaris L*. (Lamiaceae) from South Brazil. **J. Essen Oil Res.**, 16: 294-295.

13-Bakkali, F; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar M.(2008). Biological effects of essential oils: a review. **Food and Chemical Toxicology**, 46: 446-475.

14-Baranauskiene, R.; P.R. Venskutonis; P. Viskelis and Dambrauskiene, E..2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). **Journal of Agricultural and food chemistry**, 51: 7751-58.

15-Basch, E.; C. Ulbricht; P. Hammerness; A. Blevins and Sollars, D..2004. Thyme (*Thymus vulgaris L.*), thymol. **J. Herb. Pharmacother**, 4: 49–67.

16-Bruce, A. and John, W. (1998). Forest products biotechnology. Taylor and Francis Ltd.

17-Burt, S. .2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in foods e a review. **International Journal of Food Microbiology**, 94: 223-253.

18-Carlen, C.; M. Schaller; C. A. Carron; J. F. Vouillamoz and Baroffio, J. F. . 2010. The new *Thymus vulgaris L*. hybrid cultivar (Varico 3) compared to five established cultivars from Germany, France and Switzerland. Acta Hort., 860: 161-166.

19-Coisin, M.; Burzo, I.; Stefan, M.; Rosenhech, E. and Zamfirache, M. M.;(2012).Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of there Salvia species, widespread eastern Romania. **Biologie vegetala**. 58(1): 51-58.

20-Cornara, L.; A. La Rocca; S. Marsili and Mariotti, M.G..2000. Traditional uses of plants in the eastern Riviera (Liguria, Italy). **J. Ethnopharmacol**, 125: 16–30.

21-Davis, P.H..1982. **Flora of Turkey and the East Aegean Islands**. University Pres, Edinburgh.England.

22-De, M.; D. A. Krishna; P. Sen and Banerjee, A.B. .2002. Antimicrobial Properties of star anise (*Illicium verm* Hook f). **Phy. Res.**, 16(1): 94-95.

23-Garvey,J.S.;Cremer,N.E.and Sussdrof,D.H.(1977).Methods in immunology.3rd edition,W.A.Benjamin,inc.Massachusetts,USA.

24- Ghazanfar, S.A. (1994) Hand book of Arabian medical plants CRC press Roca Raton.

25-Grigore,A.; Paraschiv,I.; Colceru-Mihul,S.; Bubueanu,C.; Draghici, E. and , Ichim, M.(2010). Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. Romanian Biotechnological Letters, 15(4):5436-5443.

26-Golmakani,M.-T. and K. Rezaei .2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris L*. **Food Chemistry**, 109 : 925–930.

27-Goodner, K.L.; K. Mahattanatawee ; A. Plotto; J.A. Sotomayor and Jordan, M.J.. 2006. Aroma profile of *Thymus hymalis* and Spanish *T. vulgaris* essential oil by GC-MS/GC-O. **Indus Crops Prod.**, 24: 264-268.

28-Huang,Y.; J. Zhao; L. Zhou; J. Wang; Y. Gong; X. Chen; Z. Guo ; Q. Wang and and Jiang,W..2010. Antifungal Activity of the Essential Oil of *Illicium verum* Fruit Its Main Component trans-Anethole. Molecules, 15: 7558-7569.

29-Karabegovi´c, I.T.; Vukosavljevi´c, P.V.; Novakovi´c, M.M.; Gorjanovi´c, S.Z.; Dzami´c, A.M. and Lazi´c, M.L.(2012). Influence of the storage on bioactive compounds and sensory attributes of herbal liqueur. **Dig. J. Nanomater. Biostruct**, 7: 1587–1598.

٣٠-Lee, S.; G. Li; K.S. Lee; J. Jung; M. Xu; C. Seo; H. Chang; S. Kim; D. Song and Son, J..2003. Preventive agents against sepsis and new -phenylpropanoid glucosides from the fruits of *Illicium verum.* **Planta Med.**, 69: 861-864.

3١-Marino,M.;Bersani,C. and Comi,G.(2001).Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oil from Lamiaceae and compositate.**Int.J.Food Microbiol.**,2140:1-9.

3٢-Miladi,H.; R. Ben Slama ; D. Mili; S. Zouari; A. Bakhrouf and Ammar,E..2013. Essential oil of *Thymus vulgaris L.* and *Rosmarinus officinalis L.*: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. **Natural Science**, 5(6) : 729-739.

33-Perez,C.;pauli,M. and Bazerque,P.(1990).Antibotic assay by the agar-well diffusion method.**Actabiologiae et Medecine Experimentaal** ,15:113-115.

34-Qin,W.; J.Lin and Qibiao, W..2007. Effect of three extraction methods on the volatile component of *Illicium verum* Hook. f. analyzed by GC-MS. Wuhan University. **Journal of Natural Sciences**,12(3): 529–534.

35-Singh, G.; S. Maurya; M.P. de Lampasona and Catalan, C..2006. Chemical constituents, antimicrobial investigations and antioxidative potential of volatile oil and acetone extract of star anise fruits. **J. Sci. Food Agr.**, 86: 111-121.

36- Singh, G.; Maurya S.; Marimuthu,P;Murali,H.S. and Basa,A.S.(2007).Antioxidant and antibacterial investigations on essential oils and acetone extracts of some spices.**Natural Product Radiance**,6(2):114-121.

37-Stahl-Biskup, E. and F. Saez. 2002. Thyme. Taylor and Francis, London.England.

38-Stoffel, W. ; F. Chu and Abrens, E. H. .1959. Analysis of long chain fatty acids by gas liquid chromatography micro- method for preparation of methyl esters. **Anal. Chem.**, 31:307-308.

39- Tuan, D.Q. and S.G. Ilangantileke .1997. Liquid CO2 extraction of essential oil from star anise fruits (*Illicium verum* H.). **Journal of Food Engineering**, 311: 47–57.

40-Wang, Z.; L. Wang; T. Li; X. Zhou; L. Ding; Y. Yu; A. Yu and Zhang, H. .2006. Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook f. and Zingiber officinale Rosc. By improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. **Ana. Bioanal Chem.**, 386: 1863-1868.

41-Wong, Y.C.; P.P. Lee and Wannurdiyana,W.A..2014. Extraction and Antioxidative Activity of Essential Oil From Star Anise (*Illicium verum*). **Oriental Journal of Chemistry**, 30 (3): 1159-1171.

42- Yadav,S.D; O.K. Mahadwad; S. Kshirsagar and Gite,V.A.. 2015. Extraction and Characterization Study of Aniseed Oil. 2nd International Conference on Multidisciplinary Research & Practice,3(1):48-51.

43-Zarzuelo,A. and Crespo, E. (2002). Medicinal and Aromatic Plants – Industrial - Profiles, vol. 24-Thyme, E. Stahl-Biskup and F. Saez, eds. , Taylor&Francis, 278p.

44-Zhang,W; Y. Zhang; X. Yuan and Sun,E..2015. Determination of Volatile Compounds of *Illicium verum* Hook. f. Using Simultaneous Distillation-Extraction and Solid Phase Microextraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research** , 14(10): 1879-1884.