تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلص الخام ومستخلصات الفلافونويدات من الطحلب البحري

الأخضر Ulva Lactuca ضد بكتيريا Staphylococcus aureus وEscherichia coli

عبدالحميد عبدالصمد الشبلي

قسم علم الحيوان – كلية العلوم - جامعة الزنتان - ليبيا

Abdulhamed.elshebli@gmail.com

abdulhamed.elshebli@uoz.edu.ly

https://orcid.org/0009-0008-7507-7121

تاريخ الارسال 2026/8/21 تاريخ القبول 2026/9/1

المستخلص:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من المستخلص الخام و الفلافونويدي لطحلب الأخضر البحري (Linnaeus) *Ulvalactuca* المجمع من منطقة تاجوراء شرق طرابلس في الفترة مابين (يناير – فبراير 2024).

بعد إجراء المسح الكيميائي للمكونات الفعالة الموجودة بالمستخلص الكحولي للطحلب قيد الدراسة تمت عملية الاستخلاص بواسطة جهاز الميكروويف لمركبات الفلافونويد من الطحلب المختار و اختبار المستخلص الكحولي والفلافونويدي ضد البكتيريا المسببة للتسمم الغذائي وهي بكتيريا *Staphylococcus aureus* وبكتيريا *Escherichia coli*.

تميز الطحلب قيد الدراســـة بغناه بمركبات القلويدات ونســـب اقل من الفلافونيدات وتم تقدير مدى فاعلية المستخلص الكحولي والفلافونويدي لطحلب المدروس ضـــد نمو البكتيريا المختبرة ، وقد أظهرت النتائج أن المســـتخلص الفلافونويدي أظهر نشـــاطا ضـــد البكتيريا المختبرة أعلى من المســـتخلص

الكحولي الخام حيث يتراوح متوسط قطر منطقة التثبيط لنمو البكتيريا من (18.5-25 ملم), بينما أظهر المستخلص الكحولي الخام تأثيرا ضد سلالتي البكتيريا المختبرة بمناطق تثبيط تتراوح من (10.5-16.5 ملم). وبينت النتائج المتحصل عليها إن المستخلص الكحولي والفلافونويدي لطحلب المدروس له تأثير مضاد للبكتيريا، وهذا يلقي الضوء على إن لمستخلصات الطحالب قدرة على تثبيط البكتيريا الممرضة من ما يمكن اعتبارها بديلاً لبعض المضادات الحيوية شائعة الاستعمال

الكلمات الأفتتاحية: الطحلب البحري Ulva lactuca الاستخلاص . التسمم الغذائي . النشاط المضاد للبكتيريا، المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus)، الإشريكية القولونية .(Escherichia coli)

Assessment of the Anti-Bacterial Activity of Crude and Flavonoid Extracts of the Marine Green Alga *Ulva Lactuca* against *Staphylococcus aureus, Escherichia Coli*

Abstract

This study aimed to evaluate the antibacterial activity of the crude extract and flavonoid fraction of the marine green alga *Ulva lactuca* Linnaeus, collected from the Tajoura region east of Tripoli during the period (January–February 2024).

Following a chemical screening of the active constituents present in the alcoholic extract of the studied alga, flavonoid compounds were extracted from the selected alga using a microwave-assisted extraction system. The alcoholic crude extract and the flavonoid fraction were tested against foodborne pathogenic bacteria, namely *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

The studied alga was characterized by the presence of alkaloid compounds and lower proportions of flavonoids. The efficacy of the crude alcoholic extract and the flavonoid fraction against the growth of the tested bacteria was evaluated. The results showed that the flavonoid fraction exhibited higher antibacterial activity against the tested strains compared to the crude alcoholic extract, with mean inhibition zone diameters ranging from (18.5–25 mm),

while the crude alcoholic extract showed inhi.bitory effects against both bacterial strains with zones ranging from (10.5–16.5 mm).

The obtained findings indicate that both the alcoholic and flavonoid extracts of the studied alga possess showed antibacterial activity. This highlights the potential of seaweed extracts to inhibit pathogenic bacteria, which could be considered an alternative to some commonly used antibiotics.

Keywords: Marine alga *Ulva Lactuca*, extraction, food poisoning, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus, Escherichia Coli.*

1- المقدمة

خلق الله سـبحانه وتعالى البحار والمحيطات والأنهار حيث يغطي الماء حوالي 73% من سـطح الكرة الأرضـية ,وجعلها مصـدر لكثير من الكنوز والفوائد .فالبيئة المائية تحتوي على أنماط حياة متنوعة يسـتمد منها الإنسـان العديد من العناصر الداعمة للحياة, ومازال العلم الحديث يكتشف فوائد وأسرار هذا العالم وتعتبر الطحالب أحد أسراره الذي يجب أن يستفاد منها.

فالطحالب كائنات ثالوسية أي غير متميزة إلى جذور وسيقان وأوراق حقيقية كما تحتوي الطحالب على صبغة اليخضور التي تكسبها اللون الأخضر كصبغة أساسية للقيام بعملية البناء الضوئي بالإضافة إلى أصباغ أخرى ولذلك تعتبر الطحالب ذاتية التغذية الضوئية.

وهناك ما يقارب 22.000 نوع من الطحالب معظمها حقيقية النواة ماعدا الطحالب الخضراء المزرقة Cyanobacteria فهي بدائية النواة (Bold &wynne,1985), ويتجدد نمو الطحالب كل عام فتظهر براعمها أثناء الخريف والشتاء ويكتمل نموها في الفترة الممتدة من شهر فبراير إلى شهر مايو من كل عام ,فهي متنوعة بفضل تعدد أنواعها لهذا فإن جمعها للاستفادة منها لا يخل بالتوازن البيولوجي الطبيعي بالمياه.

تنتشر الطحالب في عدة بيئات مختلفة, فقد تتواجد في المياه المالحة والمياه العذبة والتربة وفي الأماكن الرطبة, وتكون طافية أو ثابتة أو عالقة على غيرها من الطحالب الأخرى أو الصخور أو الحيوانات البحرية .وتستطيع الطحالب العيش في مدى واسع من درجات الحرارة والملوحة وفي أعماق مختلفة

تصل إلى مئات الأمتار (Bold & wynne,1985). وتعتبر الطحالب هي القاعدة الأساسية في السلسلة الغذائية للأحياء البحرية والعمل على حفظ التوازن بين الكائنات الحية النباتية والحيوانية في البيئة المائية وذلك نتيجة ما ينتج عن عملية البناء الضوئي من امتصاص ثاني أكسيد الكربون وإنتاج الأكسجين.

لا تزال خصائص الكثير من الطحالب غير معروفة للإنسان إذ أنه لم يستخدم إلا القليل منها. ومما لا شك فيه أن دراسة خواص الطحالب هو غاية من الأهمية إذ أنها مرتبطة بحياة الإنسان من حيث الغذاء والدواء حيث تستخدم أنواع كثيرة من الطحالب كغذاء للإنسان وخاصة في الدول الآسيوية, كما تعتبر مصدر غذاء لكثير من الحيوانات المائية وكأعلاف للماشية والدواجن نظرا لاحتوائها على 7- 11% دهون و 12- 16% كربوهيدرات و 50-55% بروتينات ونسبة عالية من الفيتامينات والسكريات والأملاح المعدنية (Lee *et al.*,2003) أيضا تستخدم الطحالب في العديد من الصناعات مثل الآجار الذي يستخدم في الأوساط الغذائية الميكروبية, وكذلك صناعة مساحيق التجميل ومعاجين الأسنان والمواد الغروية وغيرها. وللطحالب أهمية طبية من حيث قدرتها على إنتاج مواد فعالة تعمل كمضادات حيوية ذات تأثير قاتل أو مثبط لنمو بعض الكائنات الدقيقة ولها أهمية من حيث تنافس الطحالب على النمو مع غيرها من الكائنات Lustigman (,1988).

لقد استخدمت بعض الطحالب منذ القدم في الطب الشعبي وعلاج بعض الأمراض, ويعتبر الصينيون واليابانيون أول من أستخدمها في علاج مرض تضخم الغدة الدرقية وأستخدمها الرومان في علاج الجروح والحروق. والطفح الجلدي, وأستعمل الإنجليز طحلب *Palmaria Palmata* لمنع حدوث مرض الإسقربوط

(Abou Elalla &Shalaby, 2009).

أهداف الدراسة

1) الكشف عن المواد الفعالة لطحلب الأخضر *Ulva lactuca*

2) معرفة مدى تأثير المستخلص الخام والفلافونويدي ضد البكتيريا *Escherichia Coli, Staphylococcus aureus.*

الدراسات السابقة

لقد أثبتت العديد من الدراسات أن الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية له خطورة على صحة الإنسان, حيث تعتبر بمثابة سموم تتراكم في أعضاء جسم الإنسان ومن تم تسبب له أضرار قد تؤدي إلى الموت ,لذلك كان البحث المتواصل من قبل الباحثين لإيجاد وسائل بديلة ذات فعالية أكبر وأكثر أمنا على صحة الإنسان ,لذلك تم اللجوء إلى النباتات نظرا لاحتوائها على مواد تحميها من الإصابات البكتيرية والفطرية والفيروسية وتعمل على تثبيط نموها ,ومن هنا نشأت فكرة استخدام مستخلصات النباتات كبديل للمضادات الحيوية, ومن البدائل التي تم اللجوء إليها الطحالب نظرا لانتشارها في مختلف البيئات المائية في العالم (الفقيه, 2008).

لقد تطورت الأبحاث والدراسات على مركبات الأيض التي تؤثر على نمو ونشاط البكتيريا و أجريت العديد من الأبحاث المعملية لمعرفة التأثيرات القاتلة للبكتيريا (Bactericidal effect) والتأثيرات المثبطة لنمو البكتيريا (Bacteristatic effect) بواسطة المستخلصات الطحلبية (klosa,1949) .

ففي دراسة على فعالية مستخلصات بعض أنواع الطحالب من رتبة ulvales التي تم تجميعها من الشواطئ الليبية ضد نمو تسعة أنواع من البكتيريا الممرضة وقدرتها على إفراز مواد تعمل كمثبطات لنمو ونشاط البكتيريا, قد أظهرت النتائج أن لمستخلص الطحالب الإيثانولي تأثير ملحوظ على نشاط البكتيريا المدروسة (طوقان 2002).

واجريت دراسة أخرى قام بها(Chihap وأخرون 2009) بدراسة نشاط مضادات البكتيريا التي استخلصت بواسطة الميثانول من 32 نوع من الطحالب الكبيرة (الخضراء والبنية) المجمعة من ساحل البحر الأبيض والمحيط

الأطلسي(المغرب) ضد خمسة أنواع من البكتيريا المسببة للإمراض وبينت النتائج أن أغلب مستخلصات الطحالب أظهرت نشاطا تثبيطيا ضد نمو بكتيريا *Staphylococcus aureus*.

إن ليبيا ذات الموقع الجغرافي الإستراتيجي المميز والتي تمتلك شريطا ساحليا يبلغ طوله 1950 كيلو مترا والذي يطل على البحر الأبيض المتوسط ,تمتلك شاطئا ذو تنوع حيوي وتكون الطحالب البحرية جزءا هاما من هذا التنوع وتعتبر أحد هذه الثروات والتي كانت لابد من اكتشافها ودراستها ومعرفة أهميتها الاقتصادية والطبية والبيئية والاستفادة منها في دعم اقتصاد البلاد ,ويبلغ عدد أنواع الطحالب البحرية في ليبيا حوالي 178نوعا (Nizamuddin *et al*.,1979) ولهذا يرى إمكانية الاستفادة من منتجات الطحالب كمواد مضادة بكتيرية.

2- المواد وطرق العمل

تم إجراء التجارب في معمل الكيمياء – كلية العلوم - جامعة الزنتان, معمل الأحياء الدقيقة – كلية العلوم – جامعة الزنتان في الفترة ما بين (يناير – يونيو 2024).

1.2.الأدوات والمواد والأجهزة المستخدمة في الدراسة

1.1.2. الأدوات المستخدمة

أحواض غسيل - ملاقط تنظيف - كؤوس زجاجية - دوارق زجاجية مخروطية - مخابير زجاجية - أنابيب اختبار- أنابيب زجاجية ذات أغطية محكمة - أقماع فصل زجاجية - قضيب زجاجي للتحريك - جفنة - حامل معدني - أوراق ترشيح - ماصة - ماصة دقيقة (micropipette) - أطباق بتري - إبر تلقيح (loop) – الماسحة (swab) - قطن - موقد بنزن- ثاقب فلين.

2.1.2. المواد الكيميائية المستخدمة

مذيبات عضوية (ميثانول، إيثانول، كلوروفورم، خلات الايثيل) - نيتريت الصوديوم - كلوريد الألومنيوم – كلوريد الصوديوم - حمض الكبريتيك-

هيدروكســـيد الصـــوديوم - حمض الجاليك – خلات الانهيدريد - Mayers Reagent.

3.1.2. الأوساط الغذائية المستخدمة لنمو البكتيريا

Mueller hinton agar - Nutrient broth

4.1.2. الأجهزة المستخدمة

مطحنة كهربائية – حضـانة – جهاز التعقيم تحت الضـغط – ميزان حسـاس – فرن الميكروويف – مجهر ضوئي – ثلاجة لحفظ العينات .

2.2. تصنيف الطحلب المستخدم في الدراسة

تم اختيـار طحلب *Ulva lactuca* وهو من الطحـالب البحريـة الخضـــراء الكبيرة (Chlorophyta)



شكل(1) *Ulva lactuca*

Classification

Kingdom: Plantae

Phylum: Chlorophyta

Class: Ulvophyceae

Order: Ulvales

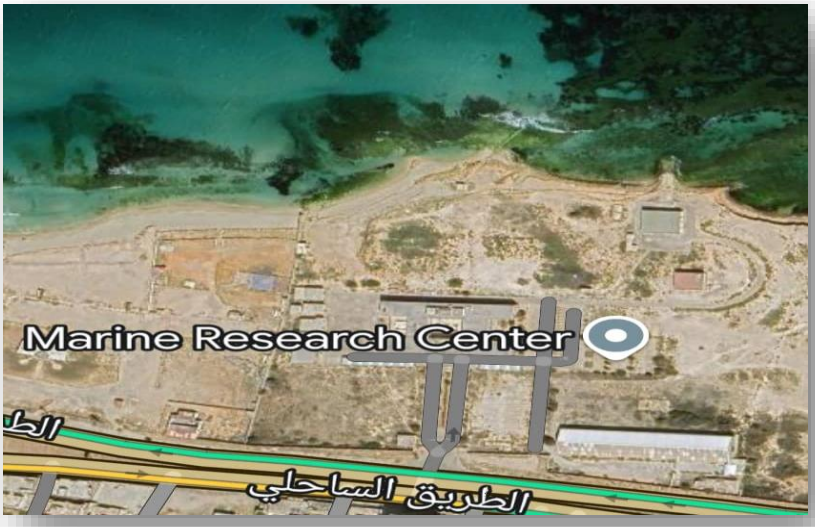
Family: Ulvaceae

Genus: *Ulva*

Specis: *lactuca*

1.2.2. وصف مكان تجميع عينة الطحلب

جمعت عينات الطحلب *Ulva lactuca* من منطقة المد والجزر من شاطئ تاجوراء بالمنطقة المقابلة لمركز بحوث الأحياء البحرية كما بالشكل (7) حيث تم جمع العينات الملتصقة بالصخور والموجودة في الأحواض الصخرية المقفلة التي تصل إليها مياه الأمواج.



شكل (2) يوضح الموقع الذي جمع منه طحلب *Ulva lactuca*

2.2.2. تجميع وتجهيز الطحلب

بعد جمع عينات الطحلب من الموقع سالف الذكر تم غسلها وتنظيفها بإزالة الرمل والكائنات العالقة بها من صخور وقواقع صغيرة وطحالب أخرى عالقة عليها. وبعد التخلص من الماء الزائد تم تجفيف العينات على أوراق ترشيح كبيرة الحجم في درجة حرارة الغرفة بعيدا عن أشعة الشمس المباشر لمدة تتراوح بين 5 إلى 7 أيام ثم بعد التأكد من خلو العينات من الرطوبة وإي شوائب عالقة بها طحنت بمطحنة كهربائية إلى أن أصبحت مسحوق ناعم لتسهيل عملية الوزن والاستخلاص والاحتفاظ بالمسحوق في أوعية زجاجية معقمة ذات أغطية محكمة.

3.2. البكتيريا المستخدمة في الدراسة

في هذه الدراسة أستخدم نوعين من البكتيريا وهي

1- ***Esherichia Coli*** تم توفيرها العزلة البكتيرية من معمل (الإتقان بالرياينة) وهي بكتيريا سالبة لصبغة جرام عصوية الشكل تتواجد في الأمعاء كبكتيريا طبيعية (Normal flora) ولكن عند وصولها للجهاز البولي تسبب التهابات للجهاز البولي, وقد تسبب بعض السلالات منها التهابات الأمعاء وحالات التسمم .

2- ***Staphylococcus aureus*** وتم توفير هذه العزلة البكتيرية من معمل الأحياء الدقيقة بكلية العلوم بالزنتان. وهي بكتيريا موجبة لصبغة جرام كروية الشكل غير متحركة توجد في هيئة عنقودية, تتواجد في الجزء العلوي من الأنف وفي الفم وعلى الجلد وتسبب الالتهابات الجلدية وكذلك التهاب الحنجرة والتسمم الغذائي.

4-2 . الكشوفات النوعية (Phytochemical screening)

أُجريت الاختبارات الأولية للتعرف على نواتج الأيض الثانوي في المستخلص الطحلبي الخام حيث تم الكشف عن خمسة مركبات فعالة وهي Alkaloids و Flavonoids و Tannins و وSaponins و Coumarins , والتأكد من وجودها في الطحلب الذي تم دراسته، وذلك باستخدام محاليل كاشفة أو أدلة محضرة لعمليات الكشف عن وجود المركبات النشطة حيويا الناتجة من

عملية الأيض الثانوي وذلك وفقا للاختبارات التالية (Abulude *et al.*, 2007) .

1.4.2.الكشف عن القلويدات (Alkaloids)

حضر مستخلص كحولي بوزن (2.5جم) من مسحوق عينة الطحلب وأضيف إليها (25مل) من الميثانول ثم رشح المستخلص وبخر حتى يقترب من الجفاف ثم يضاف له (5مل) من حمض الهيدروكلوريك HCl تركيز (2N) ووضع على حمام مائي في درجة الغليان لمدة 5 دقائق بعد التبريد رشح الخليط وعولج بقطرات من الدليل (Mayers Reagent).

القلويدات تعطي محلول معكر أو راسبا مع الكاشف .

تحضير كاشف Mayers

محلول1: (1.358جم) من $HgCl_2$ في (60 مل) من الماء المقطر.

محلول2: (5 جم) من يوديد البوتاسيوم KI في (10 مل) من الماء المقطر.ويتكون الدليل عن طريق خلط المحلولين ، ويكمل الحجم الكلي بواسطة الماء المقطر إلى (100 مل) .

2.4.2. الكشف عن الفلافونويدات: (Flavonoids)

تم وزن (1 جم) من مسحوق العينة وأضيف إليه (10 مل) من الميثانول وسخن على حمام مائي في درجة الغليان لمدة 5 دقائق ورشح المستخلص الكحولي في أنبوبة اختبار ثم أخذ (5 مل) من الرشيح و أضيف إليه قطرات من HCl المركز وقطع ماغنيسيوم (0.5 جم) عند تكون لون أحمر وردي خلال 3 دقائق تعتبر نتيجة إيجابية، أو يضاف إلى الرشيح قطرات من $FeCl_2$ حيث يتكون لون أخضر مزرق أو أخضر غامق .

3.4.2. الكشف عن التانينات: (Tannins)

حضر المستخلص الكحولي بوزن (1 جم) من مسحوق العينة في (10 مل) ميثانول، بعد الترشيح رُكز في جهاز التبخير والمتبقي عولج بواسطة (10 مل) من محلول (0.9%) NaCl الساخن وبعد ذلك قسم إلى جزئين :

الجزء الأول أضيف إليه (1%) جيلاتين يتكون راسب جيلاتيني في أنبوبة الاختبار ويبقى المحلول الرائق لأعلى .

الجزء الثاني أضيف إليه محلول $FeCl_3$ يظهر لون أزرق- أزرق مسود- أخضر- أزرق مخضر أو راسب مركبات فينولية في الأنبوبة .

4.4.2. الكشف عن الصابونين: (Saponin)

حضر المستخلص بوزن (2.5 جم) من مسحوق العينة وتم استخلاصه بالماء المغلي في أنبوبة اختبار بعد التبريد رشح المستخلص ورج بقوة حتى تكونت رغوة وتركت لمدة 15- 30 دقيقة، تم التعرف على التفاعل الإيجابي كالتالي:

- عدم ظهور رغوة (-) .
- ظهور رغوة ذات ارتفاع (1 سم) تعني اختبار موجب (+) .
- ظهور رغوة ذات ارتفاع ما بين (1 - 2 سم) تعني اختبار أكثر إيجابية (++) .
- ظهور رغوة ذات ارتفاع أكثر من (2 سم) تعني أن التفاعل إيجابي بصورة كبيرة (+++) .

5.4.2. الكشف عن الكومارينات: (Coumarins)

تم وزن (1 جم) من مسحوق العينة ووضعت في أنبوبة زجاجية، وبللت ببضع قطرات من الماء المقطر، حددت دائرة على ورقة ترشيح بالقلم الرصاص وبللت الدائرة بواسطة KOH تركيزه (2N) وتركت قليلا لتجف، ووضعت ورقة الترشيح على أنبوبة الاختبار في حمام مائي يغلي لمدة نصف ساعة وتزال الورقة ويكشف عليها بواسطة الأشعة فوق البنفسجية (UV Light) ، ويتم التعرف على وجود الكومارين بظهور لون أصفر فلورسيني (Yellow Florescent).

5.2. تحضير المستخلص الكحولي الخام: (Methanol extract)

حُضر المستخلص الخام بوزن 5جم من مسحوق العينة الطحلبية وأضيف إليه 50مل من الميثانول (100%) أي بنسبة (10:1) وتركت لمدة 24 ساعة في

درجة حرارة الغرفة (25±2°م). بعد ذلك رشح المستخلص باستعمال ورق ترشيح معقم (Whatman No.1) ومن تم ترك في درجة حرارة الغرفة حيث تم التخلص من معظم المذيب, بعد ذلك تم تجميع المستخلص بعد وزنه ثم حفظ في أنابيب زجاجية ذات أغطية محكمة عند درجة حرارة (4°م) تقريباً إلى حين الاستعمال كما موضح في الشكل (8).

كما تم حساب إنتاجية الاستخلاص وذلك حسب المعادلة التالية:

النسبة المئوية للإنتاجية = الوزن المتبقي بعد التبخير/ الوزن الجاف عند البداية × 100



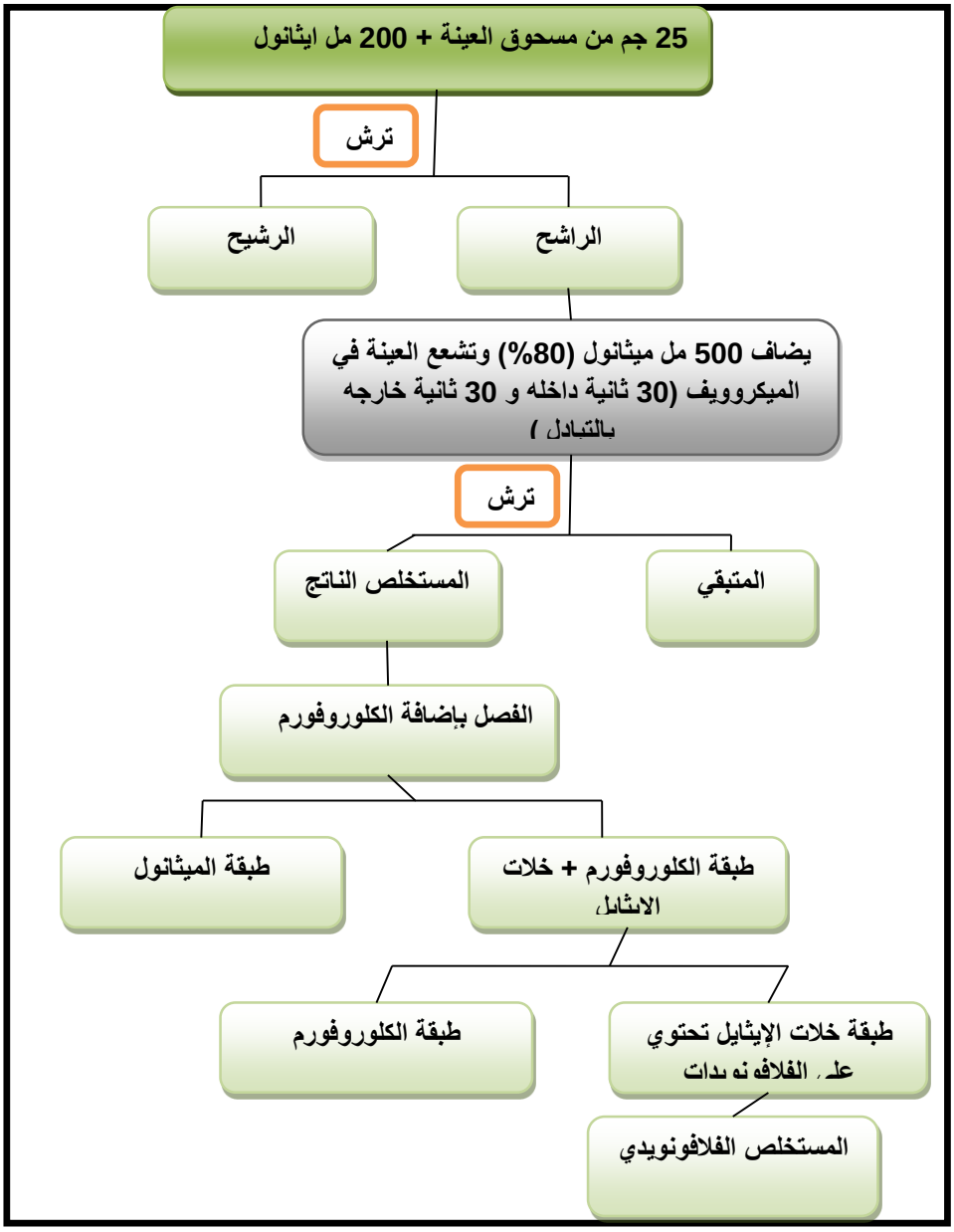
شكل (3) خطوات تحضير المستخلص الخام

6.2. استخلاص الفلافونيدات

تم استخلاص الفلافونيدات للطحلب المدروس باعتماد طريقة الاستخلاص بالميكروويف (Quan *et al* ., Microwave – assisted extraction 2006) بإتباع الخطوات التالية:

تم وزن (25جم) من مسحوق عينة الطحلب البحري موضوع الدراسة وغسلت (200 مل) من مذيب الايثانول أو الايثرالبترولي المخفف أكثر من مرة , ورشحت العينة بورق ترشيح معقم (Whatman No.1), وأضيف للراشح (500مل) من الكحول الميثيلي (80%) وتم تشعيع العينة وذلك بوضعها في فرن الميكروويف بحيث لا تزيد درجة حرارة المستخلص عن (80° م) وبفترة تشعيع بفرن الميكروويف تتراوح بين 8- 10 دقائق وذلك (30 ثانية داخل فرن الميكروويف و30 ثانية خارج الفرن) تم ترشيح العينة بورق ترشيح معقم (Whatman No.1) وجمع الرشيح وقيس حجمه ثم أضيف إليه حجم من الكلوروفورم مساوي لحجمه . وتمت عملية الفصل بواسطة قمع الفصل وتجميع طبقة الكلوروفورم وأضيف إليها حجم مساوي من خلات الايثايل وتم إعادة عملية الفصل باستخدام قمع الفصل وتجمع طبقة خلات الايثايل التي تحتوي على الفلافونويدات, وتم التخلص من المذيب في درجة حرارة الغرفة ومن تم الاحتفاظ بالمستخلص في درجة حرارة (4° م) ويبين الشكل (9) مخطط خطوات استخلاص الفلافونيدات بطريقة الميكروويف, ويتم حساب النسبة المئوية للإنتاجية لمستخلص الفلافونويدي من المعادلة التالية

$$\text{النسبة المئوية للإنتاجية} = \frac{\text{الوزن المتبقي}}{\text{الوزن عند البداية}} \times 100$$



شكل (4) مخطط خطوات استخلاص الفلافونيدات بطريقة الميكروويف

7.2. اختبار النشاط البيولوجي للمستخلص الخام والفلافونويدي للطحلب المدروس

اختبرت الفعالية التثبيطية للمستخلص الخام والفلافونويدي لطحلب البحري في تثبيط النمو البكتيري لأنواع البكتيريا المختبرة وذلك بإتباع طريقة الانتشار في حفر الأجار (well agar diffusion) (Manilal *et al* ., 2009) وتتضمن هذه الطريقة تحضير الوسط الغذائي السائل (Nutrient broth) والوسط الغذائي الصلب (Mueller hinton agar).

وتم إتباع الخطوات التالية:

1. يحضر الوسط الغذائي السائل Nutrient broth ويعقم بواسطة جهاز (Autoclave) ومن تم يلقح بسلالات البكتيريا المعزولة الموجبة والسالبة الجرام بواسطة إبرة تلقيح (loop) ثم تحضن في درجة حرارة (37° م) لمدة (18 - 24 ساعة) للحصول علي مزارع بكتيرية نقية.

2. يضاف باستعمال ماصة دقيقة معقمة (200 ميكروليتر) من المعلق البكتيري النقي سابق التحضير إلى (250 مل) من الوسط الغذائي الصلب (Mueller hinton agar) ويتم خلطه جيدا تم يصب في أطباق بتري وبعد أن يتصلب يتم عمل حفر بقطر (8 ملم) بواسطة ثاقب الفلين.

3. يضاف بواسطة ماصة معقمة (150 ميكرولتر) من المستخلص الخام لطحلب المدروس للحفر لكل طبق و للمقارنة عملت حفرة وأُضيف إليها الميثانول, ومثل ذلك للمستخلص الفلافونويدي.

4 . تم وضع أقراص من المضادات الحيوية المتنوعة مثل Bacitracin و Amoxycillinعلى السطح الغذائي الملقح بالبكتيريا لمقارنة النتائج وتترك الأطباق فترة لضمان انتشار المستخلص في الوسط الغذائي الصلب.

بعد ذلك تنقل الأطباق إلى الحضانة في درجة حرارة (37° م) لمدة (18 ساعة) بعد ذلك تحدد فعالية المستخلص الخام والفلافونويدي للطحلب بقياس قطر منطقة التثبيط (inhibiton zone) وهي المنطقة الخالية من النمو البكتيري.

3 النتائج والمناقشة

1.3.المسح المبدئي للمركبات الفعالة للمستخلص الخام لطحلب *Ulva lactuca*

بينت نتائج الدراسة في الجدول (1) وجود بعض المجموعات الفعالة لطحلب الاخضر *Ulva lactuca* حيث تبين أحتواء المستخلص الخام على نسب غنية من مركبات القلويدات وعلى نسب متوسطة من مركبات الفلافونيدات و التانينات واحتوائه على نسبة فقيرة من مركبات الصابونينات والكومارينات وهذا يتفق مع نتائج الدراسة التي قام بها (Premahathe, 2011).

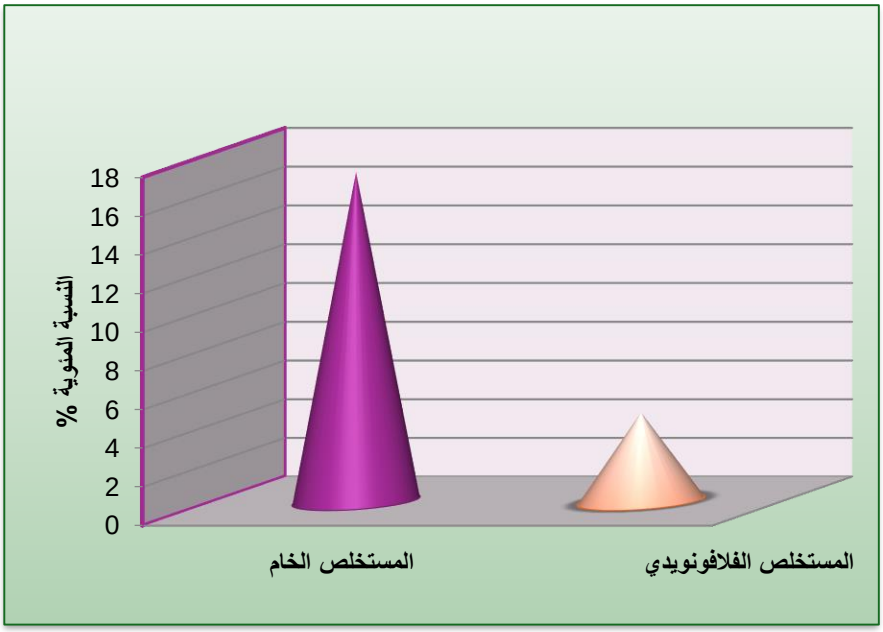
جدول (1) الكشف المبدئي عن المركبات الفعالة لمستخلص الخام لطحالب البحري *Ulva lactuca*

Phytochemical constituents	
Alkaloids	+++
Flavanoids	++
Tanins	++
Saponins	+
Coumarins	+

(+++) غني (++) متوسط (+) فقير

2.3. النسبة الإنتاجية للمستخلص الكحولي الخام والمستخلص الفلافونويدي

بعد تحضير المستخلص الكحولي الخام تم تقدير النسبة المئوية للإنتاجية للمستخلص الخام للطحلب قيد الدراسة والتي بلغت (17%). بينما كانت النسبة المئوية للإنتاجية للمستخلص الفلافونويدي (4.6 %)



شكل (5) يوضح النسبة المئوية للإنتاجية للمستخلص الخام و الفلافونويدي **لطحلب** *Ulva lactuca*

3.3. الفاعلية التثبيطية للمستخلص الخام لطحلب على نمو البكتيريا المختبرة

أجريت دراسة تأثير المستخلص الخام ضد سلالتين من البكتيريا باستعمال طريقة الانتشار في الحفر (well agar diffusion) لجودتها وسهولة إجرائها ووضوح نتائجها ، وحددت مدة قراءة النتائج بعد حوالي 24 ساعة عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط (inhibiton zone) كما هو موضح بالشكل (11) .



الشكل (6) يوضح الفاعلية التثبيطية للمستخلص اخام لطحلب *Ulva lactuca* على نمو البكتيريا المختبرة.

1.3.3. نتائج تأثير المستخلص الكحولي الخام لطحلب *Ulva lactuca* على نمو البكتيريا المختبرة

من خلال النتائج بالجدول (2) تبين وجود فروق معنوية في متوسط تثبيط نمو سلالات البكتيريا المختبرة موضوع الدراسة تحت تأثير نفس التركيز لمستخلص الطحلب الكحولي الخام وقد أظهرت نتائج الدراسة في الجدول (2) أن أعلى تأثير مثبط سجل ضد نمو البكتيريا *Staphylococcus aureus* حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط لنموها (16.5±0.5 ملم) وأقل تثبيط سجل ضد نمو السلالة *Escherichia Coli* حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط لنموها (10.5±0.5 ملم).

أن تـأثير مستخلص الطحلب الكحولي الخام على الأحيـاء المجهريـة يعـود إلى احتوائـه على أشباه القلـويدات، كما أن للتانينـات والمركبات الفينولية تأثير مضـاد لهـا (Cowan,1999)، إذ تعمل على تغيير طبيعة البروتين والإضرار بالغشاء الخلوي للبكتيريا من خلال ارتباطها بالمواقع الفعالة للإنزيمات الخلوية (Farage *et al.*, 1989). أما بالنسبة لسلالة البكتيريا *Escherichia Coli* السالبة لصبغة جرام فقد كانت أقل استجابة للمستخلص الكحولي بالمقارنة بالبكتيريا الموجبة الجرام ومن المعروف عن البكتيريا السالبة الجرام أنها أكثر مقاومة للمضادات الحيوية وهي تتميز بعملية التطفر والتغير

المستمر في تركيبها الجيني وبالتالي إنتاج سلالات مقاومة باستمرار والسبب الرئيسي في قلة الاستجابة من قبل البكتيريا هو عدم تغلغل المواد الفعالة من خلال جدار أو غشاء الخلية (Cheeshrough *et al*., 2000).

جدول (2) فاعلية المستخلص الكحولي الخام لطحلب *Ulva lactuca* ضد نمو سلالات البكتيريا المختبرة

عينة البكتيريا	قطر منطقة التثبيط (ملم)
Staphylococcus aureus	**0.5±16.5^{b}**
Escherichia Coli	**0.5±10.5^{c}**

أختلاف ألاحرف (c,b) يشير إلى فروقات معنوية بين المجموعات عند ($P<0.05$) .

4.3. نتائج تأثير المستخلص الفلافونويدي لطحلب *Ulva lactuca* على نمو البكتيريا االمختبرة.

من خلال النتائج تبين وجود فروق معنوية في متوسط تثبيط نمو سلالات البكتيريا المختبرة موضوع الدراسة تحت تأثير نفس التركيز لمستخلص الطحلب الفلافونويدي وقد أظهرت نتائج الدراسة في الجدول (3) أن أعلى تأثير مثبط سجل ضد نمو البكتيريا *Staphylococcus aureus* حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط لنموها (1±25 ملم) وأقل تثبيط سجل ضد نمو السلالة *Escherichia Coli* حيث بلغ متوسط قطر منطقة التثبيط لنموها (0.5±18.5 ملم) .

جدول (3) فاعلية المستخلص الفلافونويدي لطحلب *Ulva lactuca* ضد نمو سلالات البكتيريا المختبرة

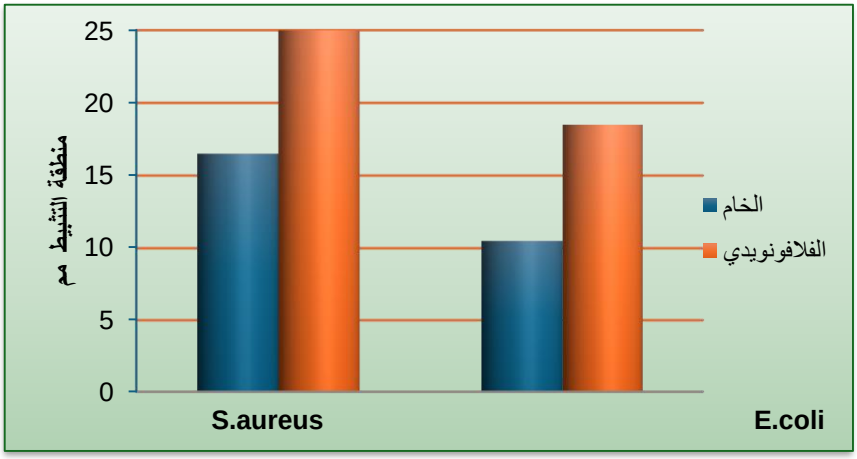
عينة البكتيريا	قطر منطقة التثبيط (ملم)
Staphylococcus aureus	**1±25^{a}**
Escherichia Coli	**0.5±18.5^{b}**

أختلاف ألاحرف (a,b) يشير إلى فروقات معنوية بين المجموعات عند ($P<0.05$) .

أن استجابة البكتيريا المختبرة السالبة والموجبة لصبغة جرام وتحسسها للمستخلص الفلافونويدي لطحلب يرجع للتفسير المحتمل لكفاءة الفلافونيدات في تثبيط نشاط ونمو الكائنات الدقيقة إذ ترتبط الفلافونيدات بالحامض النووي (DNA) للبكتيريا وبالتالي تمنع نمو الخلايا (Maer *et al.*, 1991).

5.3. العلاقة بين تركيز المستخلص الخام والمستخلص الفلافونويدي لطحلب المدروس وتأثيرها على نمو البكتيريا المختبرة

من خلال النتائج وكما موضح بالشكل (12) يتضح أن مستخلصي الطحلب الخام والفلافونويدي كان لهما تأثير تثبيطياً أعلى ضد نمو البكتيريا *Staphylococcus aureus* بالمقارنة مع البكتيريا *Escherichia Coli* , كما أوضحت هذه الدراسة أن المستخلص الفلافونويدي كان ذو تأثير تثبيطي أعلى بكثير من المستخلص الخام ضد البكتيريا المختبرة. ربما يرجع ذلك لتداخل المواد الفعالة في المستخلص الكحولي الخام.



الشكل (7) يوضح المقارنة بين تركيز المستخلص الخام والمستخلص الفلافونويدي لطحلب المدروس وتأثيرها على نمو البكتيريا المختبرة.

4.الاستنتاجات والتوصيات

1.4. الاستنتاجات

من خلال النتائج التي استندت إليها الدراسة على مستخلص الطحلب المدروس فإنه تم استنتاج الآتي:

1. مستخلص الطحلب المدروس غني بالمواد الفعالة والنشطة بيولوجيا.

2. مستخلص الطحلب الخام والفلافونويدي له تأثيرا تثبيطيا واضحا ضد نمو البكتيريا التي تم اختبارها في هذه الدراسة.

3. المستخلص الخام والفلافونويدي له تأثير مضادا لسلالات البكتيريا المختبرة أعلى من بعض المضادات الحيوية المصنعة.

4. إن لمستخلص الطحلب المدروس نتائج واعدة تكون بمثابة علاجات ناجحة في المستقبل على بعض الكائنات الدقيقة المقاومة للمضادات الحيوية خاصة إذا ما تم التركيز على معرفة تركيز المواد الفعالة واستخلاصها.

2.4. التوصيات

1. ضرورة وضع خارطة لحصر وتعريف وتوزيع أنواع الطحالب على طول الساحل الليبي.

2. المحافظة على الشواطئ من التلوث بعدم رمي المخلفات فيها للحفاظ على الثروات الطبيعية التي وهبها الله لنا.

3. الاستفادة من الطحالب البحرية الكبيرة الموجودة في ليبيا وإقامة المختبرات والمصانع لاستخلاص المواد الفعالة منها واستعمالها في العلاج أو تصديرها إلى الدول المصنعة لدفع عجلة الاقتصاد.

5. المراجع

1.5. المراجع العربية

الفقيه، عصام أحمد . (2008). فعالية المواد المستخلصة من الطحالب البحرية الكبيرة في ساحل مدينة بنغازي (جليانة واللثامة) على نمو البكتيريا. أطروحة

للحصول على الإجازة العالية (الماجستير). أكاديمية الدراسات العليا فرع بنغازي ، قسم علوم وهندسة البيئة : 1-92.

طوقان، أيمن.(2002). دراسة فاعلية مستخلصات بعض أنواع الطحالب الخضراء (رتبة Ulvales) ضد البكتيريا. أطروحة للحصول على الإجازة العالية (الماجستير). جامعة قاريونس، كلية العلوم، قسم علم النبات :1-82.

2.5.المراجع الأجنبية

Abou-Elalla, F.M. and Shalaby, E.A.(2009). Antioxidant activity of extract and semi-purified fraction of marine red macroalgae Gracilaria verrucosa . *Australian journal of basic and applied sciences*,3(4):3179-3185.

Abulude, F .O., Onibon, V.O. and Oluwatoba, F. (2007) . Nutrition and nutritional composition of some tree barks .*Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences*, 13:43-49

Bold,H. C.and wynn,M.J.(1985).Introduction to the algae . prenticehall Englewood ,cliffs,New jersey.720 Pp

Cheesbrough, M.(2000). Dstrict laboratory practice in tropical countries

Cambridge university press: 1-16.

Chiheb, I., Riadi , H., Martinez-Lopez, J., Dominguez, S.,Gomez , V.J., Bouziane , H. and Kadiri , M. (2009). Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology*, 8:1258-1262 .

Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M. & El-Baroty, G. S. A. (1989). Antibacterial activity of some Egyptian spices essential oils. *Journal of Food Protection*, 52: 665-667.

Klosa, J. (1949). Ein neues antibiotikium aus grnualgen . *Z. F. Naturf,* 4b:187.

Lee, S. Y. m.,Song , E. J., Kim, K. B. W. R., Hong , Y. K., Ahn, D. H. (2003) . Antimicrobial activity of ethanol extract with Ecklonia cava . *phytochem* , 62:1221-1224.

Lustigman, B. (1988). Comparison of antibiotic production from four ecotypes of the marine alga, Dunaliella. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 40, 18-22.

Maer, W., Tan, G. T., Gordell, G. A. and Pezzuo, J. M.(1991). Biological activity of novel microcyclic alkaloid from Albizi amara detected on the basis of interaction with DNA. J. Nat. Prod, 54:1531-1542.

Manilal, A., Sujith, S., Selvin, J., Shakir, C., seghal Kiran, G. (2009). Antibacterial activity of *falkenbergia billebrandii* (Born)from the Indian coast against human pathogens . *ΦYTON ISSN* ,78:161-166.

Nizamuddin , M ; West , J.A ; Menez , E.G.(1979). A List of Marine Algae from Libya . Botanica Marina . Vol. XXII, pp. 465-476.

Premalatha, M. (2011). Phytochemical characterization and antimicrobial efficiency of seaweed samples *Ulva fasciata* and *Chaetomorpha antennina* International journal of pharma & Bio sciences, 2 (1):288-293.

Quan, P.T.,Hang, T. V., Ha, N .H.(2006). Microwave-assisted extraction of polyphenols from fresh tea shoot . *Sci. Technol. Dev* .9:69-75.

Waterman, P.G. & Gray, A.I. (1987). Chemical systematic natural product reports: 175-203 .