تقييم المحتوى الكيميائي، تقدير تراكيز بعض العناصر الثقيلة، والاستخلاص النوعي للمكونات الفعالة من بذور نبات الشبنت *Anethum graveolens* L. العراقي ودراسة فعاليتها الضد بكتيرية

صدام حسين فاضل المعاضيدي

كلية العلوم/ جامعة الأنبار

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية التشخيص النوعي للمكونات الفعالة في نبات الشبنت *Anethum graveolens* L. . تقدير تراكيز بعض العناصر الثقيلة بتقنية الامتصاص الذري اللهبي في بذور النبات وتحضير بعض المستخلصات نوعياً لأهم أصناف المكونات الفعالة التي ثبت وجودها في التشخيص النوعي (الزيوت الطيارة، الكلايكوسيدات، الفلافونويدات والقلويدات) للبذور، إضافةً إلى دراسة الفعالية الحيوية الضد بكتيرية لهذه المستخلصات ضد عزلتين سالبتين تجاه ملون كرام من البكتيريا المرضية. أظهرت نتائج الكشوفات النوعية احتواء نبات الشبنت على مجموعة واسعة من المكونات الفعالة مثل (التانينات، الفلابوتانينات، الصابونين، الفلافونويدات، الستيرويدات، التربينويدات، الفينولات، الراتنجات، الكاربوهيدرات، الأحماض الامينية، القلويدات، الكلايكوسيدات والكلايكوسيدات الايريدويدية)، وسجلت العناصر الثقيلة تراكيز مختلفة حيث كانت بالقيم 3.3، 10.07، 2.93، 19.05، 1.72، 1.71، 5.19، 0.72 و4.43 (ملغم/ كغم – بذور نبات مجفف) لكل من عناصر الكروم، الكوبلت، الرصاص، الحديد، النيكل، النحاس، الخارصين، الكادميوم والمنغنيز على التوالي. أوضحت الاختبارات التي أجريت خارج الجسم الحي (*in vitro*) قيم أقطار تثبيط متباينة لمستخلصات البذور المحضرة حيث كان أعلى المستخلصات تثبيطاً ضد بكتيريا الاشريكية القولونية *Esherichia Coli* هو مستخلص الزيوت الأساسية بتركيز 25 ملغم/ مل بقطر تثبيط 48 ملم في حين كان أدنى المستخلصات تثبيطاً هو مستخلص القلويدات بتركيز 5 ملغم/ مل مع قطر تثبيط 10 ملم، من جانب وفيما يخص بكتيريا الكلبسيلا *Klebsiella Aerogenes* فقط كانت أعلى المستخلصات تثبيطاً بمقدار 17 ملم للزيوت الأساسية ذي التركيز 25 ملغم/ مل مقابل أدنى مستويات التثبيط لجميع مستخلصات القلويدات بالقيم 6 ملم (لايوجد تثبيط) ولجميع التراكيز.

Phytochemical Screening, Estimation of Some Heavy Metals Concentrations, and Specific Extraction of Bioactive Components from Iraqi *Anethum graveolens* L. Seeds and Studying their Antibacterial Activity

S. H. F. Al-Ma'adhedi
College of Science\ University of Anbar

Abstract

The current study was included the identification of bioactive components in *Anethum graveolens* L.. Determination of some heavy metals concentrations using Atomic Absorption Spectroscopy in *Anethum graveolens* L. Seeds, qualitative extraction of the most important bioactive components (Essential Oils, Glycosides, Flavonoids and Alkaloids) from Seeds, in additional to studying the antibacterial activity for these extracts against four pathogenic bacteria. The results showed a broad range of bioactive components in *Anethum graveolens* L. such as Tannins, Saponins, Flavonoids, Steroids, Terpenoids, Phenols, Resins, Carbohydrates, Amino Acids, Alkaloids, Glycosides and Iridoid Glycosides). The concentrations of heavy metals in

Seeds recorded the values of 3.3, 10.07, 2.93, 19.05, 1.72, 1.71, 5.19, 0.72 and 4.43 (mg/ kg - dry seeds) for Chromium, Cobalt, Lead, Iron, Nickel, Copper, Zinc, Cadmium And Manganese respectively. The *In vitro* investigations demonstrated a disparate inhibition diameters results for the prepared Seeds extracts, the best extract with highest antibacterial activity against *E.coli.* was Essential Oils extract in 25 mg/ml concentration with 50 mm inhibition diameter, and the lowest one was the Alkaloids extract in 5mg/ml concentration, on other hand the highest antibacterial activity against *Klebsiella Aerogenes* was Essential Oils extract in 25mg/ ml concentration with 17 mm inhibition diameter, and the lowest was for Alkaloids extracts in all concentrations.

المقدمة

النباتات الطبية وبرغم التطور الهائل في العلم إلا أنها أثبتت مكانةً مرموقةً كمصدر أساس للكثير من العقارات حيث تحوي مستخلصاتها المختلفة على مواد فاعلة جداً تستخدم على نطاق واسع جداً في تطوير مختلف العقارات التي حلت بديلاً ناجعاً جداً عن العقارات الكيمياوية(1). يعد الشبنت *Anethum graveolens* L. من النباتات الحولية أو ذوات الحولين موطنه الأصلي جنوب غرب آسيا وجنوب أوروبا، وقد استزرع في بقية أنحاء أوروبا وأمريكا. لنبات الشبنت جذر وتدي مثل جذر نبات الجزر، والنبات قائم يتراوح ارتفاعه بين (70–120 سم) والأوراق مركبه ريشيه مقسمه إلى أجزاء خيطيه شريطيه والسيقان ملساء غضه جوفاء والأزهار كاملة صفراء داخل نورات خيميه مركبه طرفيه قطرها (15سم) والأوراق الكأسيه خمس أوراق خضراء اللون والتويجيه خمسه أيضا صفراء اللون، يتميز الناضج منه برائحة زكية وينمو سنويا من البذور ويستغرق شهرين ونصف لينتج البذور الجديدة (2). الشبنت من العائله الخيمية *Umbelliferae* التي تضم أكثر من 250 نوعاً من محاصيل الخضر الورقية والطبية المهمة المنتشرة في بعض مناطق العالم والتي تختلف في محتواها من المكونات الفعالة كماً ونوعاً(3). كان يعتقد سابقا أن للشبت علاقة لتوفير الحماية من السحر، وعلى الأرجح بسبب رائحته القوية، وقد استخدم طبياً من قبل أطباء الأعشاب، إذ استخدمت بذوره المغلية للتخلص من الغازات ومعالجه المعدة الملتهبة، كشراب للاطفال حديثي الولادة (ماء الغريب)، ولتخفيف ألم القولون الملتهب، لتحضير مراهم تخفيف التشنجات العضلية، كما ويضاف مسحوق بذور الشبنت إلى الطعام من اجل خفض ضغط الدم العالي وتهدئه الأعصاب ودفع الشخص الى النوم الهادئ وأزاله صداع الرأس المزمن وكذالك يقلل من سكر الدم عن طريق موازنة إنتاج الانسولين ولتقويه القلب والطحال ولعلاج الربو كما انه يفيد في زيادة إفراز الحليب عند النساء وإبراز البول ويفيد الرماد الناتج عن حرق البذور في زيادة سرعه التأم الجروح المتقيحة وكذالك لعلاج البواسير وتفتيت حصى الكلى وفي حالات الرمد المتقيح، كما إنه يحتوي على نسبه عاليه من الكارولين المضاد للأمراض السرطانية، فضلاً عن استخدامه ضد لسعه الأفعى(4، 5). يعد الشبنت من محاصيل التوابل ومحسنات الطعام حيث تضاف الأوراق المجففة أو ألحديثه والبذور المطحونة منه لاعطاء طعم خاص للحم المطبوخ والسمك والشوربات والاجبان حيث يعد الجبن المصنوع مع الشبنت ذا نوعيه ممتازه(5). يحوي نبات الشبنت الكثير من المكونات الفعالة، حيث يستخرج منه زيوتاً طيارة تسمى زيت الشبنت Dill oil نسبته لحدود 3% من وزن الثمار، وأهم مكوناته مادة الكارفون Carvone إضافة إلى مادتي الليمونين Limonene والفيلاندرين Phellendrene وتختلف مواصفات الزيت ومكوناته الفعالة باختلاف نوع الشبنت ومكان زراعته والجزء النباتي المستعمل ومرحلة نموه(6)، ومن المركبات الأخرى المهمة في النبات furanocoumarin و falcarindiol، كما ويحوي بروتينات بنسبة (15.68%)، وكاربوهيدرات (36%)، ليف (14.80%)(7). أجريت بحوث ودراسات عديدة على نبات الشبنت للوقوف على فوائده الطبية والعلاجية،

حيث أظهرت نتائج إحدى الدراسات نجاح مستخلصات النبات في علاج متلازمة القولون العصبي بعد أسبوعي علاج وذلك من خلال الانخفاض الواضح في أعراض المرض مثل تخفيف الصداع ، وتقليل انتفاخ البطن، وانخفاض باقي الأعراض(8)، كما وأثبتت الدراسات أن للنبات فوائد علاجية لا تعد ولا تحصى منها استخدامه مضاداً ناجعاً لخفض مستوى الدهون والكولستيرول(9)، لعلاج السكري(10)، مضاداً للأكسدة (antioxidant)(12،11)، مضاداً للإفراز (antisecretory)(13)، ومضاداً للتشنج (antispasmodic)(14). من جانب آخر أجريت دراسة لتحديد الفعاليةٌ المضادة للمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* لمستخلص نبات الشبت بتقنيةٌ الانتشار بالحفر، وقد أظهرت النتائج وجود تأثير تثبيطي واضح، كما أوضحت أيضاً أن الجرعة المميتة الوسطية للمستخلص الكحولي لنبات الشبنت في الفئران المختبرية البيضاء بما يقارب 1486 ملغم/ كغم من وزن الجسم متمثلةً بالتنفس السريع والخمول ثم الموت بعد أربع وعشرين ساعة من الحقن بالمستخلص تحت الجلد(15)، كما ورجحت إحدى الدراسات أن فعاليته الضد مايكروبية قد تعزى للمركب (furanocoumarin) المتواجد في الشبنت(16)، في حين أثبتت دراسة أخرى الفعالية الكبيرة لكل من مركبي (D-limonene and D-carvone) المستخلصين من الشبنت ضد الفطريات(17)، في حين اثبت مستخلص الزيوت الطيارة فعالية كبيرة جدا ضد أربعٌ من العزلات البكتيرية المرضية الموجبة لملون كرام وأربع أُخر سالبة لملون كرام(18)، وعزز بحث آخر المكانة العلاجية المرموقة للشبنت والذي اثبت أن مستخلصات بذور النبات قاومت بشكل كبير مايكروب (*Helicobacter pylori*) المحفز الرئيسي لمرض القرحة(19). تحصل النباتات على المعادن الثقيلة عن طريق الامتزاز(20)، وعادةً ما تكون تراكيزها واطئة نسبياً لذلك يطلق عليها أحياناً العناصر الضئيلة أو النَزِرة (Trace Elements) بحيث تكون هذه الآثار غير سمية(21). الكادميوم والرصاص والزئبق تكون سامة حتى بتراكيز منخفضة(22). هنالك علاقة وثيقة بين محتوى النباتات الطبية من العناصر الثقيلة و قدرتها العلاجية وهذه العلاقة لغاية الآن غير واضحة المعالم برغم الدراسات الكثيرة في هذا المجال(23)، لذا فإن عملية تشخيص القدرة العلاجية لأي نبات يستخدم كنبات طبي تحتم على الباحثين دراسة مستوى العناصر الثقيلة لتحديد كفاءته العلاجية فضلاً عن أهميتها لفهم القدرة الدوائية (pharmacological action)(24). ولقلة الدراسات النوعية والتشخيصية على هذا النبات في قطرنا فقد جاءت هذه الدراسة لتهدف إلى التشخيص النوعي للمكونات الفعالية في النبات، تقدير تراكيز العناصر الثقيلة في رماد بذور النبات، الاستخلاص النوعي للمكونات الفعالة في بذور النبات، ودراسة فعاليتها الحيوية المضادة للبكتيريا.

المواد وطرائق العمل

- **المواد والأجهزة وتهيئة النبات.**

- **المواد والأجهزة:** جميع المواد المستخدمة في الدراسة من شركات عالمية ومتخصصة مثل Fluka, BDH, Merck وذات درجات نقاوة تحليلية عالية (Analytical Grades)، واستخدم في الدراسة أدوات ذات مناشئ ومواصفات مختبرية عالية الجودة، في حين استخدم جهاز مطيافية الامتصاص الذري اللهبي المبرمج (Computerized Atomic Absorption Spectrophotometer) لتقدير تراكيز العناصر الثقيلة موديل (PHOENIX-986 / USA).
- **الحصول على النبات، تصنيفه، تهيئته، تجفيفه وترميده:** تم الحصول على النبات طازجاً من الأسواق المحلية بين شهري كانون الأول وكانون الثاني، وقد صنف في قسم علوم الحياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة. غسل النبات بالماء الجاري بشكل جيد، تبعه الشطف بشكل جيد بالماء المقطر، فرقت العينات

النباتية نشرت بطبقة واحدة فوق ورق ترشيح وجففت في فرن التجفيف على درجة حرارة 40–50 ْم ولحين ثبات الوزن ثم فصلت بذوره التي أُستخدمت لاحقاً بشكل أساسي في البحث، استخدمت كبريتات الأمونيوم مع عينات النبات المطحون بنسبة 10 ملغم لكل 100 غرام من النبات المطحون لتثبيط فعالية الأنزيمات المحللة للكلايكوسيدات، ثم نقلت بذور النبات المطحون إلى حاوية معقمة وذات سداد محكم ويحتفظ به في مكان بارد وبعيد عن الضوء لحين استخدامه(25). لتقدير نسبة الرطوبة في بذور الشبنت جففت بنفس الطريقة الواردة أعلاه وبوزن 5 غم من الطازج منها ثم وزنت بشكل دقيق ولأكثر من مرة في كل مرة تجفف لمدة نصف ساعة تحت نفس الظروف، إلى أن يتم الحصول على وزنين الفرق بينهما (± 0.1 ملغم)، وأُخذ معدل الوزنين وحسبت النسبة المئوية للرطوبة كما في المعادلة (1)، في حين تمت عملية الترميد وذلك بوزن 5غم من بذور النبات الطازجة وجففت كما في أعلاه، ثم أحرقت في فرن حارق بدرجة حرارة 550°م إلى أن تحول لونها إلى الرمادي المائل للأبيض ومن ثم وزنت مرة ثانية لحساب النسبة المئوية للرماد حسب المعادلة (2)(25).

$$\text{نسبة الرطوبة في بذور نبات الشبنت} = \frac{\text{وزن البذور قبل التجفيف} - \text{وزنها بعد التجفيف}}{\text{وزن البذور قبل التجفيف}} \times 100 \quad \text{(معادلة 1)}$$

$$\text{نسبة الرطوبة في بذور نبات الشبنت} = \frac{\text{وزن بذور النبات قبل الترميد} - \text{وزنها بعد الترميد}}{\text{وزن بذور النبات قبل الترميد}} \times 100 \quad \text{(معادلة 2)}$$

- **الكشف النوعي عن المكونات الفعالة:** أجريت مجموعة من الكشوفات النوعية اعتماداً على طرائق عمل متنوعة وموثوقة لتحديد تواجد المكونات الفعالة الشائعة في النباتات وهي التانينات، القلويدات، الصابونين، الأحماض الأمينية، الراتنجات، الستيرويدات، الفينولات، الكلايكوسيدات، الفلافونويدات، والزيوت الطيارة(26).
- **تقدير تراكيز العناصر الثقيلة:**

- **تحضير عينات النبات:** أذيب بالضبط حوالي 0.25 غم من رماد بذور النبات في محلول حامض النتريك المخفف (5 عياري) بالماء المقطر مرتين (Double Distilled Water/DDW) 1:1 وهضم الراسب لوقتٍ كافٍ، ثم بُرد وأضيف إليه كمية كافية من الماء المقطر مرتين، نقل إلى قنينة حجميه سعة 50 مل وأكمل المحلول إلى العلامة بالضبط (27).
- **تقدير تراكيز العناصر الثقيلة:** قُدرت تراكيز العناصر الثقيلة بوحدات (ملغم/كغم – بذور نبات مجفف) بتقنية الامتصاص الذري اللهبي بعد معايرة الجهاز لكل عنصر بسلسلة من القياسات (المحاليل القياسية) يتراوح تركيزها بين (ppm 5–0.01) مع إجراء التخفيفات المناسبة والضرورية متى ما تطلب ذلك ولكل عنصر (28).

- **الاستخلاص النوعي للمكونات الفعالة**

- **استخلاص الزيوت الأساسية (Essential oils):** استخلصت الزيوت الأساسية من بذور الشبنت باستخدام جهاز الاستخلاص المستمر Soxhlet وذلك بإضافة 300 مل من ثنائي أثيل أيثر Diethyl ether إلى 50 غم من مسحوق بذور النبات كما في الطريقة الواردة في(29)، وركز المستخلص باستخدام المبخر الدوار عند درجة حرارة 30مْ، واحتفظ بالمستخلص بالأسم (EO) لحين الدراسات اللاحقة.

- **استخلاص الكلايكوسيدات (Glycosides):** استخدمت الطريقة الواردة في(30) لاستخلاص الكلايكوسيدات من البذور، وركز المستخلص باستخدام المبخر الدوار عند درجة حرارة 45° م، أعطي الرمز (G) واحتفظ بالمستخلص لحين الدراسات اللاحقة.
- **استخلاص القلويدات (Alkaloids) والفلافونويدات (Flavonoids):** اتبعت الطريقة الواردة في(31) لاستخلاص القلويدات في حين اتبعت طريقة(32) لاستخلاص الفلافونويدات على التوالي، وركز المستخلصين باستخدام المبخر الدوار عند درجة حرارة 40 مْ، واحتفظ بهما بالاسمين (A و F) على التوالي للدراسات اللاحقة.
- **الفعالية المضادة للبكتيريا بطريقة الانتشار في الحفر:** تم الحصول على عزلتين بكتيريتين وهما الاشريكية القولونية (*Esherichia Coli*) والكلبسيلا (*Klebsiella Aerogenes*) السالبتين تجاه ملون كرام من مختبرات الأحياء المجهرية في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم – جامعة الأنبار، وللتأكد من عائديتها تم زراعتهما على بعض الأوساط الزرعية (Neutrient agar و Macconkey agar) ومن ثم لوحظ أشكال المستعمرات النامية(33)، بعد ذلك ولغرض تشخيص العزلات أجريت بعض الاختبارات الكيموحيوية لغرض تشخيصها النهائي، كما تم الاستعانة بمستشفى الفلوجة العام والذي تضمن استعمال تقنية حديثة متمثلة بتشخيص العزلة بجهاز Vitek-2 وحسب الطريقة المعتمدة للشركة المصنعة، وبعد ذلك وبطريقة الانتشار في الحفر (Agar-well diffusion method) اختبرت حساسية العزلتين تجاه المستخلصات الأربعة المحضرة لبذور نبات الشبنت (الزيوت الأساسية، الكلايكوسيدات ، القلويدات و الفلافونويدات) إذ لقح سطح الطبق الزرعي بوساطة مسحة قطنية معقمة من العالق البكتيري الحاوي 1.5×10^{8} وحدة تكوين مستعمرة مل$^{-1}$. عملت حفر بقطر (5 ملم) على سطح الوسط الزرعي بوساطة ثاقب الفلين المعقم، و وضع 50 مايكروليتر من المستخلصات المحضرة بالتراكيز الواردة في جدول (4) ثم تركت الأطباق بدرجة 4°م لمدة ساعة ثم حضنت الأطباق بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة، حُدِدَت فاعلية المستخلصات بقياس معدل قطر مساحة التثبيط الناتجة حول كل حفرة بالملي متر (ملم)(34).

النتائج والمناقشة

علاوةً على فوائده الطبية، يعد الشبنت *Anethum graveolens* L. من النباتات شائعة الاستخدام منكها لكثير من الأكلات في مجتمعنا العراقي، ومن هذه الأهمية تولدت فكرة دراستنا بجوانبها الأربع. نقلت نماذج من النبات الطازج إلى قسم علوم الحياة في كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة الانبار لغرض التصنيف، وكانت نتيجة التصنيف كما يلي:

Division:	*Magnoliophyta* – Flowering plants
Subdivision:	*Spermatophyta* – Seed plants
Class:	*Magnoliopsida* – Dicotyledons
Order:	*Apiales*
Family:	*Apiaceae* – Carrot family
Genus:	*Anethum* L. – dill
Species:	*Anethum graveolens* L. – dill

تم تحضير عدد من المستخلصات تتلاءم ونوع كل كشف، يبين الجدول (1) نتائج هذه الكشوفات للمستخلصات المحضرة من الشبنت، حين أن الجدول (2) يبين نتائج باقي الكشوفات والتي أجريت مباشرةً على نماذج النبات المجفف المسحوق.

جدول(1) نتائج الكشوفات النوعية لنبات الشبنت على المستخلصات المحضرة

الكشف	القلويدات	التانينات	الكلايكوسيدات	الصابونيين	الكاربوهيدرات	الاحماض الامينية	الفينولات
النتيجة	+	+	+	+	+	+	+

جدول (2) نتائج الكشوفات النوعية لنبات الشبنت باستخدام 5 غم من المسحوق النباتي

الكشف	نتيجة الكشف
الفلافونويدات	+
الراتنجات	+

أظهرت الكشوفات الكيميائية العامة التي أجريت على مستخلص نبات الشبنت وجود عدد من المركبات المهمة بايولوجياً وهي مطابقة لما جاء في الأدبيات، هي: التانينات(35)، الصابونين، الراتنجات، الفلافونيدات، والقلويدات(36)، والفينولات، والأحماض الأمينية فضلاً عن الكلايكوسيدات وهي ما أعطت للنبات قيد الدراسة الأهمية البالغة(37) كونه من النباتات الطبية الهامة النامية في قطرنا. كما وتم تقدير كل من نسبة الرطوبة في بذور النبات ونسبة الرماد حيث كانت قيمها 84% و2.16% على التوالي. قُدرت تراكيز بعض العناصر الثقيلة (الكروم، الكوبلت، الرصاص، الحديد، النيكل، النحاس، الخارصين، الكادميوم والمنغنيز) في رماد البذور بطريقة الامتصاص الذري اللهبي، إذ تشير النتائج المعروضة في جدول (3) إلى احتواءها على تراكيز متباينة من العناصر الثقيلة مقاسةً بوحدات ملغم/ كغم – بذور نبات مجفف لكل من العناصر قيد الدراسة، وقد بينت النتائج أن تراكيز هذه العناصر هي ضمن الحدود المسموحة على مقاييس منظمة الصحة العالمية(38).

جدول(3) نتائج تقدير تراكيز العناصر الثقيلة بوحدات (ملغم/ كغم – نموذج مجفف) في مسحوق بذور النبات

العنصر	Cr	Co	Pb	Fe	Ni	Cu	Zn	Cd	Mn
التركيز	3.3	10.07	2.93	19.05	1.72	1.71	5.19	0.72	4.43

يبين الجدول (4) نتائج التأثير التثبيطي للتراكيز المختلفة لمستخلصات بذور نبات الشبنت الأربعة على العزلتين البكتيريتين.

جدول (4) نتائج التأثير التثبيطي للتراكيز المختلفة لمستخلصات بذور نبات الشبنت الأربعة على العزلتين البكتيريتين

المستخلص	تركيز المستخلص (mg/ml)	أقطار التثبيط (ملم)	
		Esherichia Coli	*Klebsiella Aerogenes*
G	50	30	14
	25	23	12
	10	17	8
	5	14	7
F	50	40	12
	25	34	8
	10	30	6
	5	26	6
A	50	26	6
	25	20	6
	10	17	6
	5	10	6
E.O	25	48	17
	12.5	42	15
	5	37	14
	1	30	12

6: لا يوجد تثبيط (نمو تام)

أظهرت نتائج الدراسة الحيوية تفوق مستخلص الزيوت الأساسية في تثبيط بكتيريا الاختبار وبالمرتبة الأولى يليه بعد ذلك مستخلص الفلافونويدات ثم محلول مستخلص الكلايكوسيدات وأخيرا القلويدات. لقد امتازت الزيوت الأساسية بقدرة تثبيطية عالية لجميع التراكيز ولكلتا العزلتين البكتيريتين حيث كان قطر التثبيط تجاه الاشريكية القولونية *Esherichia Coli* أعلى منه للكلبسيلا *Klebsiella Aerogenes* ، ففي التركيز الأعلى (25mg/ml) للزيوت الأساسية كان قطر التثبيط 48 ملم ضد الاشريكية القولونية في حين كان 17 ملم للكلبسيلا عند نفس التركيز، في حين كان لتركيزه الأدنى (1 mg/ml) قطر تثبيط مقداره 30 ملم ضد الاشريكية القولونية مقابل 12 ملم ضد الكلبسيلا. أما بالنسبة للفلافونويدات فقد كانت جميع تراكيزها مثبطة للاشريكية القولونية في حين كان التركيزان 5 و10 ملغم/ مل غير مؤثرين ضد الكلبسيلا، في حين لوحظ أن التراكيز العالية (25 و50 ملغم/ مل) هي فقط التي كانت مؤثرة وبأقطار تثبيط 34 و40 ملم على التوالي. مستخلصات الكلايكوسيدات كانت مؤثرة وبجميع تراكيزها ضد كلتا العزلتين وبقيم أقل نسباً منها للزيوت الأساسية حيث أعطى أدنى تركيز لها (5 ملغم/ مل) تأثيراً مثبطاً ضد الاشريكية القولونية والكلبسيلا وبأقطار 14 و7 ملم على التوالي. في حين كانت القلويدات غير مؤثرة تجاه الكلبسيلا وبجميع التراكيز، من جانب آخر امتلكت تأثيراً تثبيطياً تجاه الاشريكية القولونية حيث كان تراكيزها الأعلى و الأدنى مؤثرين فيها وبشكلٍ جيد. من خلال النتائج المعروضة في الجدول (4) نلاحظ أن محاليل الزيوت الأساسية ولجميع التراكيز ولكلتا العزلتين كانت هي الأكثر تثبيطاً، ولو أردنا أن نعقد نظرةً مقارنةً لأقطار التثبيط للتراكيز المتناظرة (5mg/ml) للمستخلصات الأربعة ضد بكتيريا الاشريكية القولونية نلاحظ أنها سجلت القيم 10 و14 و26 و37 ملم بالنسبة لمحاليل مستخلصات القلويدات، الكلايكوسيدات، الفلافونويدات والزيت الأساسية على التوالي، وهو ما يتفق مع الدراسات السابقة في نتائج الفعالية التثبيطية العالية للزيوت الأساسية (18)، وهو ما يستدعي دراسات أكثر وأعمق فيما يخص مستخلصات الزيوت الأساسية لنبات الشبنت. كما ويلاحظ من النتائج بأن الكلبسيلا كانت أكثر مقاومةً بالمقارنة مع الاشريكية القولونية تجاه محاليل المستخلصات وهذا يرجع إلى طبقة جدار خلية الكلبسيلا حيث يحوي المحفظة وهي مادة مخاطية تمنع نفاذ أو تقلل من نفاذية المواد إلى داخل الخلية وبالتالي ما يجعلها أكثر مقاومةً نسبةً للاشريكية القولونية(39). إن آلية المقاومة تجاه بعضاً من تلك المحاليل كانت ناتجاً عن وجود غلاف سميك يحيط بالخلية يمنع دخول تلك المواد إليها أو قد تسبب عن طريق حدوث طفرة جينية أنتجت إنزيم يسبب مقاومة هذه البكتيريا(40). يمكن القضاء على الأحياء المجهرية أو منع نموها من خلال منع تكوين الجدار الخلوي أو من خلال حصول خلل في التركيب الفيزيائي أو الكيميائي للبروتين والحوامض النووية أو خلل في نفاذية الأغشية السايتوبلازمية كما ويمكن إهلاكها بواسطة خلل في النشاط الإنزيمي الخلوي وكذلك عن طريق منع تصنيع البروتينات والحوامض النووية (41، 42).

المصادر

1. Jimenez-Medina. 2006. A new extract of the plant calendula officinalis produces a dual invitro effect: cyto and toxic anti-tumor activity and lymphocyte activiation. BMC. Cancer, 6: 119-132.
2. Bown, & Deni. 2001. The Herb Society of America New Encyclopedia of Herbs and Their Uses. New York.
3. احسان، سعد علي. 1999. دراسة بعض العوامل المؤثره في الصفات الكمية والنوعية للزيوت العطرية في النعناع والبطنج. اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة – جامعة بغداد.
4. The Herb Society of America. 2009. Text taken from The Herb Society of America's Essential Guide to Dill.

5. الهيتي، مصطفى. 2000. مكانة الاعشاب والنباتات الطبية في العلم الحديث/ الجزء الاول. مجلة الصيدلي، العدد الخامس.

6. سهيل، فارس محمد. 2010. تأثير التداخل بين فطر الترايكوديرما *Trichoderma harzainum* والمادة العضوية في نمو نبات الشبنت *Anthum graveolens* مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، 10 (1).

7. Ishikawa, T. M.; Kudo, M. & Kitajima, J. 2002. Water-soluble constituents of dill. Chem. Pharm. Bull., 55:501-507.
8. Mohammad, I. H. 2012. Mustansiriya Medical Journal Volume 11 Issue 1 June 2012.
9. Yazdanparast, R. & Alavi, M. 2001. Antihyperlipidaemic and antihy-percholesterolaemic effects of Anethum graveolens leaves after the removal of furocoumarins. Cytobios., 105:185-191.
10. Panda, S. 2008. The effect of Anethum graveolens L. (dill) on corticosteroid induced diabetes mellitus: involvement of thyroid hormones. Phytother Res., 22: 1695-1697.
11. Al-Ismail, K. M. & Aburjai, T. 2004. Antioxidant activity of water and alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds. J. Sci. Food. Agric., 84:173-178.
12. Bahramikia, S. & Yazdanparast, R. 2009. Efficacy of different fractions of *Anethum graveolens* leaves on serum lipoproteins and serum and liver oxidative status in experimentally induced hypercholestero-laemic rat models. Am. J. Chinese Med., 37: 685-699.
13. Hosseinzadeh, H.; Karimi, G. R. & Ameri, M. 2002. Effects of *Anethum graveolens* L. seed extracts on experimental gastric irritation models in mice. BMC Pharmacol., 2: 21.
14. Naseri, M. K. G. & Heidari, A. 2007. Antispasmodic effect of *Anethum graveolens* fruit extract on rat ileum. Int. J. Pharmacol., 3:260-264.

15. رشيد، عماد محمد. 2010. الفعالية المضادة للميكروبات والجرعة المميتة النصفية لمستخلص نبات الشبت، مجلة ديالى للعلوم الزراعية، 2(1).

16. Stavri, M. & Gibbons, S. 2005. The antimycobacterial constituents of Dill (*Anethum graveolens*). Phytother. Res., 19: 938-941.
17. Delaquis, P. J.; Stanich, K.; Girard, B. & Mazza, G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. Int. J. Food Microbiol., 74:101-109.
18. Lopez. 2005. Solid and vapour phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected food-borne bacterial and fungal strains. J. Agric. Food Chem., 53: 6939-6946.
19. Rifat-uz-Zaman, M. S.; Akhtar, M. S. & Khan, M. S. 2004. Preliminary eva-luation of *Anethum graveolens* fruit in indomethacin-ulcer induced rats. J. Biol. Sci., 4: 151-156.
20. Lokeshwary, H. & Chandrappa, G. T. 2006. Impact of heavy metal Contamination of Bellandur Lake on Soil and cultivated vegetation, Current Sci., 91(5): 622-627.
21. De Vries, W.; Romkens, P. F. A. M. & Schutze, G. 2007. Critical soil concentrations of cadmium, lead and mercury in view of health effect on humans and animals. Reviews of Environ. Contamination and Toxicol., 191: 91-30.

22. Galas-Gorcher, H. 1991. Dietary intake of patricide residues: Cadmium, Mercury and Lead. Food add. Cont., 8: 793-80.
23. Rajua, G. J. N. 2006. Estimation of trace elements in some anti-diabetic medicinal plants using PIXE technique. Appl. Radiation Isotopes, 64: 893-900.
24. Obiajunwa, E. I. 2002. Essential and trace element contents of some Nigerian medicinal plants. J. Radioanalytical Nuclear Chem., 252(3): 473-476.
25. Pohanka, A.; Menkis, A. & Broberg, A. 2006. Low Abundance Kutzenrides From *Kutzeneria*. J. Nat. Prod., 69(12): 1776-1781.
26. المعاضيدي، صدام حسين فاضل. 2007. تشخيص المركبات الفعالة في نبات لسان الحمل الكبير بتقنيتي الامتصاصية الجزيئية وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ودراسة فعاليتها المضادة للبكتيريا. رسالة ماجستير، كلية العلوم- جامعة الأنبار.
27. Ali B. 2011. Nutritional and elemental analyses of some selected fodder species used in traditional medicine. Afr. J. Pharmacy and Pharmacol., 5(8).
28. Skoog, D. A.; West, D. M. & Holler, F. J. 2004. Fondumentals of Analytical Chemistry. 5th Ed., Thomson, USA.
29. Alubaid, R. H. H. Biochemical Study For the Seeds of *Prosopis farcta.* A Thesis MSc., College of Education\ University of Al-Anbar.
30. Harborne, J. B. 1973. Phytochemical Methods. 1st Ed Chapman and Hall.
31. السامرائي، خلود وهيب. 1983. توزيع القلويدات واهميتها التصنيفية في بعض الانواع البرية من العائلة الباذنجانية *Solanaceae* في العراق. رسالة ماجستير، كلية العلوم- جامعة بغداد.
32. Sabahi, M.; Mansouri, S. H.; Ramezanian, M. & Gholam – hoseinian, A. 1987. Screening of plants from the south east of Iran antimicrobial activit. Int. J. Crude Drug Res., 25(2): 72-76.
33. Myrvic, Q. N. & Weiser, R. S. 1988. Fundamentals of Medical Bacteriology and Mycology. 2nd ed. Leu and Febiger. Library of Congress Cataloging in Publication Data.
34. Pavrez, M.; Mahboob, H. K.; Zahuul, I. & Shek, M. H. 2005. Antibacterial activities of the petroleum ether, methanol and acetone extract of kaempferia galangal. Rhizome. J. Life Earth Sci., 25-29
35. Urve, P.; Vallo, M. & Ain, R. 2010. Total tannin content in distinct Quercus robur L. galls. J. Med. Plants Res., 4:(8): 702-705.
36. Sofowara, A. 1993. Medicinal Plant and Tradition Medicine in Africa. Spectrum Book Ltd. Ibadan Nigeria.
37. Gallisai, F. G. 2002. Bedouin Traditional Medcine in the Syrian Steppe. Rome. FAO. Sincich, F. PP. 114-115.
38. WHO. 1999. International Programme On Chemical Safety. A Series of Environmental Health Criterias 3. Geneva.
39. Franklin, J. J. 1987. Bacterial resistance to antibiotics in pharmaceutical microbiology. 4th ed., Black well scientific publications. Oxford. Londod, Edinburgh, Melbourne., PP. 203-225.
40. الصالح، ضحى سعد، 1990. علم الاحياء المجهرية. لجنة من تدريسيي قسم علوم الحياة. دار الحكمة. جامعة بغداد. العراق.
41. العكيلي، عدنان حنون. 2002. دراسة تاثير حامض الخليك وبعض المستخلصات النباتية في نمو بكتيريا اصابات الحروق. رسالة ماجستير، كلية العلوم – الجامعة المستنصرية.
42. Montville, T. J. & Matthews, K. R. 2005. Food Microbiology: an Introduction. ASM Press. New York.