تأثير بعض المستخلصات العضوية لنبات الجرجير المزروع Eruca sativa على نمو بعض العزلات الجرثومية المسببة لإنتانات المسالك البولية

د.ندى محفوض (1) د. ثناء شريتح (2) عائشة المدني(٣)

الملخص

أجريت هذه الدراسة للكشف عن تأثير المستخلصات الايتانولية والمائية والهكسانية لأوراق نبات الجرجير المزروع (*Eruca sativa*) من الفصيلة الصليبية، على نمو بعض البكتريا الممرضة السالبة والموجبة لصبغة غرام كالزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* والإشريشيا القولونية *EScherichia.coli* و المكورات العنقودية الذهبية *staphylococcus aureus* المعزولة لدى المشفى الوطني في حماه والمسببة لإنتانات المسالك البولية عند التراكيز [6,25 – 200مغ/مل].

أبدت الخلاصة الإيتانولية والمائية فعالية جيدة ضد العزلات الجرثومية المدروسة جميعاً، وكانت المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* الأكثر حساسية حيث أبدت الخلاصة المائية فعالية واضحة ضدها وبجميع التراكيز المستخدمة وبأقطار تثبيط تتراوح مابين [12 –20مم] للمستخلص المائي و[١٣–21مم]للمستخلص الايتانولي.

بينما لم تبد الخلاصة الهكسانية أية فعالية ضد أي من الجراثيم المدروسة ؛باستثناء المكورات العنقودية الذهبية حيث استجابت فقط عند التركيز 200مغ/مل وبقطر تثبيط9 مم.

– **الكلمات المفتاحية :** المستخلصات ،البكتريا الممرضة، الجرجير المزروع *Eruca sativa*،أقطار تثبيط.

(1) أستاذ مساعد في ميكروبيولوجيا أحياء مجهرية– قسم علم الحياة – كلية العلوم –جامعة البعث.

(2) أستاذ مساعد في الكيمياء العضوية – قسم الكيمياء– كلية العلوم– جامعة البعث.

(٣) طالبة دراسات عليا– ماجستير قسم علم الحياة – جامعة البعث.

Effect of some organic extracts of the *Eruca sativa* on the growth of some bacterial isolates that cause urinary tract infections

Dr.Nada Mahfoud(1) - Dr.Thanann SHrieteh(2) - Aisha Almadani(3)

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of ethanol, aqueous and hexane extracts of *Eruca sativa* leaves from the Brassicaceae family, on the growth of some Gram-positive and negative pathogenic bacteria, such as *Pseudomonas aeruginosa , Escherichia Coli* and *Staphylococcus aureus* that Isolated from the National Hospital of Hama and causing urinary tract infections at concentrations [6.25-200 mg / ml].

The ethanol and aqueous extracts showed good efficacy towards all the studied bacterial isolates.

Staphylococcus aureus was the most sensitive, as the aqueous extract showed clear efficacy against it, at all used concentrations and with inhibition diameters ranging from [12-20mm] for aqueous extract and [13-21mm] for the ethanol extract ,whereas, the hexane extract showed no efficacy against any of the studied bacteria; except for *Staphylococcus aureus*, where it only responded at a concentration of 200 mg / ml and an inhibition diameter of 9 mm.

Key words: Extracts, pathogenic bacteria, Eruca sativa, Inhibition diameters.

(1) Associate prof - Dept. of Biology, Fac. of Science - AlBaath University

(2) Associate prof Dept. of chemistry, Fac. of Science - AlBaath University

(3) Master student - Dept. of Biology, Fac. of Science - AlBaath Universit

1- المقدمة:

تعد التهابات المسالك البولية (UTIs) من المشاكل الصحية الخطيرة والتي تؤثر على الملايين من الناس كل عام ،وتأتي في المرتبة الثانية من حيث أكثر أنواع العدوى شيوعا في الجسم[1] .

وهي من الأمراض المتطورة والتي تصيب أكثر من 250مليون شخص سنويًا[2]

ويعرف التهاب المسالك البولية بأنه الالتهاب البولي البكتيري Bacteriuria إذ تتكاثر البكتريا في الإدرار ويعد وجودها بما لا يقل عن10^5خلية بكتيرية لكل مليلتر واحد من الإدرار دليلاً على حدوث إصابة [3].

وتشمل إنتانات الجهاز البولي طيفاً واسعاً من الحالات السريرية تتراوح مابين بيلة جرثومية لاعرضية إلى إنتان حاد بالكلية مع تشكل خراجات[4]

وعلى الرغم من وجود العديد من المسببات للمرض إلا أن الجراثيم خاصة سلبية الغرام من المسببات الرئيسية لالتهاب المسالك البولية والتي تعود في الأصل إلى الأمعاء[4] ، تشكل الاشريكية القولونية حوالي 80% من مسببات العدوى[5]، ولكي تنجو هذه الجراثيم فقد طورت وسائل لمقاومة الصادات الحيوية، المقاومة هي آلية طبيعية للحفاظ على البقاء وهي ظاهرة قديمة لكن تطورت وأصبحت تشكل خطرا" كبيرا" على الإنسان [6].

و نظراً للمشاكل الناتجة عن استخدام الصادات الحيوية التقليدية ، ومالها من أعراض جانبية وأضرار على صحة الإنسان كالحساسية و التسمم و غيرها، اتجهت الأبحاث إلى المستخلصات النباتية وذلك لما لها من فوائد طبية ولسهولة الحصول عليها وقلة تكلفتها [7]

تعد الأعشاب الطبية من أقدم النباتات التي عرفها الإنسان واستخدمها في الغذاء وكذلك في علاج الكثير من الأمراض؛ نتيجة لوجود العديد من المواد الفعالة فيها، وقد انتشرت بشكل كبير في آواخر التسعينيات من القرن الماضي بما عرف بالطب البديل[8] ،كما بدأت الكثير من شركات الأدوية في محاولة إنتاج أنواع من المستخلصات القائمة على مجموعة من الأعشاب الطبية المدروسة دراسة علمية بجرعات علاجية و خالية من السمية [9] .

تحتوي النباتات على مركبات أساسية مثل الكربوهيدرات والبروتينات والأحماض الدهنية وعلى مركبات ثانوية فعالة كالفينولات والقلويدات والتربنتينات والفلافونيدات والغلوكوزيدات وتؤدي الأخيرة دوراً مهماً في الطب[10]

ونظراً لغنى نبات الجرجير المزروع بهذه المركبات فقد تم التوجه في هذا البحث إلى دراسة فعاليته الحيوية ضد بعض البكتريا الإمراضية.

يعد نبات الجرجير المزروع نبات عشبي حولي شتوي ينتمي للفصيلة الصليبية Brassicaceae, تنجح زراعته في المناطق المعتدلة على مدار السنة باستثناء الأشهر الحارة والباردة جدا"[11] ، وتعود أصول هذا النبات إلى بلدان البحر الأبيض المتوسط مثل سوريا و البرتغال وتركيا ولبنان والمغرب

[12] وينمو أيضًا في الشرق الأوسط وجنوب آسيا وجميع أنحاء العالم [13]

الشكل(1) يوضح المجموع الخضري لنبات الجرجير المزروع

تصنيف النبات: تم تصنيف النبات وفق [14] :

الجدول (1) : تصنيف نبات الجرجير المزروع

Kingdom	*Plantae*
Subkingdom	*Tracheobionta*
Superdivision	*Spermatophyta*
Division	*Magnoliophyta*
Order	*Brassilcales*

Family	*Brassicaceae*
Genus	*Eruca*
Species	*Eruca sativa*
Botanical name: Eruca sativa Mill	

يمكن أن يصل ارتفاعه حتى 1م ، الأوراق خضراء داكنة وطولها لايتجاوز 20 سم ،ريشية لها فص طرفي طويل مستطيل وفصوص جانبية ، وتكون إما ذات أسنان خشنة أو مفصصة[5].

وفصوص جانبية. تراوحت أزهارها من 2 إلى 4 سنتيمترات ، مرتبة مكونة من أربع بتلات بيضاء كريمية مع عروق أرجوانية ، الثمرة بشكل جراب طوله من (12–35مم) مع منقار قمي ، ويحتوي على العديد من البذور الصالحة للأكل[15] .

ويعد من الخضار الورقية الخضراء التي تكون أوراقها ، أزهارها وبذورها صالحة للأكل كما أنها مليئة العناصر الغذائية الحيوية التي يمكن أن تساعد على تعزيز الصحة دون إنفاق الكثير من المال[16]

حيث يعد مصدر جيد للفيتامينات مثل فيتامين c ، والكاروتينات ، والبوليفينول ، والتي تلعب دورًا مهمًا كمضادات أكسدة ومحاربة للسرطان كما تمتاز بغناها بالغلوكوزيدات ومركبات الكبريت الأخرى بالاضافة للنترات وأملاح Mg, Ca, Fe , K [13].

و استخدمه الرومانيون كمقو جنسي اذ يرفع من نسبة هرمون التستوستيرون ، ويستخدم كقابض، ملين،منبه، وفي علاج داء الاسقربوط وفي تحفيز الرغبة الجنسية[18] كما أنه مدر للبول [19] و له تأثير مضاد للجراثيم ، ومضاد لمرض السكر ، وخافض للضغط ، ومضاد للأكسدة ويحفز نمو الشعر وتأثيرات أخرى[20].

أفادت العديد من الدراسات العالمية بالفعالية الحيوية لأوراق نبات الجرجير المزروع، حيث درس salih وزملاؤه فعالية المستخلص المائي للجرجير؛ حيث أبدى المستخلص المائي فعاليته ضد كل من النوعين الجرثوميين الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية

المسببة لالتهاب المجاري التنفسية ، الفعالية الأكبر كانت ضد المكورات العنقودية الذهبية بقطر تثبيط 14,2مم والاشريكية القولونية بقطر 9مم[21]

وفي دراسة أخرى أجراها العبيدي كشفت فيها عملية المسح الكيميائي لكل من المستخلصات العضوية الهكسانية والمائية والكحولية احتواء المستخلص المائي على التانينات والصابونيات والفلافونويدات والغلوكوزيدات والفينولات والتريبينات والستيرولات والكومارين والفيوكومارينات ،أما بالنسبة للمستخلص الكحولي والهكساني فقد احتويا أيضا على هذه المركبات كافة عدا الصابونينات كما لم يحتو المستخلص الهكساني على الفينولات[22] وأبدت تلك المستخلصات فعالية ضد كل من المكورات العنقودية الذهبية و الإشريكية القولونية والزائفة الزنجارية، فكان المستخلص الكحولي كان أكثر فعالية من بقية المستخلصات بلغت القدرة التثبيطية 3,1 مغ/مل وبقطر هالة 15,5 مم للمكورات العنقودية الذهبية و 14,5 مم للإشريكية القولونية أما المستخلص الهكساني والمائي فقد تأثرت الإشريكية القولونية والزائفة الزنجارية وفقط عند التركيز 50مغ/ مل وبقطر هالة 15 و13مم على التوالي، في حين لم يبد المستخلصين الهكساني والمائي للأوراق أي تأثير يذكر ضد المكورات العنقودية الذهبية.

كما تمت من قبل الباحث Abdu وزملائه دراسة فعالية العديد من الخضراوات شائعة التناول على الموائد كالثوم والبص والفجل بالاضافة للجرجير وقياس القدرة التثبيطية لمستخصاتها الايتانولية، الايترية، وعصير الاوراق الطازج ضد *Escherichia coli, Pseudomonas pyocyaneus* ؛ فأبدت جميع الخضراوات فعالية حيوية واضحة وصل فيها قطر هالة التثبيط النمو في جنس *Allium sativum* حتى 56مم، فيما لم تبد أي من مستخلصات الجرجير أي فعالية باستثناء المستخلص الخام للأوراق الطازجة فقط أبدى فعاليته فقط ضد *Escherichia coli* وبقطر هالة تثبيط 17مم [23]

وأوضحت مجلة(JBES) التنوع البيولوجي والعلوم البيئية في أحد أبحاثها المتضمنة دراسة الفعالية الحيوية لكل من ساق واوراق الجرجير(المائية ،كلوروفورمية ،والخلاتية) وباستخدام تراكيز (0,5–2مغ/مل) ضد عزولات جرثومية مرضية مختلفة *Staphylococcus aureus*، و*Klebsiella pneumoniae*، *Pseudomonas*

Bacillus subtilis،*aeruginosa* تباين في الفعالية الحيوية حسب نوع المذيب المستخدم، إذ أبدت الخلاصة الكلوروفورمية أعلى فعالية من بقية المستخلصات بالنسبة لجميع العزولات المدروسة، وتزداد الفعالية الحيوية بزيادة التركيز حيت كانت أعلى استجابة عند تركيز 2مغ/مل [24]

وفي دراسة أخرى لم تظهر أية فعالية لكل من مستخلصي خلات الايتيل والمستخلص المائي ضد مجموعة بكتريا امراضية باستثناء الخلاصة المائية التي أبدت تأثيرها فقط ضد Staphylococcus aureus HAS1, E. coli HAS11 ،وأعزى الباحث السبب الى أن أغلب المواد الفعالة في النبات عبارة عن مواد قابلة للذوبان في الماء[25]

2- أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية البحث في دراسة الفعالية الحيوية لبعض المستخلصات الورقية لنبات الجرجير إزاء بعض الجراثيم الممرضة والمسببة لإنتانات المسالك البولية بهدف الاستفادة من المواد الاستقلابية للنبات بوصفها مواد فعالة حيويا"وبديلة للصادات الحيوية في معالجة الأمراض الانتانية لذا هدف البحث إلى:

1-عزل عينات جرثومية مرضية من الإدرار.

2- تشخيص العينات الجرثومية وفقا" للصفات الشكلية والمزرعية والاختبارات الكيموحيوية .

٣-دراسة تأثير بعض المستخلصات العضوية لأوراق نبات الجرجير في نمو بعض الجراثيم الممرضة المعزولة من الإدرار.

3- مواد البحث وطرائقه:

مكان الدراسة وزمانها: أنجز هذا البحث في مخبر الكيمياء الحديثة، بالإضافة لمخبر الدراسات العليا في قسم الجراثيم- كلية الطب البيطري- وفي المشفى الوطني في حماه خلال الفترة الممتدة مابين 1نيسان-5أيلول -2020م

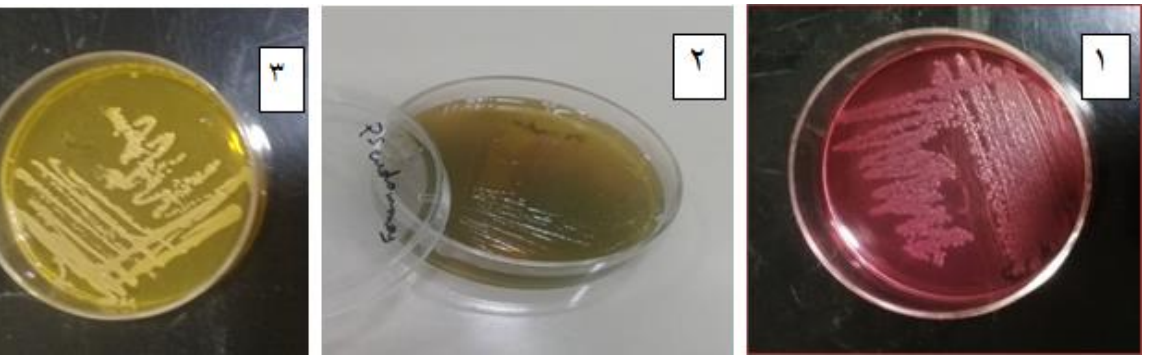
3-1-الزرع والتشخيص الجرثومي: وتم وفق المراحل الاتية:

1-جمع عينات البول: جمعت العينات من مرضى مراجعين لمخبر الزرع الجرثومي في المشفى الوطني في حماه؛ إذ تم أخذ عينات الادرار الوسطي الصباحي بواسطة عبوات بلاستيكية عقيمة، وحدد عدد الخلايا الجرثومية النامية الذي على أساسه تم التشخيص

بحدوث التهاب في المسالك البولية، اعتبر العدد 10^5 وحدة تكوين مستعمرة/مل أو ما يزيد المؤشر على حدوث الاصابة[26]

تم اختيار(3) عزلات جرثومية مقاومة لأكثر من صاد حيوي واحد للدراسة وهي : *Staphylococcus aureus , Escherichia coli ,Pseudomonas aeruginosa* الموضحة في الشكل (2)، وشخصت وفق المراجع [29], [28], [27] و المراحل الاتية:

المرحلة الاولى من التشخيص: تمت من خلال الزراعة على الاوساط الزرعية والانتقائية (الآغار الدموي ، وسط آغار ماكونكي) ونقلت بعدها الى وسط الآغار المغذي ووسط EMBوآغار المانتول المالح بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية حضنت عند الدرجة ٣٧مْ لمدة 24ساعة، ودرست صفاتها المزرعية .



1-الاشريكية القولونية على وسط ماكونكي **2-** الزائفة الزنجارية على وسط الآغار المغذي ٣-المكورات العنقودية الذهبية على وسط آغار المانتول المالح

الشكل(2)

- المرحلة الثانية: دراسة الخواص المجهرية Microscopical Tests: فحصت العزلات مجهريًا بعد صبغها بصبغة غرام، تحت العدسة الزيتية للمجهر الضوئي للتعرف على شكلها، ترتيبها وتفاعلها مع صبغة غرام.

– المرحلة الثالثة: إجراء الاختبارات الكيموحيوية وشملت على: اختبار الاندول، اختبار أحمر الميتيل، اختبار فوكس بروسكاور، اختبار سيموت سيترات، اختبار الكاتالاز، اختبار الأوكسيداز ،اختبار السكريات الثلاثية، وتحلل الدم بالنسبة للاشريكية القولونية والزائفة الزنجارية.

أما بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية فقد تم اجراء اختبار المخثراز Coagulase test، تخمير سكر المانتول، تحلل الدم، سيمون سيترات، السكريات الثلاثية، الأوكسيداز، الكاتالاز.

3-2-الجزء الكيميائي: ويتضمن المراحل الآتية:

– زراعة النبات: تمت زراعة النبات في احدى مزارع مدينة الرستن التابعة لريف حمص، وذلك بغية الحصول على منتج طازج ولتجنب فقد المركبات الفعالة الناجم عن طول فترة التخزين في الأسواق وتعرضها لأشعة الشمس أثناء عرضها من قبل البائع.

– جني الأوراق: تم جمع4كغ من الأوراق باليد عند اكتمال نضجها وقبل وصول النبات لمرحلة الإزهار تمت تنقيتها من الشوائب و الأوراق القديمة وحبيبات الطين العالقة والاوراق الذابلة، وغسلت الأوراق جيداً تحت تيار خفيف من ماء الصنبور تلاها الغسل بالماء المقطر [25]

– التجفيف والطحن: جففت الأوراق في الظل و لمدة أسبوعين مع وجود تيار هوائي متحرك وتقليبها بشكل مستمر بين فترة والأخرى وذلك لمنع نمو الفطريات عليها و تعفنها وإحداث تجفيف متجانس[25] وبعد الانتهاء من التجفيف طحنت الأوراق بواسطة خلاط كهربائي لتسهيل تخزينها ومن ثم تم تسجيل الوزن الناتج.

–التعبئة والتخزين: تم وزن الأوراق وبلغ الوزن الجاف(500غ) ومن تم وضعت في أكياس نايلون عاتمة و حفظت في درجة حرارة لا تتجاوز 10مْ وفي مكان جاف لحين الاستخلاص.

–عملية الاستخلاص: وضع في حوجلة سعة (1ليتر) مغلفة بغلاف عاتم ومزودة بهزازة كهربائية (E1هزة/د) 100غرام من مسحوق الأوراق النباتية وغمرت بـ500مل من ن. الهكسان95% ، وتم الاستخلاص ضمن درجة حرارة المختبر $25^{o}C$ لمدة 72ساعة (انظر الشكل(3)).

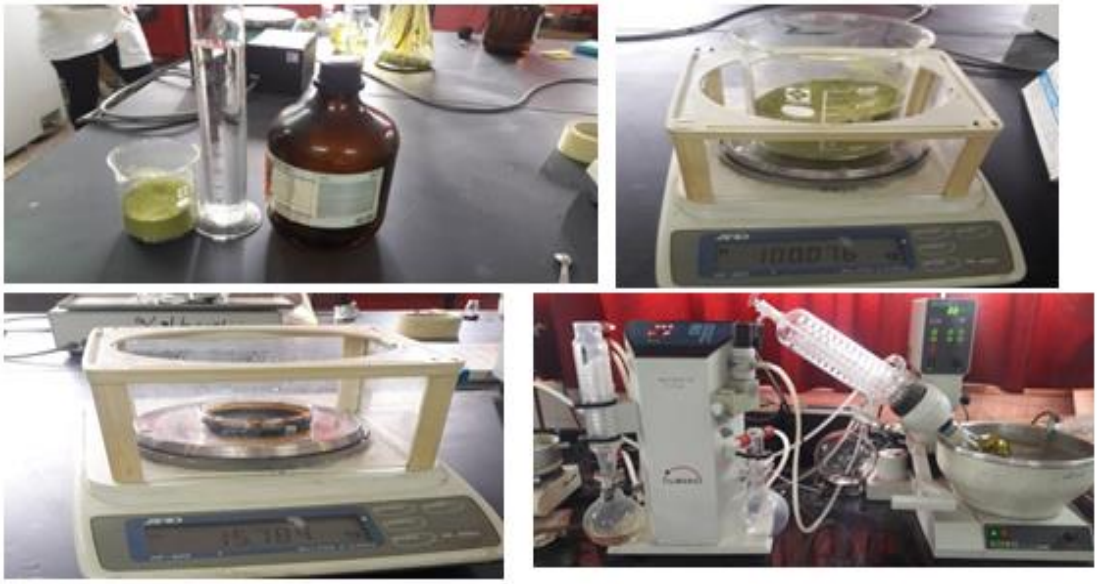
ثم رشحت الخلاصة باستخدام أوراق ترشيح (Whatman, No.1, 15 cm)، وكررت عملية النقع 3 مرات للحصول على أكبر مردود من المستخلص، و طرد المذيب بالتبخير تحت التفريغ وتحت الضغط المخفف بوساطة جهاز المبخر الدوار بعد ضبط درجة الحرارة عند الدرجة 35^oC ، فتم الحصول على خلاصة بشكل سائل كثيف لزج القوام، بعدها تم وضع السائل في أطباق زجاجية ليجف ضمن حرارة المخبر لمدة 7أيام للتخلص من بقايا المذيب وحتى ثبات الوزن.

تم وزن العينة وحسب المردود وفق القانون :

المردود % = وزن الخلاصة الجافة بعد التبخر/ وزن مسحوق الأوراق الجافة × 100

وتحفظ في البراد بدرجة حرارة 4^oC لحين دراسة الفعالية .

كررت العملية السابقة نفسها للحصول على باقي المستخلصات (المائية والايتانولية).



الشكل (٣) : يوضح مراحل الحصول على المستخلص

الجدول(2): بعض خواص المذيبات المستخدمة في الاستخلاص وطبيعة المواد المستخلصة [30]

المذيب	القطبية	درجة القطبية	درجة تبخره(C)	طبيعة المواد الكيميائية التي تستخلصها

ن الهكسان	منخفضة	0,1	69	الشموع و الدهون.
الكحول الايتيلي	عالية	4,3	78,5	التانينات، التربنتينات ،متعددات الفينول الفلافونات، القلويدات.
الماء	عالية	10,2	100	السكريات، الاحماض الامينية، الصابونينات التانينات ،التربنتينات والأنثوسيانين.

3-3-الكشف الكيفي عن بعض المركبات الفعالة في أوراق الجرجير المزروع:

1- **الكشف عن الفينولات:** حلت كل الخلاصات بالكلوروفورم وأضيف لها 3-4قطرات من كلوريد الحديد$Fecl_3$، ظهور لون أسود مزرق دليل على وجود الفينولات [31]

2- **الكشف عن الصابونينات:** (اختبار الرغوة): توضع كمية من الخلاصة مع 5مل ماء، وبرج الأنبوب لمدة دقيقة تتشكل رغوة تدوم لمدة 15دقيقة تعتبر نتيجة ايجابية [32]

3- **الكشف عن التانينات(Tannins)** : حلت كمية من الخلاصة المركزة بـ5مل ماء، وأضيف بضع قطرات من المحلول المائي لخلات الرصاص فتشكل راسب أبيض هلامي في كافة الخلاصات دليل وجود التانينات [33].

4- **الكشف عن القلويدات:** حلت الخلاصات جيدا" بالكلوروفورم ، ويضاف لها1,5مل حمض الكبريت تركيزه 3-5% ، وترج جيداً حوالي 5دقائق فينتقل جزء من القلويدات المنحلة في الكلورفورم على شكل أملاح إلى الطبقة المائية الحمضية. ثم يترك المزيج لفترة، وتسحب الطبقة العليا المائية الحمضية بواسطة ماصة(مزودة بإجاصة مطاطية) ويوضع جزء منها في أنبوب ، ثم يضاف إلى الأنبوب قطرة من كاشف دراغيندروف، ،فتلونت بلون برتقالي دليل أن الخلاصات تحوي قلويدات[34].

5- **الكشف عن التربينوئيدات(Terpenoids)** :حلت الخلاصة المركزة ب 1مل كلوروفورم في أنبوب نظيف مع الرج بين الحين والاخر لمدة 8-10دقائق،

وترشح ويضاف للرشاحة مقدار حجمها بلاماء حمض الخل بحيت ينساب بسلاسة على الجدران الداخلية للأنبوب، ويضاف قطرتين من حمض الخل المركز وعند وصول القطرات الى السطح الفاصل بين الطبقتين تتشكل حلقة حمراء(الاختبار الايجابي) وعدم تشكلها تعتبر نتيجة سلبية [34]

3-5- دراسة الفعالية الحيوية : تمت دراسة الفعالية الحيوية وفق المراحل الآتية:

1- تحضير أنابيب0.5 ماكفرلاند القياسية Standard McFarland: حُضِّر على النحو الاتي:

تذاب كمية 1.175 غرام من كلوريد الباريوم ($BaCl_2$) في 100 مل من الماء المقطر ويضاف منها

(0.5) مل إلى (9.95) مل من محلول (1 مل من حامض الكبريتيك المركز (H_2SO_4) إلى 99 مل من الماء المقطر) مع التحريك بشكل جيد، ويوضع المزيج في أنابيب زجاجية محكمة الإغلاق لمنع التبخر و في مكان مظلم [29]

2- تحضير المعلق الجرثومي:

تم إعادة تنشيط العزولات المحفوظة على وسط الآغار المغذي المائل بزرعها على وسط الآغار المغذي وحضنها بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة، ثم أخذ مستعمرة نقية واحدة بوساطة عروة الزرع و حلت في 5 مل من مرق خلاصة القلب والدماغ Brain Heart Infusion Broth ورجها جيدا" بواسطة جهاز رجاج vortx وحضنها لمدة4 – 6 ساعات وضبطت كثافة المعلق الجرثومي على مقدار عكارة تعادل Mcfarland 0.5 وذلك بالمقارنة مع أنبوب ماكفرلاند المعياري ومن تم قياس الامتصاصية عند طول موجة 600نانومتر إذ كانت قيمة الامتصاصية (0.08-0,1).

4-تحضير سلسلة التمديدات من المستخلصات العضوية :

تم وزن 200مغ من الخلاصات الجافة وحلها في 1 مل من ثنائي ميثيل سلفوكسيد DMSOللحصول على تركيز 200مغ/مل ،ماعدا الخلاصة المائية فقد حلت بالماء المقطر، حركت جيداً ولضمان تمام الانحلال تم وضعها في حمام مائي مع ضبط الحرارة بمالايتجاوز 40مْ .

نقل المحلول الى أنبوب عقيم وعقم بطريقة الترشيح الغشائي باستخدام أغشية ترشيح (Millipore) ذات قطر 47ملم وحجم الثقوب 0.45ميكرومتر، ومنه تم اجراء سلسلة التمديدات في الأنابيب :

100مغ/مل ،50مغ/مل ،25مغ/مل،12,5مغ/مل،6,25مغ/مل

استخدم الصاد الحيوي جنتامايسين تركيز30ميكروغرام /مل كشاهد ايجابي في هذه الدراسة.

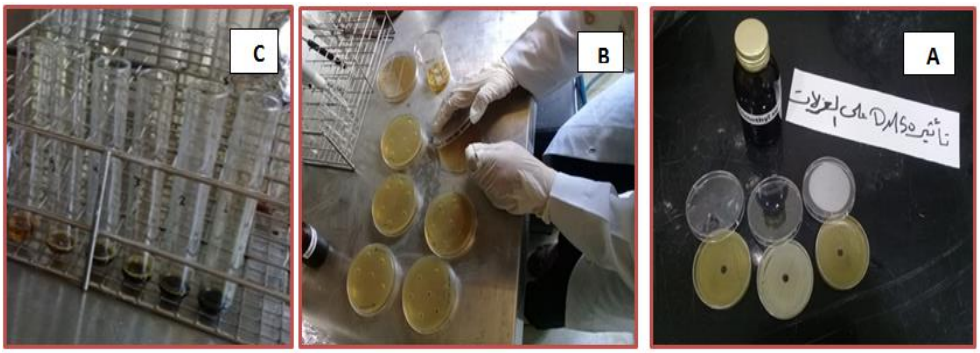
وقبل دراسة الفعالية الحيوية تم التأكد من عدم جدوى فعالية المذيب العضوي DMSO ضد أي من العزولات الجرثومية الثلاث المدروسة وذلك من خلال غياب قطر هالة منع نمو حول الحفر الحاوية عليه.

5-عملية الزرع: تم اتباع طريقة الانتشار في الحفر ضمن الآغار Agar well diffusion assay: حيث تم أخذ 100مايكروليتر من المعلق الجرثومي ذو العكارة 0,5ماكفرلاند والذي يعادل تقريباً $1,5*10^5$خلية /مل، نشرت على سطح وسط آغار مولر هنتون تركت لمدة ربع ساعة حتى تمام تشرب الوسط.

بعدها تم إحداث حفر (Holes) ضمن الوسط بواسطة ثاقب زجاجي عقيم قطر 6مم وبمعدل 7حفر في كل طبق ،عبئت الحفر بـ 100مايكروليتر من كل تمديد من المستخلص النباتى المعد للاختبار، وحضنت الأطباق على درجـة حرارة 37مْ لمدة 24ساعة تقرأ بعدها النتيجة.

إن ظهور منطقة خالية من النمو الجرثومي (Inhibition zone) حول الحفرة المستخلص أُعتبر دليلاً على تأثير المستخلص على الجراثيم المختبرة والنتيجة ايجابية ، أما عدم ظهور مثل هذه المنطقة سجل الاختبار سلبي (الجراثيم مقاومة للمستخلص المختبر،) هذا و تم أخذ متوسط قطر منطقة التثبيط باستخدام مسطرة مدرجة.

تم اجراء ثلاث مكررات لكل طبق وأخذ متوسط قطر الهالة وتم تسجيل النتيجة النهائية .



الشكل(4) يوضح:A فعالية ضد العزولات المدروسة DMSO ، B إحداث حفر في آغار مولر هنتون ، Cإجراء سلسلة تمديدات المستخلص.

4- النتائج والمناقشة :

4-1- نتائج الفحص المجهري بعد التلوين بصبغة غرام: اتبعت خطوات العمل الموصى بها من الشركة المصنعة للصبغة ولوحظ شكل الجراثيم ولونها بفحصها بالمجهر الضوئي على العدسة الغاطسة، حيث أخذت كل من الاشريكية القولونية E.coli،وعصيات القيح الأزرق Pseudomonas aerugenosa شكل عصيات لونها أحمر (سلبية لصبغة غرام) ، مستقيمة أطرافها مستديرة، غير متبوغة وليس لها محفظة ،

بينما المكورات العنقودية الذهبيةStaphylococcus aureus بدت متجمعة على شكل عناقيد وذات لون بنفسجي داكن (إيجابية لصبغة غرام).

4-2- نتائج الاختبارات الحيوية الكيميائية التي أجريت للتأكد من تشخيص العزلات الجرثومية

الجرثومة / الاختبار	اختبار الأندول	أحمر الميتيل	فوكس بروسكاور	سيمون سيترات	السكريات الثلاثية TSA	الأكسيداز	الكاتالاز	اختبار تحلل الدم
E.coli	+	+	–	–	+	–	–	+
Pseudomonas aerugenosa	–	–	–	+	–	+	+	+

الجدول(2) :يوضح الاختبارات الكيموحيوية لتأكيد تشخيص *E.coli* و *Pseudomonas aerugenoS*:

الاختبار	اختبار TSA	سيمون سيترات	تخمير سكر المانتول	اختبار الكاتالاز	اختبار الأكسيداز	اختبار تحلل الدم(بيتا)	اختبار المخثراز على الصفيحة	اختبار المخثراز في الأنبوب
النتيجة	+	+	+	+	–	+	+	+

ويبين الجدول(٣) الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص *Staphylococcus aureus* :

4-3نتائج خواص الخلاصة، مردودها، لونها ،نسبتها المئوية :

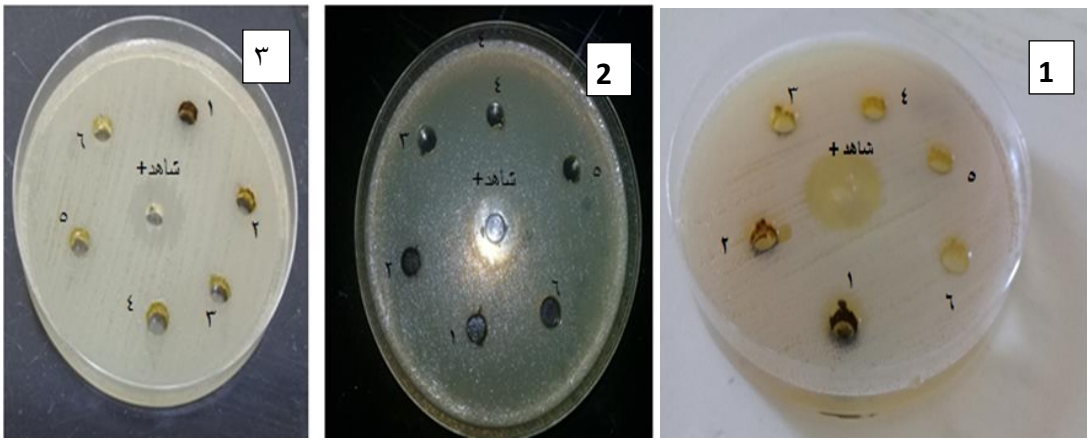
يوضح الشكل (5): مردود كافة الخلاصات المدروسة

اسم الخلاصة			
لون الخلاصة	بني غامق	زيتي داكن	زيتي داكن
الوزن	١١,٢غرام	١٥٠مغ	٦غ
النسبة	%١١,٢	%٠,١٥	%٦

4-4- نتائج المسح الكيميائي الكيفي: أوضحت نتائج الكشف الأولي للمستخلص الايتانولي والمائي للأوراق احتواؤه على كل من الفينولات والقلويدات والصابونينات والتانينات والتربينات، في حين أن الخلاصة الهكسانية احتوت على المواد السابقة جميعها عدا الفينولات والصابونينات وهذا يتفق مع [22]ويعود ذلك للقطبية المنخفضة لـ ن الهكسان حيث أن الفينولات والصابونينات وفقا" للجدول(1) تحتاج الى مذيبات ذات قطبية عالية لاستخلاصها.

4-5-نتائج الفعالية الحيوية: أبدت هذه الدراسة تبايناً واضحاً من حيث النتائج وذلك باختلاف النوع الجرثومي والمذيب العضوي المستخدم في عملية الاستخلاص، ويتجلى هذا التباين في قطر هالة التثبيط حول الحفر.

بالنسبة للخلاصة الهكسانية لم تبد أي فعالية تذكر ضد كل من الاشريكية القولونية والزائفة الزنجارية وهذا لايتفق مع[22] حيث تأثر كلا النوعين الجرثوميين بالمستخلص في حين أبدت فعالية ضعيفة ضد المكورات العنقودية الذهبية وفقط عند التركيز 200مغ/مل وبقطر 9مم ويعزى ذلك لأن ن-الهكسان لم يستطع استخلاص المركبات الفعالة لانخفاض قطبيتها أو أنها استخلصتها لكن بكميات قليلة غير قادرة على إحداث الفعالية .



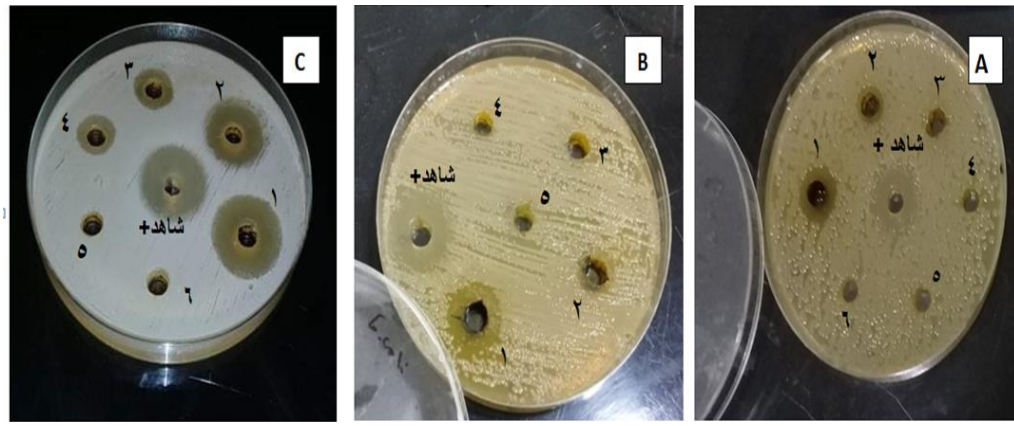
الشكل(6): يوضح تأثير المستخلص الهكساني في:1- المكورات العنقودية الذهبية 2- الزائفة الزنجارية ٣- الاشريكية القولونية

الجدول (4):يوضح فعالية المستخلص الهكساني ضد العزلات الجرثومية المدروسة:

اسم البكتريا / التركيز (مغ)	قطر هالة منع النمو مقدرة بـــ(ملم)						
	جينتامايسين	٢٠٠مغ/مل	١٠٠مغ/مل	٥٠مغ/مل	٢٥مغ/مل	١٢,٥مغ/مل	٦,٢٥
Pseudomonas aeruginosa	١٣	–	–	–	–	–	–
Escherichia coli	١٦	–	–	–	–	–	–
Staphylococcus aureus	٢٠	٩	–	–	–	–	–

أما فيما يخص الخلاصة الايتانولية فقد أبدت المكورات العنقودية الذهبية أفضل فعالية عند التراكيز مابين(25 –200 مغ/مل) وبأقطار هالة منع نمو تراوح مابين (١٣-21)

في حين أن التراكيز الأدنى فلم تبد أي تأثير يذكر وقد يعزى ذلك لقلة تركيز المواد الفعالة عند هذه التراكيز بالتالي لم تكن قادرة على إحداث الفعالية قد يكون السبب هو قلة تركيز المكبات الفعالية حيوياً وربما يعود ذلك إلى أسباب



عديدة منها مايتعلق بعمر الأوراق كما تتأثر المركبات الفعالة في النبات والمركبات الاستقلابية الخلوية بعوامل كثيرة منها ظروف التربة والمناخ والموقع الجغرافي وطريقة الجمع والحفظ فضلا"عن طريقة الاستخلاص والمذيبات العضوية المستخدمة [35]

وبالنسبة للإشريكية القولونية فقد تأثرت فقط عند التركيزين 200مغ/مل و100مغ/مل فقط وبأقطار هالة تثبيط (12–15مم) على التوالي.

الزائفة الزنجارية كانت الأقل تأثرا" فقد تأثرت فقط عند التركيزين 200مغ/مل و100مغ/مل فقط وبأقطار هالة تثبيط (9–12مم) على التوالي.

الشكل (8) : يوضح فعالية المستخلص الايتانولي ضد العزولات الجرثومية المددروسة.

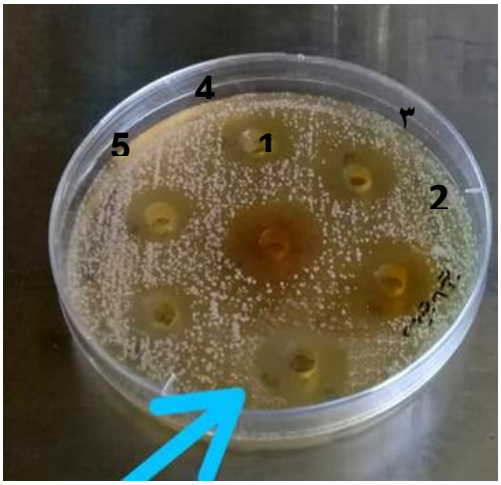
والجدول (5) : يوضح نتائج فعالية المستخلص الايتانولي ضد العزولات الجرثومية المدروسة

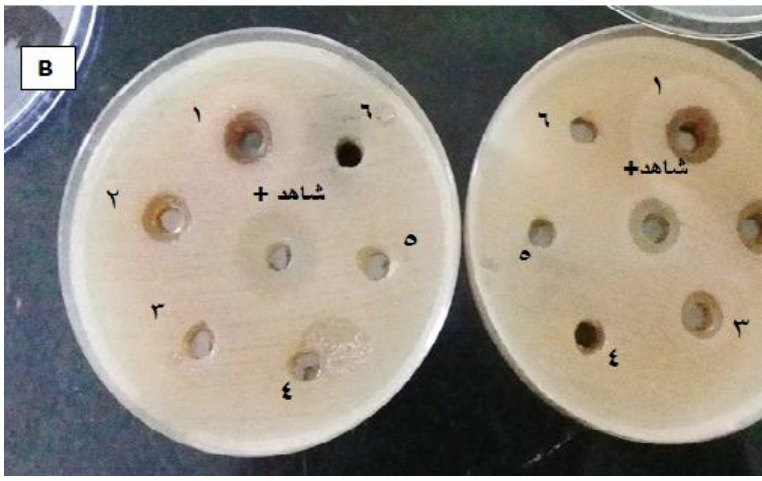
قطر هالة منع النمو مقدرة بـــــ(ملم)							
اسم البكتريا / التركيز (مغ)	جينتامايسين	٢٠٠مغ/مل	١٠٠مغ/مل	٥٠مغ/مل	٢٥مغ/مل	١٢,٥مغ/مل	٦,٢٥مغ/مل
Pseudomonas aeruginosa	١٣	١٢	٩	–	–	–	–
Escherichia coli	١٦	١٥	١٢	–	–	–	–
Staphylococcus aureus	٢٠	٢١	١٩	١٤	١٣	–	–

أما فيما يخص الخلاصة المائية، فقد أبدت فعالية جيدة ضد جميع العزلات الجرثومية المدروسة ، المكورات العنقودية الذهبية كانت الأشد تأثرا بالمستخلص وبكل التراكيز المدروسة ،وكانت عند التركيز 200مغ/مل مقاربة في فعاليتها للجينتامايسين وتراوح قطر هالة منع النمو مابين (12 –21مم) وكانت نتائجنا أفضل من[22] إذ لم يبد المستخلص المائي في دراسته أي فعالية ضد المكورات العنقودية الذهبية.

أما الاشريكية القولونية والزائفة الزنجارية فقد تأثرتا فقط عند التركيزين200مغ و100مغ فقط وبقطر هالة منع نمو(15–12مم)للاشريكية القولونية و(12–مم9) للزائفة الزنجارية .

الشكل (10): يوضح فعالية المستخلص المائي ضد العزولات الجرثومية المدروسة.





ويوضح **الجدول(6)** أدناه نتائج الفعالية الحيوية للمستخلص المائي ضد العزولات الجرثومية المدروسة

اسم البكتريا / التركيز (مغ)	جينتامايسين	٢٠٠مغ/مل	١٠٠مغ/مل	٥٠مغ/مل	٢٥مغ/مل	١٢,٥مغ/مل	٦,٢٥مغ/مل
	قطر هالة منع النمو مقدرة بـ(ملم)						
Staphylococcus aureus	٢٠	٢١	٢٠	١٧	١٦	١٥	١٢
Escherichia coli	١٦	١٢	١١	–	–	–	–
Pseudomonas aeruginosa	١٣	١٣	١١	٩	–	–	–

ولقد لوحظ من خلال هذه الدراسة ارتفاع الفعالية الحيوية بزيادة قطبية المذيب العضوي المستخدم في الاستخلاص، كما أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع الفعالية التثبيطية مع ارتفاع تركيز المستخلص الواحد وهذا يتفق مع [42] ويعزى ذلك لزيادة تركيز المركبات الفعالة بزيادة تركيز المستخلص

وكانت الجراثيم السالبة لصبغة غرام أكثر مقاومة للمستخلصات المدروسة من البكتيريا موجبة الجرام إلى حد ما وهذا يتفق مع [24]، [21]،[22]، [37] ، ويعزى ذلك لوجود عديدات السكاريد الدهنية lipopolysaccharide سالبة الشحنة في أغشية الجراثيم السالبة لصبغة غرام، مما يشكل حاجزًا محكمًا للانتشار ضد المركبات الكارهة للماء والمركبات المحبة للماء ذات الحجم الكبير،بالتالي يتفاعل المستخلص مع غشاء البكتيريا موجبة الجرام بسهولة أكبرمن البكتيريا سالبة الجرام[36].

وينتج التأثير الطبي المفيد للمواد النباتية أساسًا عن مزيج من المنتجات الثانوية الموجودة في النبات ولا يُنسب عادةً إلى مركب واحد[11]

فالقلويدات يتلخص عملها في إيقاف تصنيع الاحماض النووية في الخلية الجرثومية كما تعمل على تثبيط عمل أنظيم DNA Gyrase و تؤثر في المساعدات الانزيمية co– enzyme والصابونينات تعمل على إزالة الاغشية الخلوية وبالتالي تحلل الخلية الجرثومية[37]،كما أن التانينات القابلة للتحلل لها إمكانات كنظم علاجية جديدة وآمنة ضد الجراثيم اذ تبدي نشاطًا مدمرًا للغشاء الخلوي [38]

كما وتمتاز الفصيلة الصليبية والتي ينتمي لها نبات الرجير بغناها بالفينولات والغليكوزيدات [39] ،ومن المعروف أن للفينولات معروف خصائص مضادة للبكتريا من خلال إعاقة قوة حركة البروتون(Proton Motive Force)مسببة بذلك تسرب المكونات داخل الخلوية وتثبيط الأنزيمات ونقل الإلكترون وعملية Oxidative phosphorylationوتجلط المكونات السيتوبلازمية[40].

أما بالنسبة للجلوكوزيداتGlucosinolates فتُعزى معظم الأنشطة البيولوجية إلى منتجات التحلل المائي،فعند تناول خضراوات هذه الفصيلة تتحلل مركباتGlucosinolates أنطيميا" بواسطة أنظيمMyrosinase النباتي ونبيت القناة

الهضمية Gastrointesinal microflora منتجة مركبات Isothiocyanate والتي يعزى لها الأثر في الفعالية الحيوية [41]

كما أن الغليكوزيدات الكبريتية تتفاعل مع مجاميع –SH الموجودة في بروتينات الخلية حيث تتفاعل مع الحمض الاميني cysteine مكونة رابطة ثنائية الكبريتs–s وبما ان مجموعة الكبريت –SH لها لها محفزات خاصة لتضاعف الخلايا حيت تعمل مركبات الكبريت على تحطيم هذه المجموعة وبالتالي يتم تثبيط التضاعف ضمن الخلية[35].

–الاستنتاجات والتوصيات:

5–1–الاستنتاجات :

أظهرت نتائج البحث أن مستخلصات أوراق نبات الجرجير المزروع تمتلك فعالية مضادة إزاء الجراثيم الممرضة السلبية والإيجابية لصبغة غرام المعزولة من عينات بشرية والمسببة لإنتانات المسالك البولية، كانت فعالية المستخلص الهكساني ضعيفة، فيما كانت الفعالية الأقوى لكل من المستخلصين المائي والإيتانولي لذلك يمكن الاعتماد على هذ النبات كمصدر للمضادات الحيوية لعلاج حالة التهاب المسالك البولية.

5-2- التوصيات :

إجراء دراسة أوسع جول المستخلصات وتحديد طبيعة المركبات الكيميائية وكميتها وفصلها ودراسة تاثير كل مركب بمفرده لتحديد هوية المادة الفعالة ضمنه.

-نوصي بدراسة التأثير المحتمل لهذه النباتات في الأنواع الجرثومية الأخرى وبشكل خاص تلك المقاومة للعديد من الصادات الحيوية

-إجراء دراسة تتضمن مشاركة هذه المستخلصات مع الصادات الحيوية التقليدية للإسهام في التخفيف من آثارها الجانبية غير المرغوب فيها، فضلاً عن تقليل جرعتها وتحسين فعاليتها.

6-المراجع

[1]. Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B., & Carter, G. R. (2004). **Clinical veterinary microbiology.** Mosby. Elsevier, London, Sec, 2, 130 p1-646.

[2]. Randhir, R.; Lin, Y. T. & Shetty, K. (2004). **Phenolics, their antioxidant and antibacterial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors.** Asia Pac. J. Clin.Nutr.,13(3):295- 307.

[3]. Jaafar, N. S., & Jaafar, I. S. (2019). Eruca sativa Linn.: Pharmacognostical and pharmacological properties and pharmaceutical prepara-tions. Asian J Pharm Clin Res, 12(3), 39-45

[4]. Marwat, S. K., ur Rehman, F., & Khan, A. A. (2016). **Phytochemistry and Pharmacological Values of Rocket (Eruca sativa Miller)AReview**. International Journal of Horticulture, 6(16).

[5]. Hall , MK. Jobling JJ, Rogers GS.(2012). **Some perspectives on rocket as a vegetable crop:** A review. Veget Crops Res Bull;76:21–41.

[6]. كينا جوماك ، دو فريس جان. (2003). بدائل المضادات الحيوية: Natural Alternatives to Antibiotics العبيكان للنشر،.الرياض،المملكة العربية السعودية.ص 44

[7]. الجنابي، جواد كاظم، .كمال، صابرين عبد الأمير. (2014). تقويم كفاءة مستخلصات الشاي الأخضر والدارسين في نمو الفطر ، mentagrophytes مجلة جـــــــــامعة بابل، العلوم الصرفة والتطبيقية، 22(2)، قسم علوم الحياة- كلية العلوم- جامعة بابل - العراق، الصفحات 651-660.

[8]. Ansari MN. (2015). **Influence of dietary rocket leaves on diuresis and urinary electrolytes excretion in high fat diet-induced obese rats.** BEPLS;4: 9-13.

[9]. بركة، مراد عبد الرحمن، الزكراوي، أحمد مسعود. (2012). دراسة ارتباط المقاومة للمضادات الحيوية بالمحتوى البلازميدي في عزلتين من بكتيريا السالمونيلا ودوره في اتساع طيف المقاومة الدوائية بين البكتيريا المعوية، قسم علم الحيوان- كلية العلـــوم- جامعـــــة سبها – ليبيا.

[10]. Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H., & Hirai, Y. (2004). **Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against Helicobacter pylori**. Microbiology and immunology, 48(4), 251-261.

[11]. Mc,Aninch, Jack ,W., et al. Smith &.(2013). **Tanagho's general urology**. New York: McGraw-Hill Medical.

[12]. Auddy, B., Ferreira, M., Blasina, F., Lafon, L., Arredondo, F., Dajas, F., ... & Mukherjee, B. (2003). **Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases**. Journal of Ethnopharmacology, 84(2-3), 131-138.

[13]. Brown, A. E. (2007). **Benson's Microbiological Application-s. 10th ed published by McGraw- Hill,** New York, USA.

[14]. Martı´nez-Sa´nchez A, Gil-Izquierdo A, Gil MI, Ferreres F. (2008).**A comparative study of flavonoid compounds, vitamin C,and antioxidant properties of baby leaf Brassicaceae species.**J Agric Food Chem. 56:2330–2340.

[15]. Hassiotis, C. N. and Lazari, D. M.,(2010). **Decomposition process in theMediterranean region. Chemical compounds and essentiaoil degradationfrom Myrtus communis**. International Biodeterioration & Biodegradation,journal homepage: www.elsevier.com/locate/ibiod, pp. 1-7.

[16]. Parekh J, Karathia N, Chanda S (2006). **Screening of some traditionallyused medicinal plants for potential antibacterial activity**. India J. Pharm. Sci. 68(6): 832-834.

[17]. Kyung, K.H.& Lee,Y.C.(2001). **Antimicrobial activity of sulfer compound derived from some S-Alkyl-systeine sulfoxides and Allium and Brassica foodRev.** Int.17(2):190-198.

[18]. Blamey, M., & Grey-Wilson, C. (1989). **Illustrated flora of Britain and Northern Europe.** Hodder and Stroughton,p545.

[19]. Abdou, I. A., Abou-Zeid, A. A., El-Sherbeeny, M. R., & Abou-El-Gheat, Z. H. (1972). **Antimicrobial activities of Allium sativum, Allium cepa, Raphanus sativus, Capsicum frutescens, Eruca sativa, Allium kurrat on bacteria**. Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles, 22(1), 29-35.

[20]. Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y., & Shimamura, T. (1993). **Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-**Biomembranes, 1147(1), 132-136.

[21]. Roos, V., Nielsen, E. M., & Klemm, P. (2006). **Asymptomatic bacteriuria Escherichia coli strains: adhesins, growth and competition.** FEMS microbiology letters, 262(1), 22-30.

[22]. العبيدي ،علي.(2013). دراسة التأثير الحيوي لمستخلصات الغار وورق الجرجير(Eruca sativa. L) داخل وخارج الجسم الحي، الجامعة المستنصرية -كلية التربية الأساسية ،العراق .

[23]. Abdou, I. A., Abou-Zeid, A. A., El-Sherbeeny, M. R., & Abou-El-Gheat, Z. H. (1972). **Antimicrobial activities of Allium sativum, Allium cepa, Raphanus sativus, Capsicum frutescens, Eruca sativa, Allium kurrat on bacteria**. Qualitas Plantarum et Materiae Vegetabiles, 22(1), 29-35.

[24]. Ullah .A , Ahmad , f. Noor, j. (2018) .**Evaluation of the antibacterial potential of Eruca sativa Mill (Brassicaceae) in vitro** . Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES),13(1),43-50

[25]. الحكم ،وسيم. السعدي، محمد. آغا ،عصام ،.القاضي، عماد. دركت، أحمد. الشاطر ،زهير ،. ابراهيم، ثروت. قربيصة ،محمد .(2012). أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي ،جامعة الدول العربية.المركز العربي لدراسة المناطق الجافة والأراضي القاحلة ،أكساد، دمشق، سوريا.

[26]. Salvatore, S., Salvatore, S., Cattoni, E., Siesto, G., Serati, M., Sorice, P., & Torella, M. (2011). **Urinary tract infections in women.** European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology, 156(2), 131-136.

[27]. Collins, C. H., Lyne, P. M., Gran-ge, J. M. and Falkinha III, J. O. (2004). **Microbiological Methods. 8th ed. Arnold a member of the Hodder Headline Group London.**

[28]. Brown, A. E. (2007). **Benson's Microbiological Application-s. 10th ed published by McGraw- Hill,** New York, USA.

[29]. Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B., & Carter, G. R. (2004). **Clinical veterinary microbiology.** Mosby. Elsevier, London, Sec, 2, 130 p1-646.

[30]. Hall , MK. Jobling JJ, Rogers GS.(2012). **Some perspectives on rocket as a vegetable crop:** A review. Veget Crops Res Bull;76:21–41.

[31]. اشكورفوا، ربيعة ،. الجنقاوي ،عتيقة ،. الاسود،نادية .(2019).الكشف العضوي لبعض المركبات الكيميائية لمستخلصات الملفوف الاخضر والبنفسجي،المجلة الدولية للعلوم التقنية،العدد16،قسم الكيمياء- كلية العلوم- جامعة المرقب،ص1-15.

[32]. Edeoga H.O., Okwu D.E., (2005). **Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants**: Afr. J. Biotechnol., 4(7): 685-688.

[33]. شوكت ،مؤيد، علي، عبد الأمة ، .فرحان، حسين. (2008). دراسة تأثير الخلاصات المائية لبعض النباتات في علاج التهاب اللثة الحاد والمزمن،المجلة العراقية للعلوم،49(1)،ص69-٧٣.

[34]. ميرزا ،جمعة، حسن، طاهر. (2007).عملي كيمياء المنتجات الطبيعية،كلية العلوم،جامعة البعث،ص1-157.

[35]. Joy P. P.; Thomas J.; Mathew S.; Skaria B. P., (1998). **Medicinal Plants.**Kerala Agricultural University. Aromatic and Medicinal Plants ResearchStation, India. pp. 1-211.

[36]. Ikigai, H., Nakae, T., Hara, Y., & Shimamura, T. (1993). **Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)**-Biomembranes, 1147(1), 132-136.

[37]. علي، انتصار،.علي حسين،أمل . (2007).فعالية مستخلص نبات الجرجير Eruca sativa كمضاد لبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام ،مجلة أم سلمى للعلوم،4(3)،375-378.

[38]. Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H., & Hirai, Y. (2004). **Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against Helicobacter pylori**. Microbiology and immunology, 48(4), 251-261.

[39]. Jin, J., Koroleva, O., Gibson, T., Swanston, J., Magan, J., & Zhang, Y. (2009). **Analysis of phytochemical composition and chemoprotective capacity of rocket (Eruca sativa and Diplotaxis tenuifolia) leafy salad following cultivation in different environments**. Journal of Agriculture Food Chemistry, 57, 5227-5234.

[40]. Randhir, R.; Lin, Y. T. & Shetty, K. (2004). **Phenolics, their antioxidant and antibacterial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors.** Asia Pac. J. Clin.Nutr.,13(3):295- 307.

[41]. Wittstock, U., Kliebenstein, D. J., Lambrix, V., Reichelt, M., & Gershenzon, J. (2003). **Chapter five Glucosinolate hydrolysis and its impact on generalist and specialist insect herbivores**. In Recent advances in phytochemistry (Vol. 37, pp. 101-125).