الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لنبات الميرمية (*Salvia officinalis*) ضد بعض الجراثيم الممرِضة المعزولة من برغر الدجاج

سيرين المحمد [1] د. سمير حمود [2] د. بسام العقله [٣]

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلص الكحولي لنبات الميرمية (*Salvia officinalis*) ضد سلالات جرثومية ممرضة معزولة من برغر الدجاج. تم عزل وتشخيص أربع سلالات جرثومية: (*Staphylococcus aureus* ، *Salmonella typhi*، *Enterobacter cloacae*، و *Proteus mirabilis*) باستخدام أوساط انتقائية واختبارات بيوكيميائية.

تم تحضير المستخلص الكحولي (99.9% إيثانول) بطريقة النقع، وتم اختبار فعاليته باستخدام طريقة انتشار الحفر في آغار مولر هينتون بأربعة تراكيز (0.5، 1، 2، 4 ملغم/مل). أظهرت النتائج قدرة تثبيطية واضحة للمستخلص ضد جميع السلالات الجرثومية، وأعلى من المضاد الحيوي القياسي (جنتامايسين 10 ميكروغرام)، مع وجود علاقة طردية بين التركيز وقطر هالة التثبيط.

كما بينت نتائج اختبارات الكشف الكيفي عن وجود مركبات فينولية وفلافونويدات وتانينات.

تؤكد هذه النتائج الإمكانات العلاجية للمستخلص الكحولي للميرمية، مما يجعله مرشحاً واعداً للاستخدام كمادة حافظة طبيعية في منتجات اللحوم وكمضاد ميكروبي في التطبيقات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية: المستخلص الكحولي للميرمية، فلافونيدات، تانينات، برغر الدجاج، مواد حافظة طبيعية

مضاد جرثومي ،قدرة تثبيطية.

(1) طالبة دراسات عليا– ماجستير قسم علم الحياة – جامعة حمص

(2) أستاذ في مكروبيولوجيا أحياء مجهرية– قسم علم الحياة – كلية العلوم –جامعة حمص.

(٣). باحث في قسم التقانات الغذائية والصناعية –الهيئة العامة للتقانةالحيوية – جامعة دمشق.

The inhibitory activity of the alcoholic extract of *Salvia officinalis* against some pathogenic bacteria isolated from chicken burgers

Abstract

This study aimed to evaluate the antibacterial efficacy of the alcoholic extract of sage *Salvia officinalis* against pathogenic bacterial strains isolated from chicken burgers. Four bacterial strains *Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, Enterobacter cloacae,* and *Proteus mirabilis* .were isolated and identified using selective media and biochemical tests

The alcoholic extract (99.9% ethanol) was prepared using the maceration method, and its efficacy was tested using the agar well diffusion method on Mueller Hinton agar at four concentrations (0.5, 1, 2, 4 mg/ml). The results revealed a significant inhibitory capacity of the extract against all bacterial strains, which was higher than that of the standard antibiotic (Gentamicin 10 µg). A direct proportional relationship was observed .between the concentration and the diameter of the inhibition zone

Furthermore, the results of qualitative phytochemical screening tests .confirmed the presence of phenolic compounds, flavonoids, and tannins

These findings confirm the therapeutic potential of the alcoholic sage extract, positioning it as a promising candidate for use as a natural preservative in meat products and as an antimicrobial agent in pharmaceutical applications.

Keywords: Alcoholic sage extract, Flavonoids, Tannins, Chicken burger, .Natural preservatives, Antimicrobial, Inhibitory activity

1-المقدمة:

تُعد الميرمية (*Salvia officinalis L.*) من أكثر النباتات الطبية استخداماً في الطب الشعبي ، لا سيّما في منطقة حوض البحر الأبيض المتوسط والشرق الأوسط، وتنتمي إلى فصيلة *Lamiaceae*، التي تضم أكثر من 900 نوعاً حول العالم [1]. وهي نبتة شجرية معمرة دائمة الخضرة، ذات ساق خشبية قائمة تتفرع عند القاعدة، أوراقها خضراء رمادية ذات ملمس صوفي مغطاة بأوبار دقيقة الشكل (1)، تُطلق رائحة عطرية مميزة عند الفرك، فيما تتدرج أزهارها بين اللون البنفسجي والأزرق، وتزدهر في المناطق الدافئة ذات التربة جيدة الصرف [2,3]. تعدالأوراق، الجزء الأكثر استخداماً في التطبيقات الطبية والغذائية نظراً لاحتوائه على عدد كبير من المركبات الفعالة حيوياً مثل :التوجون، الكافور، السينول، حمض الكارنوسيك، حمض الروزمارينيك، والعديد من الفينولات [4,5] ،

التي تستخدم كمضادات للجراثيم، والفطريات، والالتهاب، ومضادات للأكسدة [6,7] . أكد (*Raho B et al 2016*) فعالية المستخلصات المائية والكحولية للميرمية، خاصة الكحولية ضد سلالات بكتيرية ممرضة، إضافةً إلى بعض أنواع الخمائر، مما يدعم إمكانية استخدامه كمادة مضادة للجراثيم أو كحافظة طبيعية في الأغذية[8,9] .

كما أشارت دراسات أخرى إلى أن بعض مركبات الميرمية قد تمتلك خصائص مضادة للأورام عن طريق تحفيز الاستماتة الخلوية في بعض خطوط الخلايا السرطانية[10] .

تتأثر فعالية المستخلصات النباتية بعدة عوامل، من أبرزها: نوع المذيب المستخدم، وطريقة الاستخلاص، والمنشأ الجغرافي للنبات، وتركيزه، ونوع الكائنات الدقيقة المستهدفة[11,12] .

تلعب سلامة الأغذية دوراً حاسماً في الوقاية من الأمراض المنقولة عبر الغذاء، حيث تعد الجراثيم الممرضة أحد أهم مسببات التلوث الغذائي مما يستدعي البحث عن حلول طبيعية فعالة لمكافحتها وانطلاقًا من ذلك، تهدف هذه الدراسة التطبيقية إلى تقييم الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لنبات الميرمية على أنواع من الجراثيم التي تم عزلها من منتج غذائي شائع، وهو برغر الدجاج الجاهز للاستهلاك، وقد تم إجراء الفحوصات باستخدام طريقة الحفر في وسط الآغار Well Diffusion Methodلتقييم قدرة المستخلص على تثبيط نمو الجراثيم، مع تحليل النتائج ومقارنتها بما ورد في الدراسات السابقة لتحديد مدى كفاءته كمضاد ميكروبي طبيعي وفعّال.

الشكل(1) يوضح المجموع الخضري لنبات الميرمية

تصنيف النبات: تم تصنيف النبات وفق [1]:

التسمية العلمية	التصنيف
النباتات *Plantae*	المملكة

مغلفاة البذور *Magnoliophyta*	الشعبة
ثنائيات الفلقة *Magnoliopsida*	الصف
الشفويات *Lamiales*	الرتبة
الفصيلة الشفوية *Lamiaceae*	الفصيلة
الميرمية *Salvia*	الجنس
الميرمية الطبية *Salvia officinalis L.*	النوع

1- أهمية البحث وأهدافه:

في ظل التزايد المستمر لمشكلة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية التقليدية، برزت الحاجة إلى إيجاد بدائل طبيعية فعالة، تمتاز بسلامتها الحيوية وتوفرها، ويمكن استخدامها في المجالات الغذائية والصيدلانية على حد سواء. ويُعد التلوث البكتيري في الأغذية الجاهزة، لا سيما اللحوم المصنعة مثل برغر الدجاج، من المشكلات الشائعة التي تهدد الصحة العامة، وتتطلب حلولاً وقائية جديدة وآمنة.

وتأتي أهمية هذا البحث من كونه يُقيّم فعالية مستخلص نباتي معروف بخصائصه الطبية، وهو الميرمية *S. officinalis* ، باستخدام مستخلصه الكحولي لمكافحة سلالات بكتيرية ممرضة تم عزلها من منتج غذائي فعلي متداول في الأسواق. كما أن استخدام طريقة الحفر في وسط الآغار يوفر وسيلة دقيقة لتقدير النشاط التثبيطي للمستخلص الطبيعي، ويُسهم في بناء قاعدة معرفية حول جدوى استخدام نباتات طبية كمضادات ميكروبية بديلة، وانطلاقاً من هذه الأهمية هدف البحث إلى:

1- عزل وتشخيص أنواع الجراثيم الموجودة في برغر الدجاج الجاهز.

2- تقييم النشاط التثبيطي للمستخلص الكحولي ضد الجراثيم المعزولة باستخدام طريقة الحفر في وسط الآغار.

3-المواد وطرائق البحث:

3-1- الأجهزة والأدوات المستخدمة في البحث:

جهاز التعقيم الاوتوغلاف، غرفة الزرع، جهاز رجاج vortex، حاضنة، ميزان الكتروني حساس، أطباق بتري معقمة، عروة تلقيح ،أنابيب اختبار وحوامل الأنابيب، أوراق ترشيح ووتمان 0.1مم، مطحنة كهربائية، ، براد.

3-2- المواد المستخدمة في البحث:

نبات المريمية، كحول ايتلي 99.9% وسط آغار المغذي، ومولر هنتون آغار.

3-3-1- تحضير المستخلص الكحولي لنبات الميرمية:

تم تحضير المستخلص الكحولي لنبات الميرمية وفق الخطوات التالية:

أولاً تجهيز عينة النبات:

تم الحصول على نبات الميرمية *S.officinalis L.*المجفف من السوق المحلي في مدينة حمص سوريا تم تنقية النبات من الشوائب وطحنه إلى مسحوق ناعم باستخدام مطحنة كهربائية.

ثانياً-إجراء عملية الاستخلاص: وضع 100غرام من مسحوق الأوراق النباتية وغمرت ب 500مل من الايتانول99.9% في حوجلة سعة (1ليتر) مغلفة بغلاف عاتم ومزودة بهزازة كهربائية (E1هزة/د) وتم الاستخلاص ضمن درجة حرارة المختبر 25°C لمدة 72ساعة ، ثم رشح المستخلص باستخدام أوراق ترشيح وكررت العملية 3 مرات للحصول على أكبر مردود من المستخلص، و طرد المذيب بالتبخير تحت التفريغ وتحت الضغط المخفف باستخدام المبخر الدوار بعد ضبط درجة الحرارة عند الدرجة 35م° ، فتم الحصول على مستخلص بشكل سائل كثيف لزج القوام لونه أخضر بوزن 1.9 غرام

حسب المردود وفق:

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

وتحفظ في البراد بدرجة حرارة 4م° لحين دراسة الفعالية.

3-4 -عزل وتشخيص الجراثيم:

تم جمع عينات من برغر الدجاج الجاهز من الأسواق المحلية في مدينة حمص، ثم أجريت عليها عمليات العزل الميكروبي باستخدام أوساط انتقائية متخصصة لكل نوع جرثومي. حيث استُخدم وسط شابمان (Mannitol Salt Agar – MSA) لعزل *S. aureus* نظراً لاحتوائه على تركيز مرتفع من كلوريد الصوديوم الذي يثبط نمو معظم البكتيريا غير المتحملة للملح، بالإضافة إلى احتوائه على المانيتول الذي يسمح بالكشف عن قدرة العزلات على تخميره.

أما لعزل *S. typhi*فقد استُخدم وسط (Xylose Lysine Deoxycholate) XLD agar، أيضاً وسطSSA Salmonella-Shigella Agar ، ووسط Buffered Peptone Water BPW في حين استُخدم MacConkey agarلعزل كل من *E. cloacae* و*P. mirabilis* بناءً على قدرتها على تخمير اللاكتوز.

بعد نمو المستعمرات على الأوساط المذكورة، والحصول على مزارع نقية للسلالات الجرثومية. دُرست الصفات المجهرية باستخدام صبغة غرام، ومن ثم أجريت اختبارات كيميائية حيوية معيارية (الكاتالاز، الأوكسيداز، وسلسلة IMViC,...) لتشخيص الأنواع، وفقاً للمعايير المعتمدة في التشخيص المخبري[13,14] .

أما بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية فقد تم اجراء اختبارات المختزاز Coagulase test، تخمير سكر المانتول، سيمون سيترات، السكريات الثلاثية، الأوكسيداز، و الكاتالاز.

وقد تم اختيار أربع عزلات جرثومية ملوثة لبرغر الدجاج تكررت في العينات المدروسة، وهي: *S. aureus*، *E. cloacae*، *S. typhi*، و*P. mirabilis*.

3-5- الكشف الكيفي عن بعض المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لنبات الميرمية:

1. **الكشف عن الفينولات:** أُخذ في أنبوب اختبار جزء صغير من المستخلص النباتي وحل بـ 5 مل ايتانول، ثم أُضيف 4-3 قطرات من محلول كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$) . تُستخدم هذه الطريقة للكشف النوعي عن المركبات الفينولية نظراً لتفاعلها مع أيونات الحديد وتكوين مركبات ملونة[15] .

2. **الكشف عن القلويدات:** استُخدمت مجموعة من الكواشف التقليدية لتحديد وجود القلويدات، شملت :**كاشف ماير، دراغندورف، فاغنر، وحمض المرّ** .أُضيف كل كاشف إلى كمية مناسبة من المستخلص الكحولي في أنابيب منفصلة. تعتمد هذه الكواشف على تكوين رواسب مميزة في حال وجود قلويدات[16].
3. **الكشف عن التانينات(Tannins):** تم الكشف عن التانينات بإضافة **محلول خلات الرصاص (Lead acetate)** إلى المستخلص الكحولي. تُعد هذه الطريقة فعالة في التفاعل مع التانينات لتكوين مركب راسبي مميز يمكن ملاحظته بصرياً[15] .
4. **الكشف عن الزمر المرجعة (اختبار فهلنغ):** تم تحضير كميات متساوية من محلولي **فهلنغ A** (كبريتات النحاس) و**فهلنغ B** (طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم مع هيدروكسيد الصوديوم)، ثم مزجهما وإضافة المستخلص الكحولي. تُستخدم هذه الطريقة للكشف عن وجود سكريات مرجعة أو مركبات تحتوي على زمر ألدهيد [15].
5. **الكشف عن الفلافونويدات (اختبار شينودا):** استُخدم اختبار شينودا (Shinoda Test) للكشف عن الفلافونويدات، حيث أضيف مسحوق المغنزيوم إلى المستخلص، و حمض الهيدروكلوريك المركز (HCl) والكحول الإيثيلي، ثم سُخن المزيج بلطف في حمام مائي. يُظهر هذا الاختبار تفاعلاً لونياً مميزاً في حال وجود فلافونويدات [17].

3-6-دراسة الفعالية الحيوية للمستخلص الكحولي:

دُرست الفعالية الحيوية للمستخلص الكحولي لنبات الميرمية باستخدام طريقة الحفر في وسط الآغار (Well Diffusion Method) ، وهي طريقة قياسية واسعة الاستخدام لتحديد النشاط التثبيطي للمستخلصات النباتية ضد الكائنات الدقيقة [20] وفق الخطوات التالية:

1. حُضّر وسط Mueller-Hinton agar، وصُب في أطباق بتري معقمة، وتُرك حتى تصلب.

2. حُضر معلق جرثومي لكل عزلة باستخدام محلول ملحي معقم، وعدّلت العكارة بصرياً لتطابق معيار 0.5ماكفارلاند ما يعادل تقريباً 1.5×100^{8} (CFU/ml) [22].
3. أضيف 100ميكرولتر من المعلق السابق إلى كل طبق، ووزّع بالتساوي على سطح الوسط باستخدام ماسحة معقمة.
4. أُحدثت أربع حفر (بقطر 6 مم) في كل طبق باستخدام مثقاب معقم، ثم وُضع في كل منها 100ميكرولتر من المستخلص الكحولي لنبات الميرمية بتركيزات مختلفة، واستُخدم قرص الجنتامايسين (10ميكروغرام/قرص) كشاهد إيجابي لقياس فعالية المضاد الحيوي، و DMSOكمذيب وشاهد سلبي[23] .
5. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة داخل حاضنة ، وبعدها تم قياس أقطار الهالات التثبيطية بالمليمتر باستخدام مسطرة دقيقة[24] .

كررت التجربة ثلاث مرات، وسُجل المتوسط ± الانحراف المعياري لتحليل النتائج لاحقاً.

4-النتائج والمناقشة:

4-1-:مردود المستخلص الكحولي :

كان وزن الخلاصة بعد التجفيف 4.75غرام وحسبت نسبة المردود للمستخلص الكحولي وكانت 4.75%

4-2: نتائج الكشف الكيفي عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي:

1. **الفينولات:** أظهر تفاعل المستخلص الكحولي مع كلوريد الحديد الثلاثي ($FeCl_3$) تغيراً لونياً واضحاً إلى الأسود المزرق، مما يدل على **وجود مركبات فينولية** في المستخلص.الشكل(2)

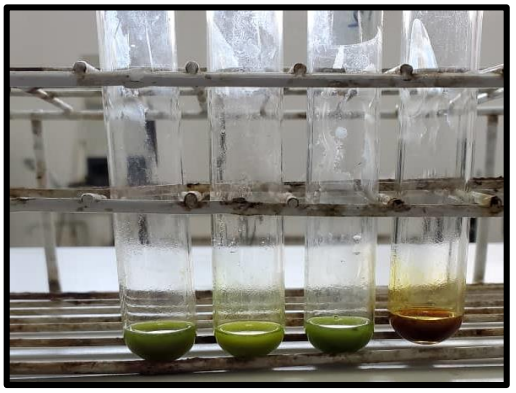
وقد توافق ذلك مع نتائج دراسة [18]، التي أثبتت غنى *S. officinalis* بالمركبات الفينولية ذات النشاط المضاد للاكسدة.

2. **القلويدات:** لم تُسجَّل أي استجابة لونية أو ترسيب عند استخدام كواشف القلويدات (ماير، دراغندورف، فاغنر، حمض المرّ)، مما يشير إلى غياب القلويدات أو وجودها بتراكيزمنخفضة. الشكل(3)

وهذا ما أكدته دراسة[19]التي لم تجد قلويدات بكميات معتبرة في المستخلص الكحولي لأوراق الميرمية.

3. **التانينات:** أدى استخدام كاشف خلات الرصاص إلى تكوّن **هلام أبيض واضح،** وهو ما يُعد مؤشراً إيجابياً على وجود التانينات. الشكل (4)، تؤكد هذه النتيجة ما توصلت إليه دراسة [20] والتي أشارت إلى احتواء *S. officinalis* على نسبة جيدة من التانينات ضمن مكوناتها الثانوية.
4. **الزمر المرجعة (اختبار فهلنغ):** أعطى تفاعل فهلنغ نتيجة إيجابية بتكوّن راسب أحمر آجري،الشكل (5) مما يدل على **وجود سكريات مرجعة** أو مركبات ذات زمر مختزلة في المستخلص.وقد أشار [15] إلى أن العديد من النباتات العطرية تحتوي على سكريات بسيطة تظهر بوضوح في اختبار فهلنغ، بما في ذلك نبات الميرمية.
5. **الفلافونويدات (اختبار شينودا):** أظهرت العينة استجابة لونية ضعيفة وغير واضحة عند تطبيق اختبار شينودا، ما يدل على غياب واضح للفلافونويدات أو وجودها بتراكيز منخفضة.الشكل(6)

وقد لوحظت نتائج مماثلة في دراسة[21] والتي أظهرت وجود الفلافونويدات في المستخلص المائي بتركيز أعلى منه في المستخلص الكحولي.

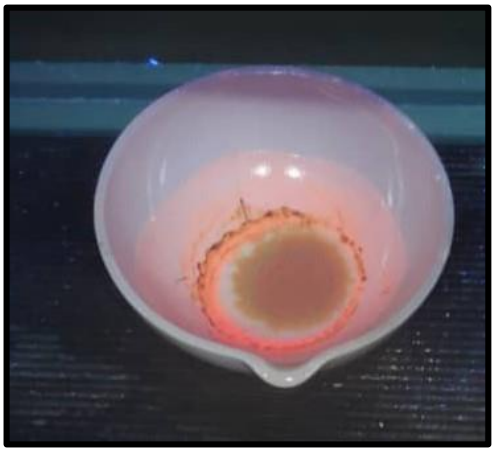


الشكل (2) اختبار الفينولات

الشكل(3) اختبار القلويدات

الشكل (4) اختبار التانينات

الشكل (5) اختبار الزمر المرجعة



الشكل (6) اختبار شينودا تلون وردي خفيف

4-3:نتائج الفحص المجهري:

– تم إجراء الفحص المجهري للعزلات الجرثومية باستخدام صبغة غرام، وقد أظهرت الأنواع اختلافاً في تفاعلها وشكلها وترتيبها الخلوي. يُلخص الجدول (2) النتائج التفصيلية للفحص المجهري

الجدول (2) نتائج الفحص المجهري

الشكل المجهري	شكل الخلية	استجابة صبغة غرام	الجرثومة
عناقيد	كروية Cocci	موجبة الغرام	*S. aureus*
منفردة أو مزدوجة	عصويةBacilli	سالبة الغرام	*E.cloacae*
غير منتظمة	عصوية مستقيمة	سالبة الغرام	*S. typhi*
متحركة – بدون ترتيب محدد	عصوية	سالبة الغرام	*P. mirabilis*

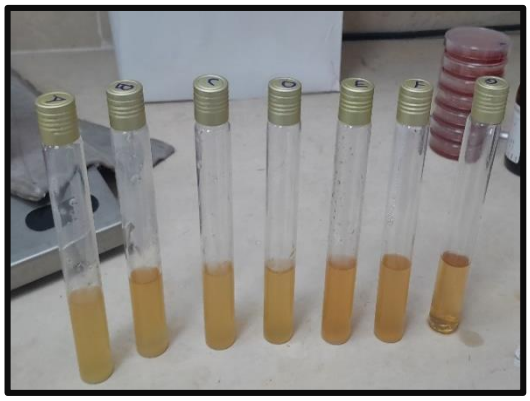
4-4- نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية التي أجريت للتأكد من تشخيص العزلات الجرثومية

الجدول(3) يبن نتائج الاختبارات الكيما حيوية لتشخيص الجراثيم *P.mirabilis* ،*S.typhi* *E.cloacae*

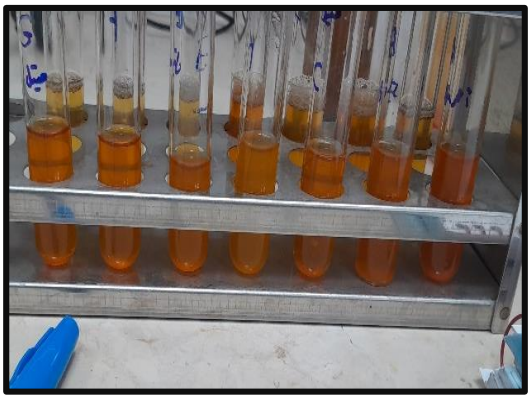
الجرثومة / الاختبار	الأندول	أحمر الميتيل	فوكس بروسكاور	سيمون سيترات	الأكسيداز	الكاتالاز
S. typhi	-	+	_	+	_	+
P. mirabilis	_	+	_	+	-	+
E.cloacae	-	-	+	+	-	+

الجدول (4) الاختبارات الكيماحيوية لتشخيص *S. aureus*:

الاختبار	سيمون سيترات	تخمير سكر المانتول	الكاتالاز	الأكسيداز	الدناز Dnase	المخثراز على الصفيحة	المخثراز في الأنبوب
النتيجة	+	+	+	-	+	+	+



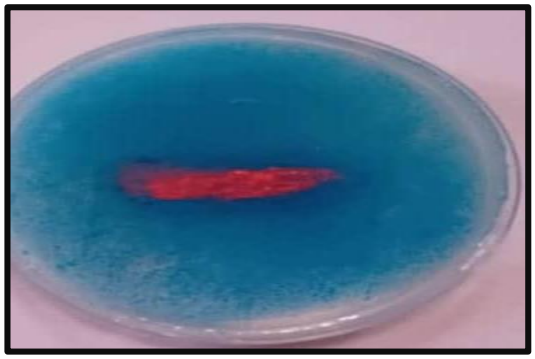
الشكل(7) اختبار الاندول للجراثيم المختبرة



الشكل (8) اختيار أحمر المتيل للجراثيم المختبرة

الشكل (9) اختبار سيمون سترات للجراثيم المختبرة

الشكل (10) اختبار المخثراز في الانبوب لتشخيص *S. aureus*

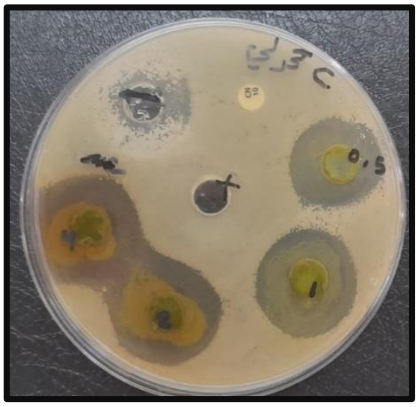


الشكل(11) اختبار الدناز لتشخيص *S. aureus*

4-5:نتائج الفعالية الحيوية للخلاصة الكحولية لنبات الميرمية:

ظهرت نتائج الدراسة أن المستخلص الكحولي لنبات *Salvia officinalis* امتلك نشاطاً تثبيطياً ملحوظاً ضد جميع العزلات الجرثومية المختبرة، شملت*Staphylococcus aureus* :، *Salmonella typhi*، *Enterobacter cloacae*، و .*Proteus mirabilis*وقد لوحظ ازدياد تدريجي في أقطار الهالة التثبيطية مع ارتفاع التركيز، حيث بلغ متوسط القطر عند أعلى تركيز (4 ملغم/مل) ما بين 39–40 مم، متجاوزاً بذلك الشاهد الإيجابي (قرص جنتامايسين 10 ميكروغرام)، الذي تراوحت أقطاره بين 21 و32 مم بحسب نوع البكتيريا.

تتوافق هذه النتائج مع ما أشار إليه [18]الذي أكد امتلاك الميرمية خواصاً مضادة للبكتيريا موجبة وسالبة غرام بفضل غناها بالفينولات والتانينات والزيوت الطيارة كما أظهرت دراسة[22] فعالية مثبطة للمستخلص الكحولي للميرمية ضد *S. aureus*، بقطر هالة بلغ 27 مم، وهو أقل من القيم المسجلة في هذه الدراسة، مما قد يُعزى إلى اختلاف المنشأ النباتي أو كفاءة الاستخلاص.
من جهة أخرى، دعمت نتائج [23]الفعالية العالية للميرمية ضد *Salmonella*و*Proteus*، إذ أظهرت الدراسة أن التراكيز العالية من المستخلص الكحولي كانت فعالة بوضوح .ووفقاً لدراسة [24] فإن المستخلص السكري والكحولي لـ *S. officinalis*تفوق في بعض الحالات على مضادات تقليدية مثل الأموكسيسيلين في تثبيط نمو *E. cloacae*، مما ينسجم مع النتائج الحالية لتشير هذه النتائج مجتمعة إلى أن مستخلص الميرمية الكحولي يمتلك فعالية حيوية عالية واسعة الطيف، مما يعزز من إمكانياته كبديل طبيعي واعد للمضادات الحيوية التقليدية، خصوصاً في ظل تنامي ظاهرة مقاومة المضادات الحيوية.

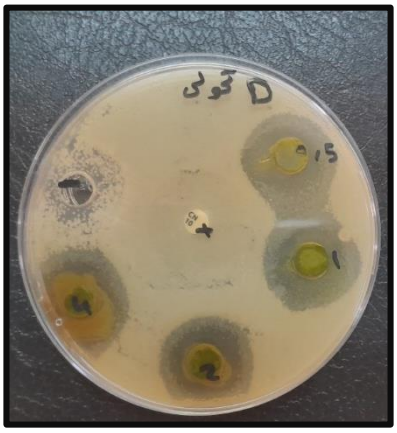


الشكل (12) *S. typhi*

المستخلص الكحولي vs الجنتامايسين

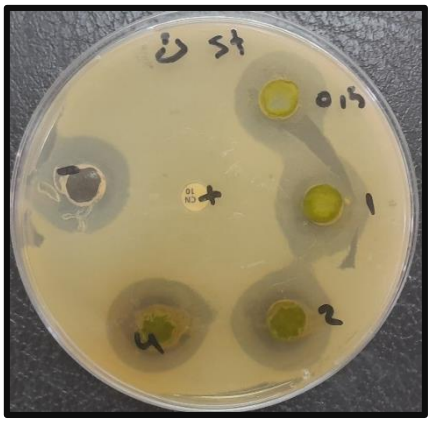
الشكل(13) *P. mirabilis*

المستخلص الكحولي vs الجنتامايسين



الشكل(14) *E.cloacae*

المستخلص الكحوليvs الجنتامايسين



الشكل(15) *S. aureus*

المستخلص الكحولي vsالجنتامايسين

4-6النتائج الإحصائية لأقطار الهالة التثبيطية:

يبين الجدول التالي النتائج الإحصائية(المتوسط ± الانحراف المعياري) لأقطار الهالة التثبيطية الناتجة عن فعالية المستخلص الكحولي ضد العزلات الجرثومية المختبرة، وذلك باستخدام أربعة تراكيز مختلفة، مقارنة مع الشاهد الإيجابي(جنتامايسين 10 ميكروغرام)

اسم الجرثومة	التركيز) ملغم/مل(	المتوسط ± الانحراف المعياري
S. aureus	0.5	31.7 ± 0.58
S. aureus	1	33.3 ± 0.58
S. aureus	2	36.0 ± 0.00
S. aureus	4	39.7 ± 0.58
S. aureus	جنتامايسين	21.3 ± 0.58
S. typhi	0.5	32.3 ± 0.58
S. typhi	1	33.7 ± 0.58
S. typhi	2	36.0 ± 0.00
S.typhi	4	40.0 ± 0.00
S. typhi	جنتامايسين	32.0 ± 0.00
E. cloacae	0.5	32.7 ± 0.58
E. cloacae	1	35.0 ± 0.00
E.cloacae	2	37.7 ± 0.58

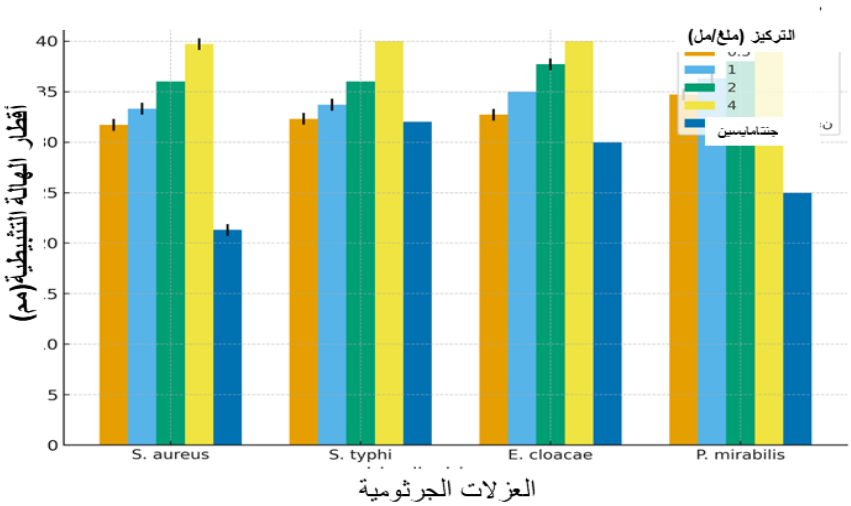
E.cloacae	4	40.0 ± 0.00
E. cloacae	جنتامايسين	30.0 ± 0.00
P. mirabilis	0.5	34.7 ± 0.58
P. mirabilis	1	36.3 ± 0.58
P.mirabilis	2	38.0 ± 0.00
P.mirabilis	4	39.7 ± 0.58
P.mirabilis	جنتامايسين	25.0 ± 0.00

أظهرت التحاليل الاحصائية، أن فعالية المستخلص الكحولي ازدادت تدريجياً مع ارتفاع التركيز لجميع العزلات الجرثومية المدروسة، وبقيمة **انحراف معياري منخفضة**، مما يعكس تجانساً في الأداء الحيوي.

بلغ أعلى متوسط تثبيطي ضد *S. aureus* عند تركيز 4 ملغم/مل نحو **39.6 ± 0.57مم**، مقارنة بـ **21.3 ± 0.57مم** للجنتامايسين، مما يدل على تفوق المستخلص في جميع التراكيز. كما أظهر المستخلص فعالية مماثلة ضد *S. typhi* **(40.0 ± 0.00) مم** عند التركيز الأعلى، مقابل **32.0 ± 0.00مم** للجنتامايسين. فيما يخص *E.cloacae*، بلغ المتوسط عند أعلى تركيز **40.0 ± 0.00مم**، مقابل **30.0 ± 0.00مم** للجنتامايسين. أما *P. mirabilis* فقد أظهر هو الآخر حساسية مرتفعة، حيث بلغ متوسط التثبيط **39.6 ± 0.57مم**، مقارنة بـ **25.0 ±0.00مم** للشاهد الإيجابي.تؤكد هذه النتائج الإحصائية أن المستخلص الكحولي للميرمية يتمتع بفعالية تثبيطية ثابتة وواسعة الطيف.تتفوق غالبًا على بعض المضادات الحيوية التقليدية مثل الجنتامايسين.وقد سبق أن أشار [18]إلى ارتباط هذه الفعالية العالية بوجود مركبات متعددة كالفينولات،التانينات، والزيوت الطيارة .كما بيّنت دراسة [25]أن المستخلصات الكحولية للنباتات

العطرية، ومنها الميرمية، تمتاز بفعالية مضادة للجراثيم بسبب قدرتها على اختراق الجدار الخلوي والتأثير على العمليات الأيضية.

الشكل (16): مقارنة بين متوسط أقطار مناطق التثبيط (بالمليمتر) للمستخلص الكحولي والمضاد الحيوي الجنتاميسين ضد أربع سلالات جرثومية. تمثل أشرطة الخطأ الانحراف المعياري.(n = 3)



5-الاستنتاجات والتوصيات:

5-1-الاستنتاجات :

أظهرت نتائج الدراسة أن المستخلص الكحولي لنبات *S. officinalis* يتمتع بنشاط مضاد للميكروبات واسع النطاق ضد أربعة سلالات جرثومية ممرضة معزولة من برغر الدجاج، مع ملاحظة تزايد التأثير التثبيطي بشكل طردي، بارتفاع تركيز المستخلص. وقد تفوق المستخلص

في معظم التراكيز المُختبرة على المضاد الحيوي القياسي الجنتاميسين (10 ميكروغرام/مل)، مما يدعم إمكاناتها كمادة طبيعية بديلة للمضادات الميكروبية.

كشفت التحاليل الكيميائية الأولية عن وجود مركبات نشطة بيولوجياً تشمل الفينولات والتانينات والزمر المرجعة، التي يُعتقد أنها المسؤولة الرئيسية عن التأثير التثبيطي الملاحظ. في المقابل، لم تُظهر النتائج وجوداً واضحاً لمركبات الفلافونويد أو القلويدات ضمن الطرق التحليلية المُستخدمة.

في ضوء هذه النتائج، يعد المستخلص الكحولي للميرمية مرشحاً واعداً كمضاد ميكروبي طبيعي، وكمادة حافظة عضوية لمكافحة التلف الميكروبي في منتجات اللحوم، وذلك تماشياً مع الاتجاه العالمي نحو بدائل طبيعية وآمنة بدلاً من المواد الحافظة الاصطناعية.

5-2- التوصيات:

- إجراء دراسات إضافية لفصل وتحديد المركبات الفعالة نوعياً في المستخلص الكحولي لنبات الميرمية، ولا سيما المركبات الفينولية والتانينية، لتحديد المركب أو المجموعة المسؤولة عن النشاط الحيوي.
- يُنصح بتوسيع الدراسة لتشمل أنواعاً أخرى من الجراثيم الممرضة والمقاوِمة للمضادات الحيوية، من أجل تقييم مدى فعالية المستخلص في حالات سريرية أو بيئية مختلفة.
- اختبار استخدام المستخلص الكحولي للميرمية كمادة حافظة طبيعية في حفظ اللحوم ومنتجاتها، من خلال تطبيقه ضمن نماذج غذائية واقعية (in situ) مع تقييم تأثيره على فترة الصلاحية وجودة المنتج.
- ينبغي تقييم السلامة السمية (Toxicity Profile) للمستخلص الكحولي عند الاستخدام الغذائي أو الصيدلاني، لضمان سلامته في التطبيقات البشرية.
- مقارنة الفعالية البيولوجية لمستخلص نبات الميرمية (*S. officinalis*) مع مستخلصات نباتية أخرى في الدراسات المستقبلية، لتقييم المزايا التركيبية والوظيفية من حيث الفاعلية الحيوية والقدرة على الحفظ.

6–المراجع

[1]. Lemle, K. L. (2018). *Salvia officinalis* used in pharmaceutics. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 294,* 012037.

[2]. Grzegorczyk-Karolak, I., Kuźma, Ł., & Wysokińska, H. (2015). The effect of plant growth regulators and elicitors on production of secondary metabolites in shoot cultures of *Salvia officinalis* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 122*(3), 453-460.

[3]. Perry, N. B., Anderson, R. E., Brennan, N. J., Douglas, M. H., McGimpsey, J. A., & Nicholass, A. M. (1999). Essential oils from Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.): variations among individuals, plant parts, seasons, and sites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47*(5), 2048-2054.

[4]. Cuvelier, M. E., Berset, C., & Richard, H. (1994). Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42*(3), 665-669.

[5]. Abu-Darwish, M. S., Cabral, C., Ferreira, I. V., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Al-bdour, T. H., & Salgueiro, L. R. (2013). Essential oil of common sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordan: Assessment of safety in mammalian cells and its antifungal and anti-inflammatory potential. *BioMed Research International, 2013,* 538940.

[6]. Šojić, B., Ikonić, P., Pavlić, B., Zeković, Z., Kocić-Tanackov, S., Đuragić, O., Tomović, V., Jokanović, M., Ivić, M., & Škaljac, S. (2021). Antioxidant and antimicrobial effects of ethanolic extracts of propolis, sage, and lavender on chicken sausages. *Journal of Food Processing and Preservation, 45*(6), e15473.

[7]. Kozlowska, M., Laudy, A. E., Przybyl, J., & Matlawska, I. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from *Lamiaceae* family. *Acta Poloniae Pharmaceutica, 72*(4), 757-767.

[8]. Raho, B., Benattouche, Z., Bevilacqua, A., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2016). Antimicrobial activity of extracts from

Salvia officinalis L. on some bacteria and yeast. *Research Journal of Biotechnology, 2*(5), 31-35.

[9]. Bachir, R. G., Benattouche, Z., Bevilacqua, A., & Corbo, M. R. (2016). *Antibacterial activity of ethanolic extracts from* *Salvia officinalis*. ResearchGate.

[10]. Shahneh, F. Z., Valiyari, S., Baradaran, B., Baghbanzadeh, A., Abdolalizadeh, J., & Shanehbandi, D. (2013). Inhibitory and cytotoxic activities of *Salvia officinalis* L. extract on human lymphoma and leukemia cells by induction of apoptosis. *Advanced Pharmaceutical Bulletin, 3*(1), 51-55.

[11]. Kouchmeshky, A., Jahanbakhsh-Godehkahriz, S., & Rostami, H. (2012). Antibacterial effect of thyme, peppermint, sage, black pepper, and garlic hydrosols against *Bacillus subtilis* and *Salmonella enteritidis*. *Journal of Food Research*, 1*(3), 160-164.

[12]. Jasim, B. M., & Mahmood, L. A. (2008). Study the inhibitory effect of *Salvia officinalis* extracts on the growth of some pathogenic bacteria. *Iraqi Journal of Biotechnology, 7*(1), 77-84.

[13]. Cappuccino, J. G., Welsh, C., & Sherman, N. (2019). *Microbiology: A laboratory manual* (11th ed.). Pearson.

[14]. MacFaddin, J. F. (2000). *Biochemical tests for identification of medical bacteria* (3rd ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

[15]. Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman and Hall.

[16]. Trease, G. E., & Evans, W. C. (2002). *Pharmacognosy* (15th ed.). Saunders Elsevier.

[17]. Sofowora, A. (1993). *Medicinal plants and traditional medicine in Africa* (2nd ed.). Spectrum Books Ltd.

[18]. Al-Snafi, A. E. (2015). The pharmacological importance of *Salvia officinalis* and its active constituents: A review. *Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 5*(4), 222–228.

[19]. El-Hawary, S. S., Yehia, M. M., Sobeh, M., & El-Batanony, M. H. (2012). Phytochemical study of *Salvia officinalis* L. cultivated in Egypt. *Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2*(10), 163–168.

[20]. Raal, A., Orav, A., & Arak, E. (2007). Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. *Natural Product Research, 21*(5), 406–411.

[21]. Ben Sassi, A., Harzallah-Skhiri, F., Bourgou, S., Aouni, M., & Bouzouita, N. (2014). Phytochemistry and biological activities of *Salvia officinalis* L. essential oil from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry, 7*(3), 421–426.

[22]. Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., & Przybylski, R. (2011). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry, 108*(3), 986–995.

[23]. Al-Syed, A. (2020). Antibacterial activity of *Salvia officinalis* extract against some pathogenic bacteria. *International Journal of Medical Research & Health Sciences, 9*(5), 33-38.

[24]. Karaman, I., Şahin, F., Güllüce, M., Öğütçü, H., Şengül, M., & Adıgüzel, A. (2003). Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Salvia officinalis* L. against some bacteria and fungi. *Turkish Journal of Biology, 27*(2), 143–150.

[25]. Farag, M. A., El-Kersh, D. M., El-Fiky, N. M., Rasheed, D. M., Hegazy, M. E. F., & Ehrlich, A. (2019). Antibacterial and anti-inflammatory activities of essential oils from Egyptian aromatic plants. *Journal of Applied Microbiology, 127*(6), 1641–1651.