الاستخلاص والتعريف والتجربة الحيوية للكركمين المستخلص من مسحوق الكركم العراقي بواسطة تقنية الاستخلاص بالامواج فوق الصوتية

م.م أيمان أسماعيل
جامعة ميسان

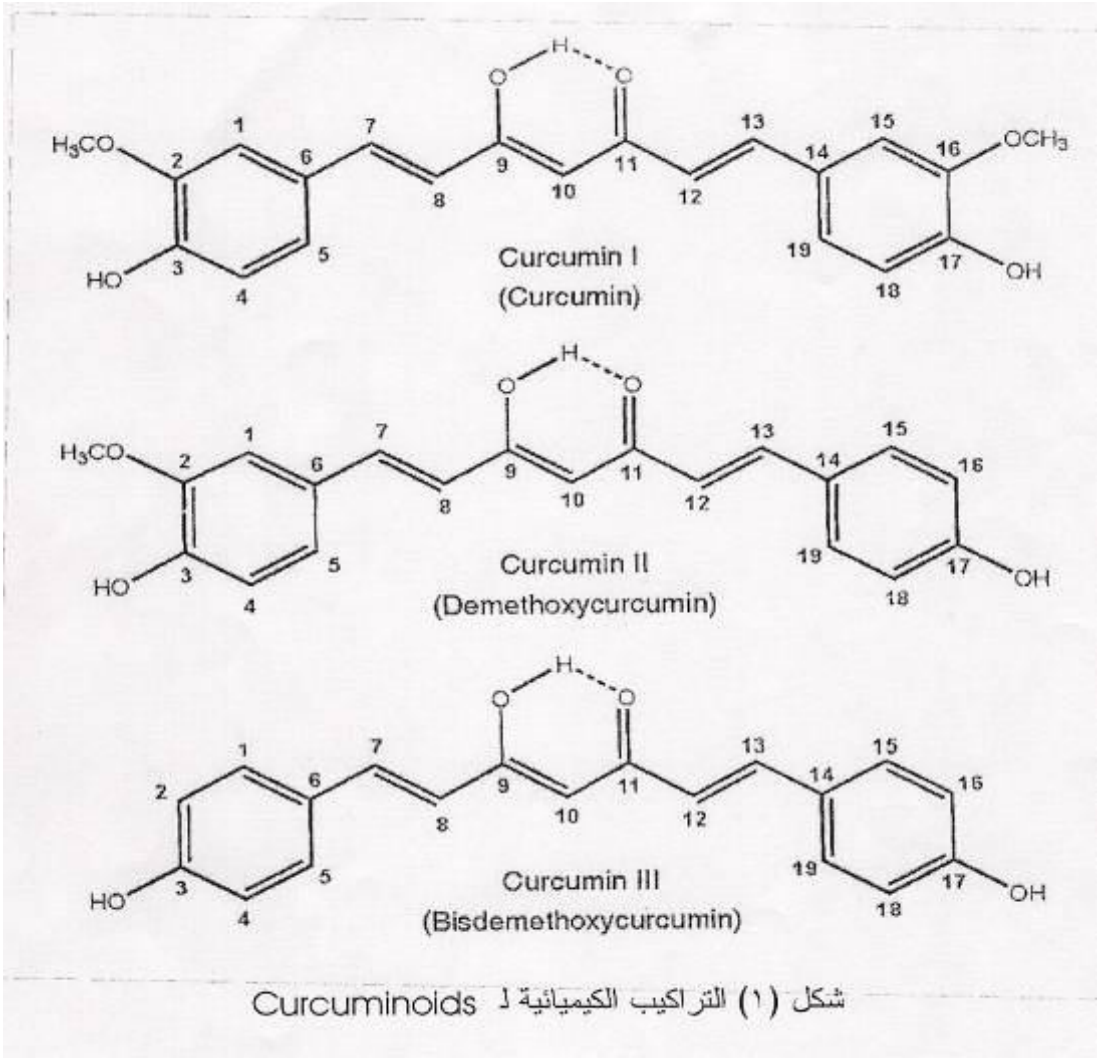
الخلاصـــــة:-

صممت هذه الدراسة لاستخلاص وتعريف ماهية المادة الفعالة في الكركم(curcuminoid) باستعمال منتج الكركم المحلي.وذلك تيقنا من خلال مراجعة الادبيات العلمية بان هنالك أستعمالات طبية متنوعة ومستحضرات دوائية له جعلت لهذا المستخلصمن من الاهمية العلمية وفي اكثر من مجال. جرت عملية الاستخلاص بطريقتين الاستخلاص الكحولي والثانية لم تقف عند الاستخلاص الكحولي وانما أستكمل العمل بتعريض المستخلص الكحولي للامواج فوق الصوتية . أضهرت نتائج الفحص البايلوجي ان هنلك افضلية لطريقة الاستخلاص بالامواج فوق الصوتية قياسا بالمستخلص الكحولي من خلال مقارنة مناطق التثبيط بكتريا الاختبار.

المقدمة:-

الكركم نبات اصفر اللون العائد الى عائلة zingiberaceae وهو نبات من مجموعة الرايزومات العائدةالى جنس curcuma وينتشر محليا وفي كافة أنحاء العالم(١).ويستعمل بكثرة كنكهه غذائية او مادة ملونة للاغذية بالاضافة الى أستخداماته الطبية والصيدلانية والتجارية. أن مكونات الكركمين الرئيسية الثلاثة والتي عزلت من نبات الكزكم والتي هي curcumin I,curcumin II,curcumin III (٢)
والمبين كما في المخطط(شكل رقم ١)

ISSN-1994-697X



شكل (١) التراكيب الكيميائية لـ Curcuminoids

هذه المركبات الثلاثة تضفي الصبغة الصفراء لنبات curcuma longa(٣) أظهرت التجارب السابقة والدراسات السريرية أن نبات الكركم ومشتقاته أو مكوناته لها تاثير كمضادات اكسدة(٤)وكذلك كمضادات للالتهابات (٥)كذلك اضهرت الدراسات بان له تاثير مثبط للسرطانات (٦) وفي دراسة تظهر تاثيره الكبير كمضتاد للسرطان وكعلاج قوي في الانسان لمرض نقص المناعة المكتسبة (HIV) (٧).

الهدف من البحث :-

لتحديد الطريقة المثلى في استخلاص الكركمين من خلال قياس الفعاليه التثبيطية للمستخلص بتجارب التضاد تجاه بكتريا الدراسة .

ISSN-1994-697X

الجزء العملي:-

تمت عملية العزل باستخدام تقنية الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية وتقنية الاستخلاص البسيط .

الاستخلاص الكحولي :-

١-وزن حوالي ٢٠غم من مسحوق نبات الكركم في بيكر سعة (١٠٠مل)جاف ونظيف.
٢-أضيف (٣٠مل) من ايثانول(٧٠%) الى البيكر.
٣-نقل المزيج الى قمع الفصل (١٠٠مل) ثم رج لمدة (٢٠ دقيقة) .
٤-رشح المزيج.
٥-بخر الراشح الى جفاف .

ألاستخلاص بالامواج فوق الصوتية ULTRASONIC EXTRACTION

مزج تقريبا (٢٠غم) من باودر الكركم مع (٣٠مل)من الايثانول في بيكر (٢٥٠مل) ونقل الى (٥ قناني صغيرة) وضعت في حمام الموجات فوق الصوتية وشغل الجهاز لمدة (١٥ دقيقة)تم ترشيح المحلول المستخلص في القناني الصغيرة لازالة المواد غير الذائبة وجمعت جميع المحاليل وحضر حوالي (١٢٠مل) من المستخلص

الفحص البايلوجيBiological assay

اجريت التحضيرات المايكروبية وفحص التضاد مع المستخلص قيد الدراسة وفق الية عمل مختبر الاحياء المجهرية الطبية /فرع التقنيات الاحيائية /قسم العلومالتطبيقية/الجامعة التكنلوجية وتحت ضروف وطبقا(٨) Atlas،١٩٩٥ وكما ياتي :-

١-أختيرت ثلاث عزلات بكتيرية مرضية محليا منشطة وهي:-
Esherichia coli, Pseudomonas aeruginosar , staphylococcus aureus
وعملت تخافيف منها بواقع (١,١\٢، ٤\١١) وحسب قياس مكفرلاند التركيز الاصلي وزرعت في الاطباق المعدة لذلك،وحسب وعملت ب(١,٢,٣) .
٢-عملت حفر (حجم الحفرة ٦ملم) وبواقع (٢) حفرة مخصصة للمستخلص بنوعية مع كل تركيز بكتيري ولجميع الانواع البكتيرية مع وضع معاملة السيطرة في كل طبق بعد تقسيمة الى اربعة اقسام متساوية وكما في الاشكال الاحقة(٢,٣,٤) .
٣-أضيف مستخلص الكركمين لملا كل حفرة ولكافة الاطباق بعد الزرع مباشرة وللنمطين ،المستخلص بالامواج فوق الصوتية (US; ultrasonic) ،والمستخلص بالايثانول (Ethanol٧٠%) .
٤-حضنت الاطباق في الحاضنة وتحت ظروف (٣٧درجة مؤية ،٢٤ ساعة)
٥- قيست مناطق التثبيط inhibition zones وصورت بالكاميرة الاعتيادية .

ISSN-1994-697X

النتائج والمناقشة :-

الكركمين صبغة صفراء أسمة العلمي

(1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1 6-heptadiene-3,5-dione)

وهو مركب فعال وبستعمل كغذاء وتوابل ولة استعمالات طبية مضاد للطفرة ومضاد للسرطان بالاضافة الى كونة مضاد للالتهابات ،الكركمين لة القابلية على قتل البكتريا وتقليل مستوى الكوليسترول .
اظهرت فحوصات اطياف (IR) لمركب الكركمين مطابقاتها مع اطياف (IR) القياسية للعينات كما مبين في الشكل (٥) والجدول (١) .

Group	IR -Frequency(cm-1)
O-H aromatic	3379
Ar-O-R	1)1275-1200 2)1150
C-H aromatic C=C	3100-3000 1612
C-H aliphatic	3000-2840str. 1460 bending .
C=O	1650
C-H unsaturated	3049 stretch 1000-650 bending 1667-1640

ISSN-1994-697X

أظهرت فعالية مستخلص الكركمين تجاه بكتريا الاختبار وللعزلات المحلية الثلاث لنتائج تثبيط واضحة وكما في الجدول (٢) ألاتي :-

نوع العزلة البكتيرية المحلية	أقطار التثبيط (بضمنها قطر الحفرة)	
	المستخلص بالامواج فوق الصوتية	المستخلص بالكحول الاثيلي
E1	١٥	٨
E2	٢٠	١٢
E3	٢٢	١٥
S1	١٧	١١
S2	١٦	١٣
S3	١٩	١٦
P1	١٠	٩
P2	١٥	١٣
P3	٢٠	١٥

Eth=Ethanol 70%
US=uiltrasonic
E=Eschenchia coli
S=staphylococcus aureus
P=pseudomonas aeruginosar

ISSN-1994-697X

المناقشة :-
١- لوحظ من خلال الجدول (١)والاشكال اللاحقة (٤,٣,٢) أن هنالك تثبيطا واضحا للمستخلص النباتي الكركمين ، ولجميع الانواع البكتيرية ولكن بشكل متفاوت وفي طريقتي الاستخلاص معا .
٢- ان هنالك تأثير تثبيط واضح يعتمد على طريقة الاستخلاص أذ بينت العينات المستحصلة من خلال الاستخلاص بالامواج فوق الصوتية تفوقا واضحا في تثبيط النمو البكتيري .
ولجميع الانواع البكتيرية ويمكن ملاحضة ذلك جليا من خلال الجدول(٢) او الاشكال المنوه عنها سابقا (٤,٣,٢) :

E3; E2, P3; S3, S1; S2; E1, P2, P1
وهذا بالنسبة للمستخلص بالامواج فوق الصوتية فيما كان تسلسل الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي هي(ومن الاعلى الى الادنى) كالاتي :-

S3; E3, P3; S2, P2; E2; S1, P1; E1

٣- تبين من قياس لمستخلص الكركمين وحسب اقطار التثبيط وبالمقارنة مع معاملة السيطرة ان هنالك تأثير واضحا على بكتريا E.coli للتراكيز E2,E3في طريقة (U.S) في حين كان التركيز E3هو المتأثر من هذاالنوع البكتيري في طريقة الاستخلاص الكحولي .
وهذا انما يدل على قوة المستخلص ب(U.S) قياسا بالمستخلص ب(Eth) من جهة ولكون التراكيز E2,E3هي المخففة قياسا بالتراكيز E1من جهة أخرى اذ جاءت نتائج التثبيط متاخرة بسبب كثافة الزرع البكتيري .

٤- كان هنالك تاثير اوضح للعزلة S3(مستخلص Eth وظهر في مستخلص U.S ،أذاحتلت التسلسل التثبيطي الاوسط مابين العزلات في حين تتباين بشكل قليل التراكيز الاساسية في قابليتها التثبيط وهذا يعود الى شدة التركيز قياسا بالتراكيز الاخرى مما كان له الاثر الكبير في مقاومة المستخلص وبالطريقتين وهذا من جهه ، ومن جهه أخرى أن هنالك ضراوة عاليه لهذة البكتريا بسبب عزلها منخمج المستشفيات

٥- العزلات P1,P2,P3 وعلى التوالي وكانت قابلية التثبيط للكركمين هي الاعلى عند التراكيز البكتيرية الاوطا وهذا ناتج طبيعي لكون الاعداد البكتيرية أقل وهذا فضلا عن كون هذه البكتريا تعد من الانواع المقومة لكثير من المضادات الجرثومية (Antimicrobial Agents).

ISSN-1994-697X

ألاستنتاجات :-

تبين ان هنالك مقاومة عالية لبكتريا P.aeruginosar تجاه المستخلص (كما في P1,P2 قياسا ببكتريا E.coli التي اظهرت اقل مقاومة اعلى تثبيط (كمافي E2,E3)وهذ يعود الى الطبيعة الفسلجية لهذين النوعين واختلاف شدة ضراوتها فيما تأثرت ببكتريا (S .aureus)بألية الاستخلاص أذ ظهرت مقاومة اقل في مستخلص الامواج فوق الصوتية قياسا بالكحولي أثبتت المقارنة بين تقنيتي الاستخلاص البسيط والموجات فوق الصوتية تفوق الاخيرة باستخلاص المواد الفعالة .

التوصيات :-

نوصي باستعمال مستخلص الكركمين في معالجة الاصابات البكتيرية وبخاصة بالانواع قيد الدراسة ونوصي باجراء بحوث لاحقة مكملة حول الموضوع بما يتعلق باليات الاستخلاص الاختبار كما نوصي باستعمال تقنية Ultrasonic في أليات الاستخلاص للنباتات الطبية .

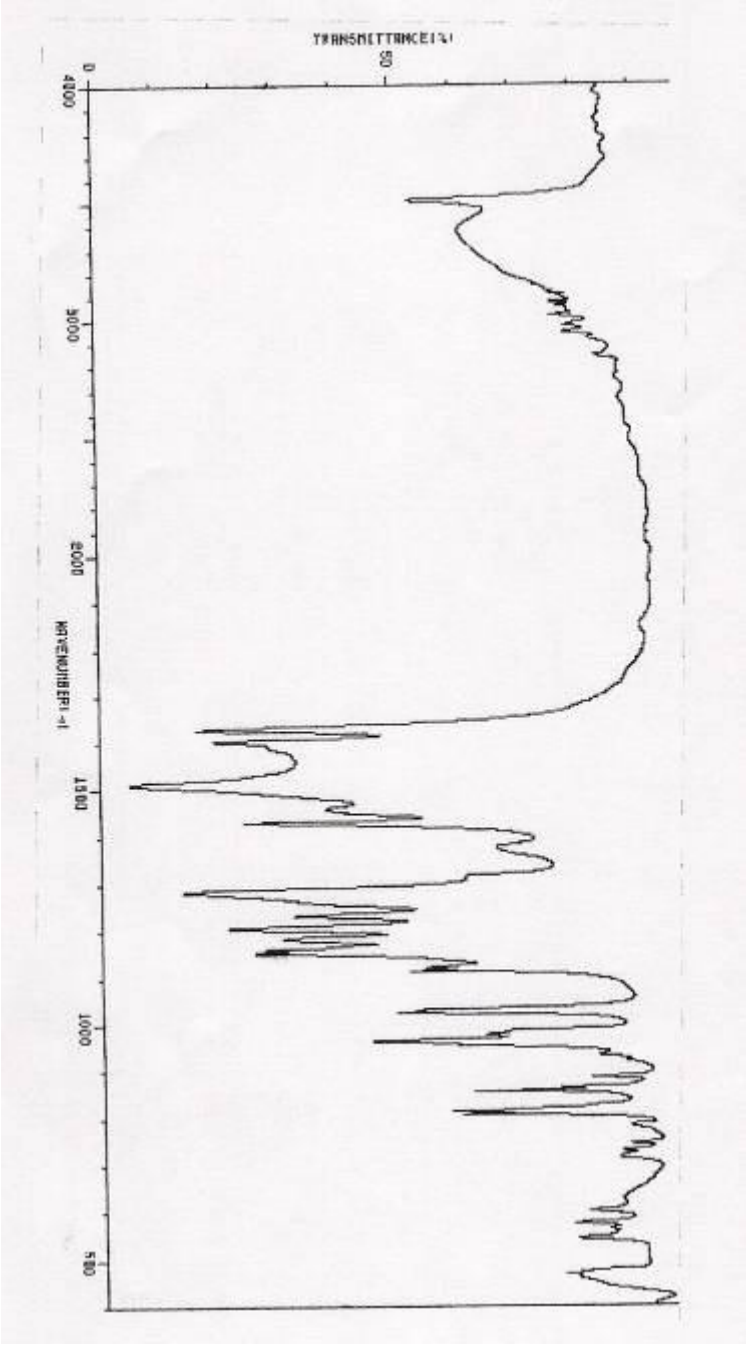
شكل رقم (٢)
يمثل ألية التضاد والمستخلص الكركمين مع العزلة المحلية E. Coli

ISSN-1994-697X

شكل رقم (٣)
يمثل الية التضاد والمستخلص الكركمين مع العزلة المحلية St. Aureus

شكل رقم (٤)
يمثل ألية التضاد والمستخلص الكركمين مع العزلة المحلية P.aeruginosar

ISSN-1994-697X



شكل رقم (٥)

Abstract:-

ISSN-1994-697X

This study is designed to extract and identify of curcumi noids from Iraqi important medical plant used in various pharmacentical preparations .the extraction process is carried out by ultrasonic bath technique and simple extraction, Ethanol 70%, the maximum extraction yield was estimated in ultrasonic extraction technique.

The biological assay were conducted using the following micro organism (Escherichia coli ,staphylococcus aureus , pseudomonas aeruginosa) to determine the antibacterial activity of curcuminoids extract was more powerful against bacteria than the ethanol extract .

Spectroscopic studies (IR) spectrometry are also conducted for identification from turmeric powder.

References:-

1-Aggarwal, B. B., kumar, A.and Bharti, A.C. (2003) anti cancer potential of curcumine: preclinical and clinical studies .anticancer Res., 23, 363-398.

2-Ramsewak RS, Dewitt DLand Nair MG (2000) cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumin I-IIIfrom curcuma longa .phytomedicine 7:303-308.

3-chaudhary H,walia S,Saxena VS (2000) Isolation , characteri- zation and insect growth inhibitory activity of major turmeric constituents and their derivatives against. Schistocerca gregania (forsk) and Dysdercus koenigi (walk). Pest management Sci: 56:1086-1032-

4-Antunes LG, Araujo MP, Darin C, Bianchi LP (2000) effects of the antioxidants curcumin and vitamin C on cisplatin induced calstognesis in wistar rat bone marrow cells.Muta Res 465:131-137.

5-Kawamori T,Iubet R,steelc VE,Kelloff G,Kasky RB,Rao CV and reddy BS (1999)chemopreventive effect of curcumin , anaturally occurring anti-inflammatory agent ,durng the promotion progression stages of colon cancer .cancer Res.59:597-601

6-Kuo ML, huang TS and Lin JK (1996) curcumin, antioxidant and antitumor promoter, inducedes apoptosis in human leukemia cell.Biochim biophs acta 1317; 95-100.

7-Ammon HP and Wahi MA (1991) pharmacology of curcuma longa .planta Med 57:1-7.

8-Atlas R.M (1995) "principles of microbiology"1sted. Mosby-year book, USA.

ISSN-1994-697X

ISSN-1994-697X