

تشخيص بعض العناصر المعدنية في الزيرقون ودراسة تأثيرها التثبيطي على بعض البكتيريا والفطريات
زينب طه ياسين ، بسام عاشور رشيد* ايمن عبدالله الامارة *

قسم الكيمياء – كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة البصرة-البصرة-العراق

*قسم الكيمياء البيئية البحرية - مركز علوم البحار - جامعة البصرة-البصرة-العراق

zt_yasin@yahoo.com

الخلاصة

تم تقدير بعض العناصر المعدنية ومدى التأثير التثبيطي لمادة الزيرقون على بعض انواع من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام حيث اظهرت بكتريا *Staphylococc aureeus* حساسية تجاه الزيرقون يليها بكتريا *Enterobact.ersp.* ولم تظهر بكتريا نوع *E.coli* الا عند التراكيز العليا اي حساسية تجاه الزيرقون اما جنس *Citrobacter* فقد اظهر مقاومة للتراكيز 1% و3% و4% اما جنس *Serratia* فقد ابدى مقاومة للتركيزين 1% و2% ، في حين اظهر حساسية لمادة الزيرقون عند التراكيز 3%، 4%، 5% وكانت تراكيز العناصر المعدنية المقاسة بجهاز الامتصاص الذري وهي الرصاص، الحديد، النحاس، الكاديوم، النيكل والارصين هي: 709.839، 11754.808 ، 73.671، 192.996 و 27.27، 26.489 µg/g على التوالي. كما واثبت طيف الاشعة السينية التركيب الكيميائي لمادة الزيرقون حيث اظهرت اعلى قمة تابعة لأكسيد الرصاص الاحمر. ولم تظهر الفطريات اي فعالية بايولوجية.

الكلمات الدالة: مادة الزيرقون ، لتثبيط البكتيري ، طيف الامتصاص الذري ، طيف حيود الاشعة السينية.

المقدمة

مادة الزيرقون هي مادة بلورية صلبة وهي بلورات ذات لون احمر - برتقالي كما في الشكل رقم 1.



الشكل 1 صورة فوتوغرافية لمادة الزيرقون

والسلبات ولا تظهر اعراض التسمم الا بعد فوات الاوان واستحالة العلاج وفي الخليج العربي استخدمت مادة بنت الذهب للعلاج (Worthing and Sutherland 1996) وهي مادة حاوية على اكاسيد النحاس والرصاص لمعالجة الاضطرابات المعوية لدى الاطفال. مما سبق يتضح ان تركيز دقيق من هذه العناصر يمنع سميتها ويكون له تاثير جيد على تثبيط انواع معينة من البكتيريا والفطريات (Ashok Kumar 2011). وفي الوقت الحاضر فقد استخدم اوكسيد الخارصين المحضر بشكل جسيمات نانوية في تثبيط انواع مختلفة من البكتيريا. (Chehrazi , 18 June, 2011) و (Huang, Zheng et al. 2008). كما واستخدمت مركبات الحديد النانوية لنفس الغرض (Naresh Kumara March 2014).

استخدمت مادة الزيرقون محليا في العراق ومنذ سنين عديدة كمادة لقتل البكتيريا المسببة للأمراض الجلدية والتي تظهر بكثرة لدى الاطفال حديثي الولادة. تفتنى المادة مباشرة من السوق المحلية (من العطار) وتستخدم لغرض العلاج دون استشارة طبية ويجعل العطارين تركيبها الكيميائي ومصادرها الطبيعية. ان الغرض من هذا البحث هو عرض بيانات جديدة لتركيب مادة الزيرقون مع تفصي تأثير استخدام مستخلص المادة على نمو البكتيريا المرضية واهمها تلك المسببة للأمراض من

منذ اقدم العصور اكتشف الناس المعادن واستخدموها للعلاج (Mukherjee 1992) فمثلا ان استخدام اكاسيد النحاس في الطب التقليدي قد ترجمت الى الحياة العملية لأول مرة من قبل Bose and Bose (1983) O'Loughli. كما واستخدم الرصاص للاغراض الطبية في الهند كنظام للمعالجة. فمثلا تحوي بعض مساحيق التجميل التي تستخدم في دهن اجسام الاطفال والكبار وبخاصة التي تصنع في الهند على نسب عالية من الرصاص وقد سببت هذه المواد حالات من التسمم بالرصاص كما تحوي بعض اصبع الشعر على خلاص الرصاص بنسب متفاوتة. الرصاص عنصر ثقيل سام جدا يدخل الرصاص الى جسم الانسان عن طريق الهواء عبر عملية التنفس و بواسطة الطعام بعملية الاكل (Needleman 2004). ويكون الاطفال اكثر عرضة للتسمم بالرصاص وعندما يزيد مستوى الرصاص في الدم عن 800 – 1000 مايكروغرام /لتر فان ذلك يؤدي الى توقف الانزيمات. للرصاص تاثير مباشر على الدماغ في مراحل الطفولة المبكرة اما بالنسبة للكبار فالرصاص يؤثر على الجهاز العصبي مباشرة (Hilary 2001). ومن المعروف أن الرصاص والكاديوم والنيكل هي مواد سامة (Kumar 2012) فالرصاص ليس له اي فائدة في جسم الانسان فهو لا يخدم عمليات او وظائف فسيولوجية او كيميائية داخل الجسم ولكن ترسباته في جسم الانسان تحمل الكثير من المخاطر

خلال دراسة الفعالية البايولوجية للمستخلص وقياس قطر منطقة التثبيط ضد نمو انواع مختلفة من البكتيريا المرضية.

المواد وطرائق العمل

1. التحليل البكتيري

اولا: العزلات البكتيرية والفطرية

استخدمت خمسة انواع من البكتيريا المرضية والبكتيريا المسببة للتسمم الغذائي وهذه الانواع هي : *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Enterobact.ersp.*, *Citrobacter sp.*, *Serratia Sp.* تم عزل هذه الانواع من احدى الاسماك المصابة بمرض بكتيري وتم العزل في مختبر البكتيريا البحرية في مركز علوم البحار- جامعة البصرة وقد تم تشخيص هذه العزلات بدراسة خصائصها الشكلية وقابلية اصطبائها بصبغة كرام بالاضافة الى اجراء بعض الاختبارات الكيموحيوية وذلك استنادا لما ذكر في (Holt 1994). اما بالنسبة للفطريات فقد تم استخدام الفطر *Saprolegnia sp.*

ثانيا: تنشيط المزارع النقية للاحياء المجهرية

تم تنشيط العزلات المختبرة المذكورة انفا وذلك قبل اجراء الكشف عن الفعالية التضادية لمستخلص المادة وباستخدام الوسط الزرع *Nutrient Agar* وقد تم تنشيط البكتيريا قبل اجراء الفحص بفترة (18-24) ساعة وبدرجة حرارة (37) م°. وقد تم تنشيط الفطريات في الوسط الغذائي (*potato Dextrose Agar*) ولمدة خمسة ايام عند درجة حرارة (25) م°.

ثالثا: تحضير اللقاح البكتيري

استخدمت الطريقة التي ذكرها مجيد وآخرون (وعبدالكريم 1998) في تحضير العزلة البكتيرية وذلك بتتمية البكتيريا المنشطة على وسط *Nutrient Agar* وحضنها بدرجة حرارة (37) م° ولمدة (24) ساعة ثم يتم نقل عشرة مستعمرات من كل نوع من البكتيريا المستعملة في التجربة وتحت ظروف التعقيم الى انبوبة

اختبار تحوي على (5) مل من الوسط الغذائي *Broth Nutrient* ثم تحضن بدرجة (37) م° لمدة (1) ساعة وبعدها يتم اجراء التخفيفات المناسبة لكل نوع من البكتيريا بحيث يكون عدد الخلايا الكلي تقريبا بحدود 107 في المليمتر.

رابعا: اختبار الفعالية التضادية لمادة الزيرقون اولاً

البكتيريا

تم اتباع الطريقة المستخدمة من قبل مجيد وآخرون (وعبدالكريم 1998) في اختبار حساسية البكتيريا لمستخلص الزيرقون حيث تم تلقيح الاطباق الحاوية على الوسط *Nutrient Agar* بواسطة نشر حجم مقداره (0.1) مل من المعلق البكتيري ثم تركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة (15) دقيقة وذلك لغرض امتصاص اللقاح بعدها يعمل حفر *wells* في الوسط الغذائي الملقح بالبكتيريا بواسطة ثاقبة فلين معقمة بقطر (7) ملم وبواسطة ماصة دقيقة يتم نقل (50) مايكروليتر من كل تركيز من تراكيز مستخلص الزيرقون ويوضع داخل الحفرة وبالوقت نفسه يتم عمل اطباق سيطرة *Control* وذلك بوضع (50) مايكروليتر من الماء المقطر المعقم في الحفرة بدلا من مستخلص الزيرقون ثم تحضن الاطباق بدرجة حرارة (37) م° لمدة (18-24) ساعة بعد ذلك تقرا النتيجة بقياس قطر منطقة التثبيط والتي تمثل منطقة عدم النمو البكتيري المحيطة بالحفرة بواسطة المسطرة حيث اجريت التجربة باستخدام التصميم العشوائي الكامل وبثلاث مكررات لكل معاملة ثم قورنت المتوسطات باستخدام اقل فرق معنوي *LSD Least significant test*.

ثانيا: الفطريات

اجريت التجربة باستخدام طريقة التثقيب ثم تم حضن الاطباق بدرجة (25) م° ولمدة خمسة ايام ثم تم قياس طول قطر الهالة وقد تم ايضا عمل اطباق سيطرة *control* تحوي على الوسط الغذائي مزروعا عليه مستعمرة الفطر المنشط بنفس القطر السابق وبدون وجود مستخلص الزيرقون.

2. التحليل الكيميائي

تمت دراسة الزيرقون وذلك باجراء الكشوفات النوعية والكمية للمادة باستخدام الاجهزة التالية :

XRD Spectra, Diffractometer system

XPRT-PRO

IR Spectrophotometer

SP3-300s

Atomic Absorption
Spectrophotometer

AA320N

اولا : طيف الاشعة السينية

تمت الدراسة بفحص عينة من المادة قيد الدراسة بواسطة جهاز حيود الاشعة السينية و حسب الاعدادت التالية :

Anode Material	Cu
K-Alpha1 [Å]	1.54060
Start Position [°2Th.]	20.0050
End Position [°2Th.]	59.9950
Scan Type	Continuous
Generator Settings	20 mA, 40 Kv

النتائج والمناقشة

يشير الجدول رقم (1) الى الفعالية المايكروبية فقد أظهر جنس *Ecoli* مقاومة للتركيز الثلاثة الاولى فيما أظهر حساسية للتركيزين الاخيرين (4% و 5%).

وقد كان قطر منطقة التثبيط 13 و 15 ملليمتر على التوالي. اما جنس *Citrobacter* فقد اظهر مقاومة للتركيز 1% و 3% و 4% فيما اظهر حساسية للتركيزين 2% و 5% وقد كان قطر منطقة التثبيط 10 و 14 ملليمتر على التوالي. فيما اظهر جنس *Enterobacter* حساسية لاربعة تركيز هي 1% و 3% و 4% و 5% وقد كان قطر منطقة التثبيط 10, 12, 12, 14 ملم على التوالي واظهر مقاومة لمادة الزيرقون عند التركيز 2%. بالنسبة للنوع *S aureus* فقد أظهر مقاومة للمادة عند تركيز واحد فقط وهو 1% فيما أظهر حساسية عند التركيزات

ثانيا : طيف الاشعة تحت الحمراء IR Spectrum

تم فحص عينة من المادة قيد الدراسة باستخدام قرص بروميد البوتاسيوم وعند درجة حرارة المختبر.

ثالثا : طيف الامتصاص الذري

حضر المستخلص من مادة الزيرقون وذلك باخذ (0.5) غرام من المادة هضمت في جفنة من التفلون باستخدام مزيج الحوامض (HClO₄, HF, HNO₃, HCl) ثم يكمل الحجم الى (50) مل ثم يتم قياس تراكيز العناصر للمحلول الاخير بجهاز طيف الامتصاص الذري بعد عمل المنحنى القياسي لكل عنصر.

ملم على التوالي. هذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه اخرون حيث اشاروا الى تأثير انواع من البكتيريا بالعناصر الثقيلة (Hideomi 1977).

2% و3% و4% و5% وقد كان قطر منطقة التثبيط 12 و14 و22 و12 ملم على التوالي. اما جنس *Serratia* فقد ابدى مقاومة للتركيزين 1% و2% ، في حين اظهر حساسية لمادة الزيرقون عند التراكيز 3%، 4%، 5% وقد كان قطر منطقة التثبيط 10، 10، 15

الجدول (1) نتائج قياس الفعالية ضد البكتريا المرضية باستعمال مستخلص الزيرقون.

البكتريا المرضية المعزولة من الاسماك	التركيز w/w				
	قطر منطقة التثبيط mm لمستخلص الزيرقون				
	1%	2%	3%	4%	5%
<i>E. coli</i>	0	0	0	13	15
<i>Citrobacter sp.</i>	0	10	0	0	14
<i>Enterobacter sp.</i>	10	0	12	12	14
<i>S.aureus</i>	0	12	14	22	12
<i>Serratia sp.</i>	0	0	15	10	10
الفطر	0	0	0	0	0

اقطار مناطق التثبيط تمثل المعدل لثلاث قراءات.

بعض العناصر المعدنية المقاسة. ان نتائج التحليل الكيميائي اشارت الى وجود تراكيز عالية من الرصاص والحديد و النحاس و الكاديوميوم و النيكل و الخارصين.

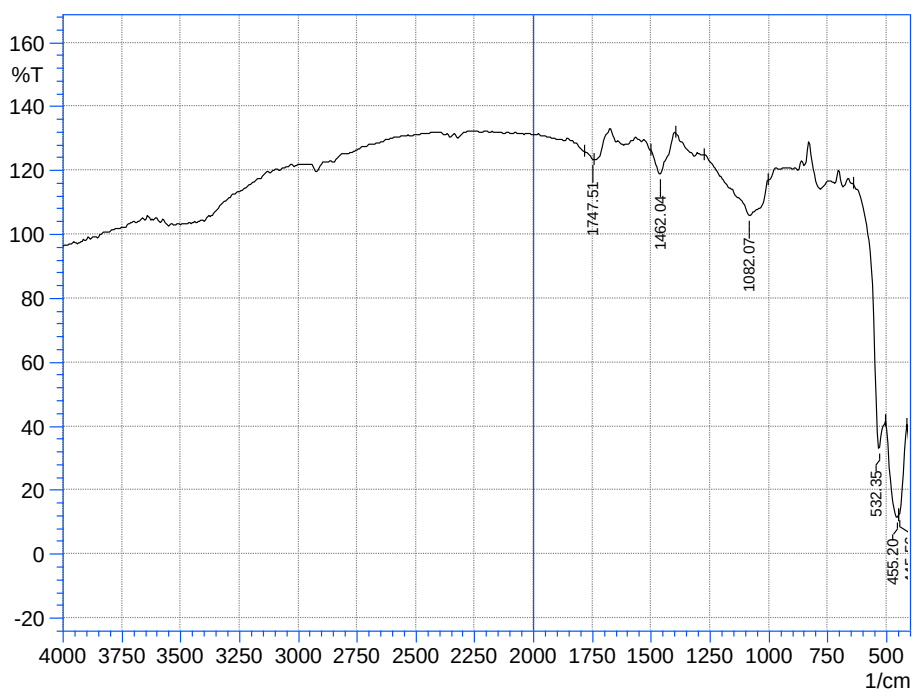
اما بالنسبة الى الفطريات فلم تظهر اي فعالية بايولوجية تذكر حيث لم يتبين اي منطقة للتثبيط.

اما بالنسبة للتحاليل الكيميائية فقد اظهرت نتائج طيف الامتصاص الذري وكما مبين بالجدول رقم (2) تراكيز

الجدول (2) تراكيز العناصر المعدنية المقاسة بجهاز طيف الامتصاص الذري لمستخلص الزيرقون.

العنصر	Pb	Fe	Cu	Cd	Ni	Zn
التركيز µg/g	11754.808	709.839	192.996	73.671	27.274	26.489

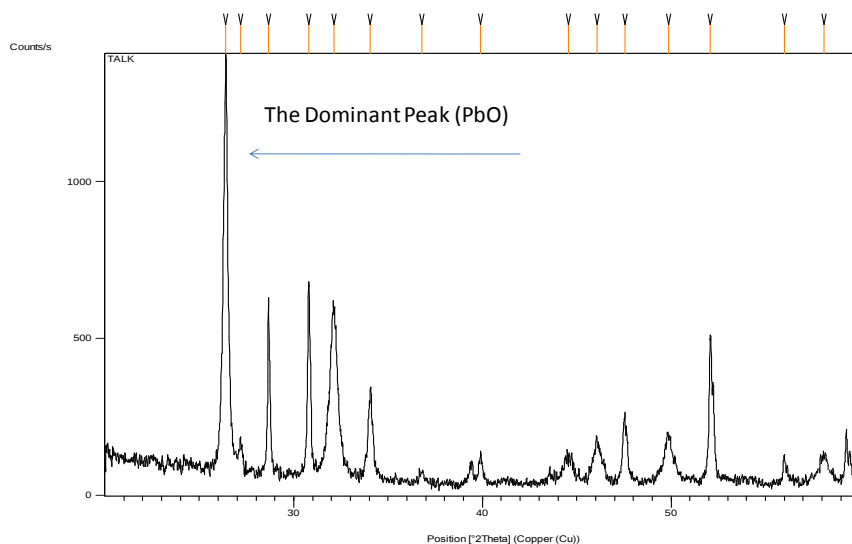
أظهرت الدراسة لطيف الاشعة تحت الحمراء لمادة الزيرقون والموضحة بالشكل (2) عدم وجود المواد العضوية لعدم ظهور حزمة قوية للمجاميع العضوية الفعالة ولذلك فان الزيرقون هو مخلوط من معادن لاعضوية فقط.



الشكل رقم (2) طيف الاشعة تحت الحمراء لمادة الزيرقون

ان المادة تتكون بصورة رئيسية من اوكسيد الرصاص
الاحمر بالاعتماد على ASIM Card.

وأظهرت الدراسة لطيف الاشعة السينية قياسات 2θ
حيث يوضح الشكل رقم (3) والجدول رقم (3) قيم
الزوايا باستخدام قياسات الطيف المستمر وثبتت الدراسة



شكل (3) طيف حيود الاشعة السينية لمادة الزيرقون قيد الدراسة

الكبير قد يعزى الى وجود مادة اوكسيد الرصاص الاحمر PbO وبالاتفاق مع الباحثين (Worthing and Sutherland 1996).

وبالرغم من كون طيف الامتصاص الذري قد اعطى نتائج تبين التركيز القليل نسبيا للزنك مقارنة بالرصاص الا ان التأثير التثبيطي للبكتريا من قبل اوكسيد الزنك لا يمكن اهماله حيث يستخدم مرهم اوكسيد الزنك وبكثرة للقضاء على انواع مختلفة من الامراض الجلدية (سامراء 1981).

يبين الجدول (3) قيم الزوايا ($2\theta^\circ$) حيث كانت القمة الاعلى عند 26.4048 دلالة على وجود مادة اوكسيد الرصاص الاحمر والتي قد يعزى لها لون مادة الزيرقون (الاحمر - البرتقالي).

ومن التحليل الكيميائي باستخدام الاطياف المختلفة فان التثبيط البكتيري قد يعزى الى وجود هذه العناصر وبالنسب المئوية مجتمعة معا حيث تؤثر على جدران الخلايا البكتيرية الموجبة الغرام والسالبة ولكن التأثير

الجدول(3) طيف حيود الاشعة السينية لمادة الزيرقون

Pos. [$2\theta^\circ$]	Height [cts]	FWHM [$2\theta^\circ$]	d-spacing [Å]	Rel. Int. [%]
26.4048	269.76	0.1378	3.37551	100.00
27.1920	24.24	0.1574	3.27954	8.99
28.6659	117.07	0.0492	3.11419	43.40
30.7998	124.50	0.0787	2.90312	46.15
32.1198	111.81	0.3542	2.78677	41.45
34.0533	54.87	0.1968	2.63283	20.34
36.7886	5.67	0.3149	2.44312	2.10
39.9017	16.24	0.1968	2.25940	6.02
44.5451	15.03	0.4723	2.03407	5.57
46.0857	25.40	0.4723	1.96959	9.42
47.5446	40.40	0.2362	1.91251	14.98
49.8593	28.81	0.2755	1.82901	10.68
52.0884	92.30	0.0984	1.75586	34.22
56.0053	15.11	0.1181	1.64200	5.60
58.1034	16.10	0.3840	1.58629	5.97

الاستنتاجات

وبينت الدراسة عدم وجود فعالية للمستخلص ضد بعض انواع من الفطريات قيد الدراسة كما وبينت الدراسة الكيميائية للمستخلص باستخدام طيف الاشعة تحت

اظهرت الدراسة بان مستخلص الزيرقون يمتلك تاثير تثبيط نمو ضد بعض انواع من البكتريا المرضية قيد الدراسة مما يؤكد وجود فعالية بايولوجية للمستخلص كما

resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*." Applied and Environmental Microbiology. : p.975-976.

Hilary, A. G. (2001). "The Biological chemistry of lead." Current opinion in chemical Biology(5): 223-227.

Holt, J. G. K., N.R.:Sneath,P.H.A.Staley,J.T. and Williams,S.T.(eds). (1994). "Bergey's manual of determinative Bacteriology."

Huang, Z., et al. (2008). "Toxicological Effect of ZnO Nanoparticles Based on Bacteria." Langmuir **24**(8): 4140-4144.

Kumar, N. G. a. V. (2012). "Identification and Isolation of Heavy Metal (Copper) Resistant Bacteria" Archives of Applied Science Research **4**(1): 577-583.

Mukherjee, G. (1992). "Ayurveda, a New Concept." J.Integrative Medicine Publication

Naresh Kumara, c., d, Enoma O. Omoregiea, b, 1, Jerome Rosec, d, Armand Masionc, d, Jonathan R. Lloyd, Ludo Dielsa, Leen Bastiaensa (March 2014). "Inhibition of sulfate reducing bacteria in aquifer sediment by iron nanoparticles." Water Research **Volume 51**(15): Pages 64-72.

Needleman, A. (2004). "Lead poisoning." Annual Review of Medicine **55**: 209-222.

Worthing, M. A. and H. H. Sutherland (1996). "The composition and origin of massicot, litharge (PbO) and a mixed oxide

الحمراء خلو المادة من المركبات العضوية واثبتت دراسة طيف الاشعة السينية ان المادة تتكون بصورة كبيرة من اوكسيد الرصاص الاحمر مع وجود اوكسيد لعناصر اخرى. ويمكن من خلال دراسة التنشيط البكتيري ان نستنتج ان لكل من اوكسيد الرصاص الاحمر والزنك الاثر الكبير في التنشيط. كما واثبت طيف الامتصاص الذري لمادة الزيفون التراكيز الكيميائية لبعض من العناصر حيث توفر للاطباء والصيادلة المعلومات اللازمة لتخليق مركبات اكثر فاعلية (بتراكيز معينة) من الزيفون لعلاج انواع محددة من البكتيريا. واثبتت الدراسة بانه بالامكان استخدام مستخلص الزيفون كبديل دوائية بدلا من استخدام المضادات الحيوية وذلك بعد اجراء الدراسات السريرية المفصلة عليها مع تحديد الجرعة الدوائية المناسبة.

المصادر

Ashok Kumar, B. S. B., V.D. Joshi (2011). "Zinc and Cadmium removal by acclimated *Aspergillus niger*: Trained fungus for biosorption." International Journal of Environmental Sciences and Research **Vol. 1**, (No. 1,): 27-30.

Bose, A., Vashista, K. and O'Loughlin B.J. (1983). "Azarcon por empacho - another cause of lead toxicity. ." Pediatrics **72**: 106-108.

Chehraz, Z. E.-K. a. P. (, 18 June, 2011). "Antibacterial activity of ZnO nanoparticle on grampositive and gram-negative bacteria." African Journal of Microbiology Research **Vol. 5**(12),: pp. 1368-1373.

Hideomi, N. e. (1977). "Linkage of Mercury, Cadmium, and Arsenate and Drug

قيثار رشيد مجيد، صباح
 مالك الشطي و علي حسين عبد الكريم (1998).
 المحتوى الكيميائي للزعر
 وتأثير مستخلصه التثبيطي على بعض البكتيريا
 الموجبة والسالبة لصبغة كرام " مجلة البصرة للعلوم
 الزراعية" المجلد (11) العدد(1): (41- 50) .
)

of lead used as a traditional medicine in the
 Arabian Gulf." MINERALOGICAL
MAGAZINE **60**: 509-513.

vademecum of the state company for drug
industries (1981) المديرية العامة لصناعة الادوية
 في سامراء

Identification of some mineral elements in zairakon and study of inhibition effect against some pathological germs

Zainab T. Al-Abdullah Bassam A. Al-Abdulaziz* Eman A. Al-Imarah*

Department of chemistry- College of education- Basrah University –Iraq

*Department of Marine Environmental Chemistry- Marine Science Centre-
Basrah University -Iraq

Abstract

Some elements in the Zairakon is determined and the inhibitory effect of a substance Zairakon on some types of bacteria to the positive and negative gram dyes is presented. Where, Staphylococc aureeusus bacteria showed sensitivity to, Zairakon followed by Enterobact.ersp. E.coli bacteria did not show any sensitivity. But, only at the upper concentrations of to Zairakon. Genus Citrobacter has shown resistance to concentrations of 1% and 3% and 4% either genus Serratia have expressed resistance to concentration 1% and 2%, while showed the sensitivity of the material Zairakon at concentrations of 3 % 0.4% 0.5%. The concentrations of mineral elements were measured by atomic absorption, a lead, iron, copper, cadmium, nickel and zinc are: 11754.808, 709.839, 192.996, 73.671, 27.27 and 26.489 $\mu\text{g} / \text{g}$, respectively. In addition, the X-Ray diffraction spectrum was confirmed that substance is dominantly composed of red lead oxide. Fungus did not show any effectiveness of a biological.