# تأثير المستخلصين المائي والكحولي لبعض التوابل في نمو الفطرين *Asperigillus flavus* و *A.parasiticus* وإنتاجهما لسموم الأفلا .

صلاح عمر أحمد
قسم علوم الآغذية والتقانات ألاحيائية/كلية الزراعة والغابات/جامعة الموصل /العراق .

**الخلاصة**

درس تأثير المستخلصين المائي والكحولي للزعتر والزنجبيل و إكليل الجبل (الروزماري) في نمو الفطرين *Asperigillus flavus* و *A. parasiticus* وإنتاج سمي ا فلا $B_1$ و$G_1$ في وسطين غذائيين صلب وسائل ، إذ أضيفت المستخلصات بتراكيز صفر و ٢٥٠ و٥٠٠ و١٠٠٠ مايكروغرام/مل من الوسط الغذائي والتحضين بدرجة حرارة ٢٨° م لمدة ٧ أيام ثم حسبت النسب المئوية لتثبيط نمو الفطرين في كل من الوسطين وإنتاج سمي ا فلا أعلاه في الوسط السائل. دلت النتائج على أن للمستخلصات المدروسة تأثيراً معنوياً ( $P\leq 0.05$ ) في تثبيط نمو الفطرين السابقين وإنتاجسموم ا فلا بالقياس مع معاملة المقارنة . إذ ثبط نمو الفطرين في الوسط الصلب بنسب تراوحت ما بين ١٨ – ١٠٠ و٢٠,٥ - ١٠٠% عند إضافة المستخلصين المائي والكحولي للتوابل على التوالي ، فيما انخفض نمو الفطرين في الوسط السائل بنسب وصلت الى مابين ٣٩,٤ - ١٠٠ و ٣٨,٨- ١٠٠% عند إستخدام المستخلصين المائي والكحولي للتوابل ،على التوالي . كما إنخفض إنتاج سم ا فلا $B_1$ بوساطة الفطرين بنسب بلغت مابين ٢٠ -١٠٠ و ٢٢ - ١٠٠ % في حالة إضافة المستخلصين المائي والكحولي ، على التوالي ، وإنخفضنإتاج سم ا فلا $G_1$ بنسب تراوحت مابين ٤٤ ـ١٠٠ % عند إضافة المستخلصين المائي والكحولي للتوابل ،على التوالي . وأظهر كل من الزعتر والزنجبيل فاعلية أعلى في تثبيط النمو وإنتاج سمي أ فلا من إكليل الجبل .

## المقدمة

إن الفطريات التابعة للجنس *Asperigillus* وخلال إنتشارها الواسع ملوثة للعديد من المواد الغذائية من الممكن أن تفرز عدداً من السموم الفطرية ،إذ تشير التقارير الى ان ٢٥ % من مجموع الحبوب المنتجة في العالم سنوياً وجدت ملوثة بانواع من هذه السموم وخاصة سموم الافلا Aflatoxins التي تعد من العوامل المطفرة والمسرطنة ولها تأثير مثبط للجهاز المناعي في جسم الانسان والحيوان ،إن هذه السموم تنتج بواسطة سلالات تابعة للجنسين *A. flavus* و*A. parasiticus* (Mankevicienen وآخرون ،٢٠٠٦ وSudhakar وآخرون ، ٢٠٠٩) .

استخدم العديد من المواد الكيميائية والمضافات الطبيعية في تثبيط نمو الاحياء المجهرية الملوثة للمواد الغذائية وخاصة الفطريات (Krishna وآخرون ، ٢٠٠٧ وOzean وChalchat ، ٢٠٠٨) . إن المستخلصين المائي والكحولي والزيوت العطرية للعديد من المواد النباتية وخاصة التوابل وجدت فعالة في تثبيط انواعاً كثيرة من الفطريات وخاصة تلك المنتجة لسموم الافلا ( Thanaboripat وآخرون ، ٢٠٠٧) ، فقد وجد Soliman وBadea (٢٠٠٢) إن استخدام زيت الزعتر وبعض التوابل الاخرى ثبط نمو الفطرين *A.flavus* و *A.parasiticus* وإنتاج سموم الافلا بصورة واضحة بلغت الى نسبة ١٠٠ % عند التراكيز العالية من هذا الزيت ( ١% او أكثر) ولاحظ Farag وآخرون (٢٠٠٦) إن للزيوت العطرية لبعض التوابل مثل الزعتر والدارسين وإكليل الجبل والقرنفل وغيرها تأثيراً مثبطاً لنمو الفطر *A.parasiticus* وإنتاج سموم ا فلا وكان للزعتر والدارسين التأثير الاعلى في تثبط نمو هذا الفطر وإنتاج السموم . فيما بين Ilondu وIloh (٢٠٠٧) إن إضافة زيت الزنجبيل أو الفلفل الاسود بتراكيز ١-٦ % ثبط تكوين الكتلة الحيوية للفطر *A. flavus* وبين Mahmoud (٢٠٠٨) عند دراسته لتأثير ٢٠ نوعاً من الزيوت العطرية ومنها زيت الزعتر في نمو الفطر *A. flavus* أنه مثبط لنمو هذا الفطر وإنتاج سموم الافلا. ودرس Ozkalp وOzcan (٢٠٠٩) تأثير المستخلص المائي للعديد من التوابل مثل إكليل الجبل واليانسون والكمون والزعتر والسماق في نمو الفطر *A. flavus* في وسط آجار البطاطا والـ Czapek-Dox agar إذ لاحظا أن المستخلص المائي للزعتر ثبط تكوين الغزل الفطري بنسبة ١٠٠%

تاريخ تسلم البحث ١٠ / ٥ / ٢٠١٠ وقبوله ٢٠١٠/١٠/٤

خلال مدة التحضين البالغة ٢-١١ يوماً . ولاحظ Reddy وآخرون (٢٠٠٩) أن نمو الفطر *A. flavus* ثبط بنسب تراوحت ما بين ٦٥- ٧٨ % وان انتاج سم الافلا $B_1$ ثبط بنسب تراوحت مابين ٧٢,٢-٨٥,٧ % عند إضافة مستخلصات بعض انواع التوابل وأزداد التثبيط بزيادة التراكيز المضافة من هذه المستخلصات.

هدف الدراسة الحالية هو التعرف على تأثير إضافة تراكيز مختلفة من المستخلصين المائي والكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل في نمو الفطرين *A. flavus* و*A. parasiticus* في الوسطين الصلب والسائل وإنتاج سمي الافلا B1 و G1 .

## مواد البحث وطرائقه

**الفطريات**:-إستخدمت عزله محلية منتجة لسموم الافلا للفطر *A flavus* تم جرى عزلها من الحبوب ووفق مابينه Pitt (١٩٨٥) ، فيما إستخدمت عزلة الفطر *A.parasiticus* NRRL 2999 في الدراسة .

**المستخلصات المستخدمة في الدراسة** :-جرى تحضير المستخلص المائي والكحولي لكل من الزعتر *Thymus vulgaris* (Thyme) والزنجبيل *Zingibea oficinale* ( Ginger) وإكليل الجبل *Rosemarinus officinalis* (Rosemary) تم الحصول عليها من أسواق مدينة الموصل، إذ إستخدم في التحضير ١٠٠ غم من كل من التوابل الثلاث وحضر المستخلص المائي وفق ما ورد في Ozkalp و Ozcan (٢٠٠٩) فيما حضر المستخلص الكحولي للتوابل وفق ما ذكره Thanaboripat وآخرون(٢٠٠٧) .عقمت المستخلصات بجهاز الموصدة (Autoclave)وحفظت بدرجة حرارة الثلاجة لحين الاستعمال .

**الفعالية التثبيطية لمستخلص التوابل** :- جرى أختبار فعالية المستخلصين المائي والكحولي للتوابل الثلاث على الفطرين السابقين كما يأتي :-

**الوسط الصلب** :- إستخدمت بيئة آجار البطاطا (PDA) مصدرها شركة Alpha امريكية إذ عقمت بجهاز الموصدة ، ثم وزعت على أطباق بتري معقمة قطرها ١٠٠ملم بواقع ١٥مل ثم تركت الاطباق لليوم التالي ولقحت بـ ٠,٥ مل من المعلق السبوري للفطرين *A. flavus* و*A. parasiticus* (الحاوي على $^{6}$١٠ سبور/ مل ، تم عد السبورات بطريقة التخافيف ووفق ما ذكر في Harrigan وآخرون (١٩٧٦) وجرى توزيع السبورات بصورة متجانسة في إنحاء الطبق بإستخدام قضيب زجاجي معقم . ثم أضيف كل من المستخلص المائي والكحولي بتراكيز صفرو٢٥٠ و٥٠٠ و١٠٠٠ مايكروغرام/مل من البيئة على أقراص من ورق ترشيح رقم (١) أقطارها ٥ ملم معقمة في وسط الطبق وحصنت الاطباق بدرجة حرارة ٢٨ م لمدة ٧ أيام إذ جرى قياس المناطق الرائقة حول ألاقراص وحساب النسب المئوية للتثبط ( Ahmad وآخرون ،٢٠٠٣).

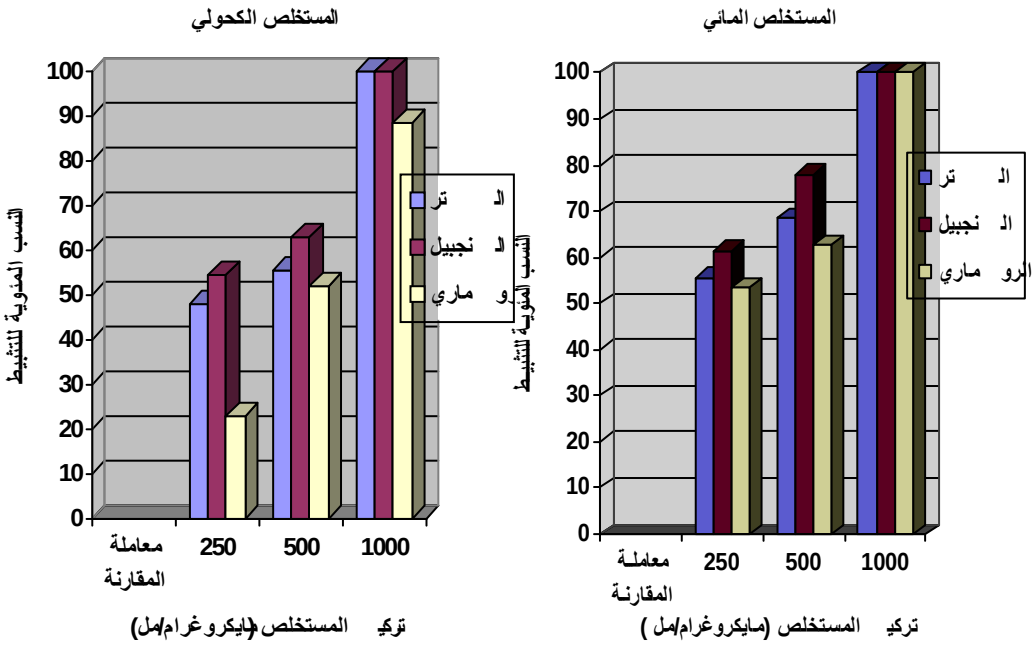
**الوسط السائل** :- استخدم الوسط السائل الوارد في Yousef وMarth (١٩٨١) اذ جرى توزيع الوسط في دوارق زجاجية سعة ٢٥٠ مل وبواقع ٢٣ مل من الوسط وعند رقم هيدروجيني (pH) ٥,٥ اذ عقمت الدوارق بجهاز الموصدة بدرجة حرارة ١٢١ درجة مئوية لمدة ٢٠دقيقة ثم بردت وأضيف اليها ٢ مل من محلول ٥٠ % كلوكوز معقم . جرى بعدئذ اضافة التراكيز المستخدمة في الدراسة من كل من المستخلصين المائي والكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل واكليل الجبل وبتراكيز صفرو٢٥٠ و٥٠٠ و١٠٠٠ مايكروغرام/مل بيئة ثم لقحت الدوارق بـ ١مل من المعلق السبوري للفطرين *A. flavus* و*A. parasiticus* وحصنت الدوارق بدرجة حرارة ٢٨ درجة مئوية لمدة ٧ أيام وجرى قياس نمو الفطرين بقياس وزن الغزل الفطري الجاف وبحسب الطريقة الواردة في Ahmad وآخرون (٢٠٠٣) وحسبت النسب المئوية لتثبط نمو الفطر بحسب طريقة Satish وآخرون (٢٠٠٧) فيما جرى استخلاص سموم الافلا $B_1$ و $G_1$ بطريقة اتحاد الكيميائيين التحليليين (Anonymous ،١٩٨٠) ومن ثم فصلت بأستخدام صفائح كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة ( TLC ) سمكها ٠,٢٥ ملم ( شركة Merck الالمانية ) وباستخدام محلول تطوير كلورفورم :ميثانول٩٧( ٣) حسب ماذكره Jones (١٩٧٢) وقدرت سموم الافلا كمياً وفق طريقة Nabney وNisibitt (١٩٦٥) وحسبت النسب المئوية لتثبيط انتاج سموم الافلا وفق الطريقة التي أتبعها Ahmad وآخرون (٢٠٠٣) .

حللت النتائج إحصائياً وفق نظام التجارب البسيطة والعاملية باستخدام التصميم العشوائي الكامل

C.R.D. وأجري إختبار دنكن بمستوى إحتمال ٠,٠٥ووفق ماجاء في البرنامج الاحصائي الجاهز Anonymous (٢٠٠٧).

## النتائج والمناقشة

**تاثير المستخلصات في النمو في الوسط الصلب** :- يبين الشكل ( ١) ان للمستخلصين المائي والكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل تاثيراً معنوياً ( $P \leq 0.05$ ) في تثبيط نمو الفطرين *A. flavus* و*A. parasiticus* . إن هناك تاثيراً واضحاً للمستخلص المائي للتوابل الثلاث في نمو الفطر *A. flavus* في بيئة آجار البطاطا مقارنة مع معاملة المقارنة وكان التركيز الاقل فاعليه هو ٢٥٠ مايكروغرام مستخلص/مل من الوسط الغذائي اذ بلغ ٥٥,٦ و٦١,٥و٥٣,٣% لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل ، على التوالي ، فيما إزداد التأثير بزيادة التركيز ليصل الى حد التثبيط الكامل لنمو الفطر السابق بعد اضافة ١٠٠٠ مايكروغرام من المستخلص المائي / مل من الوسط الغذائي من الشكل (١) يتضح أن للمستخلص الكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل تأثيراً مثبطاً لنمو الفطر *A. flavus* و أعتمدت نسب التثبيط على نوع وتركيز المستخلص الكحولي المستخدم . ففي حين كانت النسب المئوية لتثبيط نمو الفطر السابق على البيئة الصلبة (آجار البطاطا) بلغت ٤٧,٨ و٥٤,٦ و٢٣ % يعد اضافة ٢٥٠ مايكروغرام / مل من الوسط من المستخلصات الثلاث السابقة فقد أزدادت نسب تثبيط نمو الفطر أعلاه بنسب ١٠٠ % لكل من الزعتر والزنجبيل و٨٨,٥ % في حالة إكليل الجبل بعد اضافة ١٠٠٠ مايكروغرام / مل من الوسط . من هذا يتضح الدور الفعال لاضافة المستخلصين المائي والكحولي في تثبيط نمو الفطر *A.flavus* وبالتراكيز المستخدمة في الدراسة الا أن إستخدام التركيز ١٠٠٠ مايكروغرام / مل من البيئة الصلبة كان الاكثر تأثيراً خاصة بالنسبة للزعتر والزنجبيل وقد يرجع ذلك الى إحتواء هذه التوابل على العديد من المواد الفعالة ذات القابلية على تثبيط انواعاً كثيرة من الفطريات وخاصة الفطر *A. flavus* مثل Thymol وP-cymene وLinalool و Limonen وCamphene



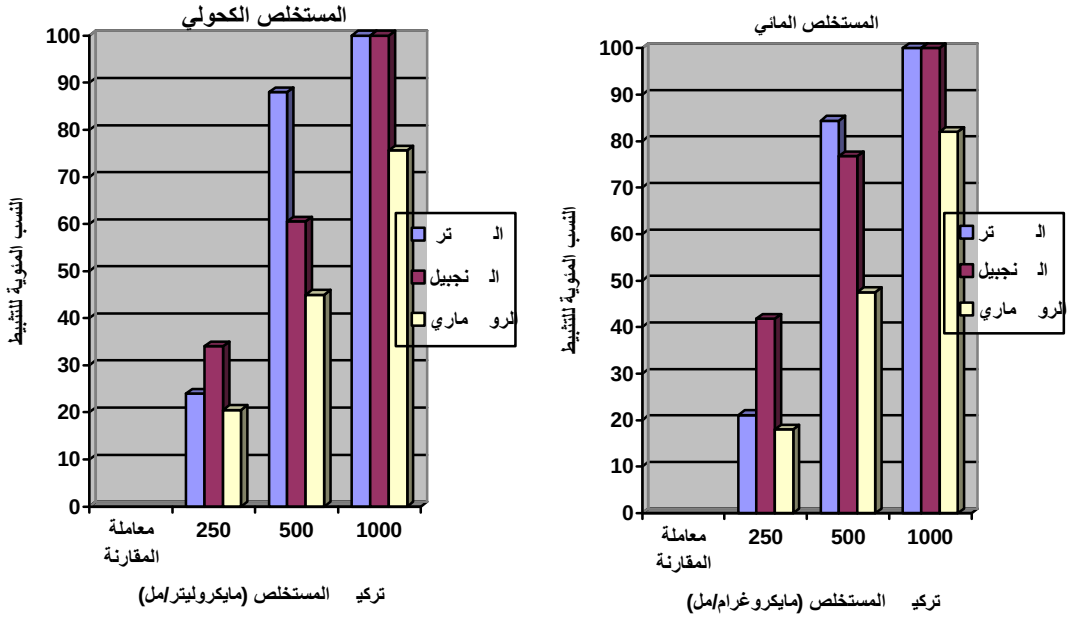

الشكل (١): النسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A. flavus* في وسط آجار البطاطا PDA .

وغيرها (Anonymous، ٢٠٠٣ وOzcan وChalchat، ٢٠٠٨ ) ذات التأثير الفعال ضد الفطريات وخاصة *A.flavus* وهو يوافق ما وجده Mahmoud (٢٠٠٨) الذي بين أن للزيوت العطرية لبعض التوابل مثل الزعتر تثبط نمو الفطر السابق بنسبة ١٠٠ % عند اضافة هذا الزيت بنسبة ١٠٠٠ جزء بالمليون .

من الشكل (٢) يتضح أن للمستخلص المائي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل تأثيراً مثبطاً لنمو الفطر *A. parasiticus* وأعتمدت نسب التثبيط على نوع المستخلص المائي والتركيز المضاف منه الى الاقراص المثبتة في بيئة النمو (بيئة آجار البطاطا ) ، ففي حين كانت نسب تثبيط نمو الفطر السابق كانت ٢١,١ و ٤١,٨ و ١٨ % في حالة اضافة ٢٥٠ مايكروغرام من كل من المستخلص المائي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل / مل من الوسط الغذائي ، على التوالي، إزدادت نسب التثبيط بزيادة التراكيز المضافة من هذه المستخلصات ليبلغ ١٠٠ % في حالة الزعتر والزنجبيل و٨٢ % في حالة اضافة المستخلص المائي لاكليل الجبل في تركيز ١٠٠٠ مايكروغرام / مل .

أما اضافة المستخلص الكحولي (الشكل ٢) فقد حصل انخفاض في نسب تثبيط نمو الفطر اعلاه عما كان في المستخلص المائي للتوابل الثلاث ولكن نسب التثبيط تفاوت كذلك بتفاوت نوع المستخلص الكحولي والتراكيز المضافة منه اذ بلغت ٢٤ و٣٤ و٢٠,٥ % بعد اضافة المستخلص الكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل ، على التوالي ، بتركيز ٢٥٠ مايكروغرام / مل من الوسط وأزدادت هذه النسب لتصل الى ١٠٠ % بعد اضافة المستخلص الكحولي للزعتر والزنجبيل و ٧٥,٦ % في حالة إكليل الجبل عند اضافة هذا المستخلص بتركيز ١٠٠٠ مايكروغرام / مل من الوسط الغذائي الصلب .

من هنا يمكن القول ان للمستخلص المائي والكحولي للتوابل الثلاث تاثيراً فعالاً في خفض وزن المايسليوم الجاف الذي يكونه الفطر *A. parasiticus* في الوسط الغذائي السائل وتبين من النتائج ان المستخلصين المائي والكحولي للزعتر والزنجبيل تاثيراً مثبطاً اعلى مما في حالة إكليل الجبل في خفض نمو الفطر السابق وتكوينه للكتلة الحيوية ويرجع ذلك الى ما تحتويه التوابل الثلاث من مركبات فعالة من الممكن أن يعزى لها التأثير المثبط لنمو هذا الفطر وهذه النتائج تتطابق مع ماوجده Rasooli وآخرون (٢٠٠٩) الذين لاحظوا حصول تثبيط تام لنمو الفطر *A. parasiticus* عند إضافة الزيت العطري لبعض التوابل مثل الزعتر الى وسط النمو .

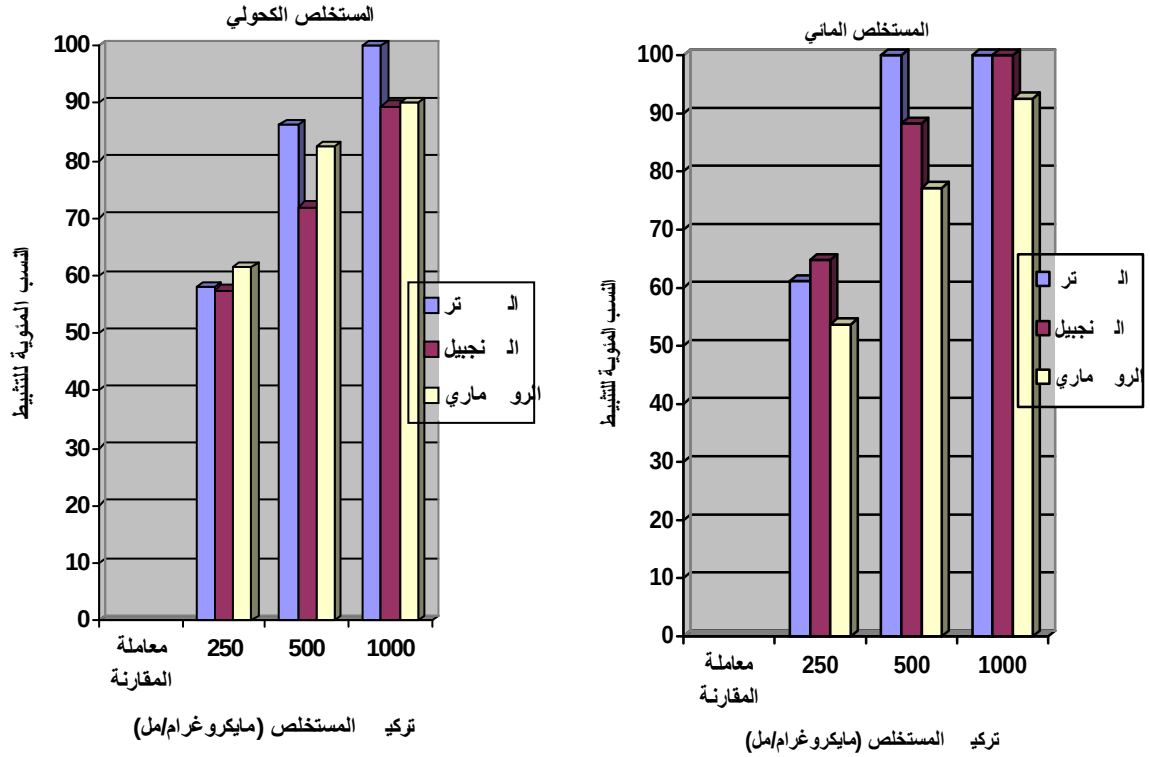



الشكل (٢): النسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A. parasiticus* في وسط آجار البطاطا PDA.

**تاثير المستخلصات في النمو في الوسط السائل** :- كما حصل في الوسط الصلب فإن إضافة المستخلصين المائي والكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل الى الوسط السائل أحدث خفضاً ( $P \leq 0.05$ ) ملحوظاً واحياناً تاماً في نمو الفطرين *A. flavus* و*A. parasiticus* فمن الشكل (٣) يتبين أن اضافة المستخلص المائي الى الوسط السائل المنمى عليه الفطر *A. flavus* قد ثبط نمو الفطر

بنسب مئوية متفاوتة بحسب نوع التوابل والتركيز المضاف إذ يلاحظ من الشكل أن اضافة المستخلص المائي للتوابل الثلاث السابقة بالحد الادنى المستخدم في الدراسة (٢٥٠ مايكروغرام / مل من الوسط الغذائي ) إذ بلغت ٦١,١ و٦٤,٨ و ٥٣,٧ % للمستخلص المائي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل على التوالي ، وحصلت زيادة في النسب تثبط نمو الفطر اعلاه عند زيادة التراكيز المضافة من هذا المستخلص لتبلغ حد التثبت التام عند إضافة المستخلص المائي للزعتر والزنجبيل و٩٢,٦% في حالة إكليل الجبل المضافة الى الوسط المائي بتركيز ١٠٠٠ مايكروغرام / مل من الوسط السائل .

ومن الشكل (٣) كذلك يلاحظ أيضاً أن نمو الفطر *A. flavus* قد انخفض في الوسط الغذائي السائل بعد اضافة المستخلص الكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل مقارنة مع معاملة المقارنة فيما تفاوتت النسب المئوية للتثبيط إعتماداً على طبيعة وتركيز المستخلص المضاف فقد إنخفض نمو الفطراعلاه بنسب ٥٨ و ٥٧,٤ و٥٥,٣ % بعد اضافة ٢٥٠ مايكروغرام من المستخلص الكحولي للتوابل الثلاث عند إضافة المستخلص الكحولي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل بتركيز ١٠٠٠ مايكروغرام / مل من هذه التوابل ،على التوالي .
السابقة ، على التوالي ، وإزداد إلى ١٠٠ و٨٩,٥ و٩٠ %

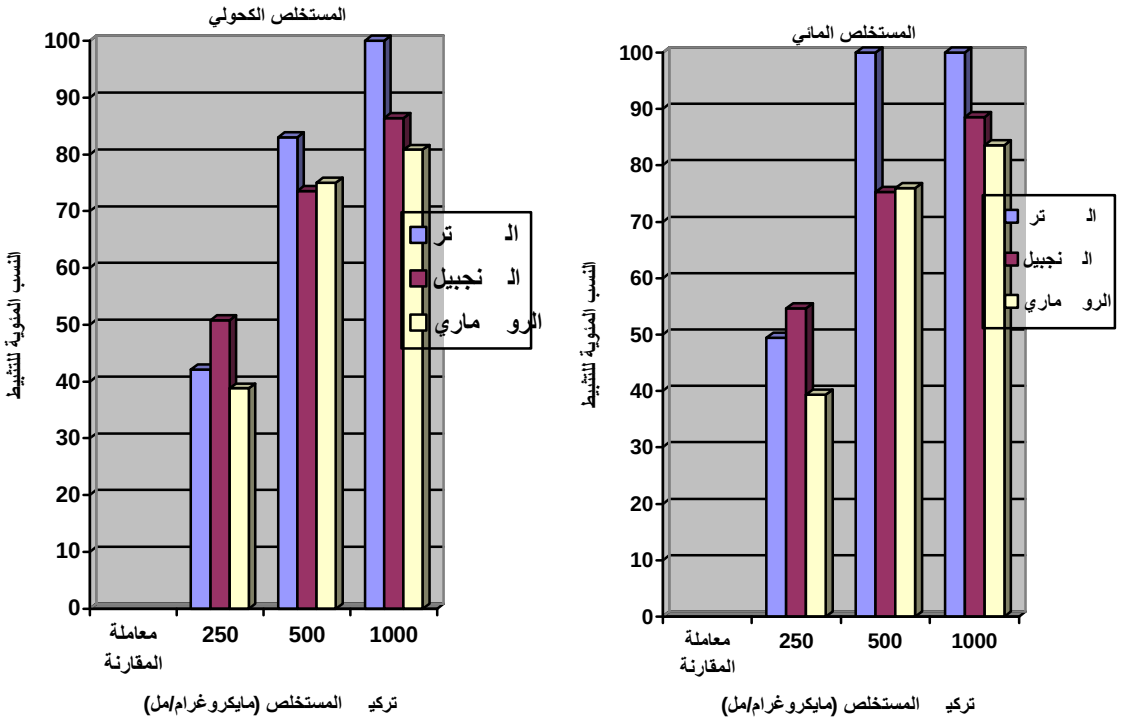



الشكل (٣): النسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A. flavus* في الوسط الغذائي السائل .

ومما لاشك فيه فان تاثير المستخلصين المائي والكحولي للتوابل الثلاث وما تحتويه من مركبات فعالة أدى الى التاثير في نمو الفطر *A. flavus* في الوسط الغذائي السائل إذ خفض من قدرة الفطر على تكوين الغزل الفطري ولذا حصل تثبط لنمو هذا الفطر خاصة عند التركيز العالي المستخدم في الدراسة من المستخلصين المائي الكحولي ( ١٠٠٠ مايكروغرام/مل )وهذا يتفق مع ما أشار اليه Llondu و Lloh (٢٠٠٧) و Thanaboripat وآخرون (٢٠٠٧) الذين لاحظوا أن المستخلصات المائية والزيوت العطرية لبعض التوابل مثل الزعتر والزنجبيل كان لها تأثيراً مثبطاً واضح في نمو الفطر *A. flavus* وخفض من قدرة هذا الكائن على تكوين الكتلة الحيوية.

من الشكل (٤) يبدو ان نمو الفطر *A. parasiticus* قد انخفض كذلك بوجود المستخلصين المائي والكحولي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل وإتضح هذا من الموازنة مع معاملة المقارنة وأثر كل من نوع وطبيعة وتركيز المستخلص في تحديد نسب تثبيط بناء جسم الفطر وتكوين الغزل الفطري . إذ

يتضح أن إضافة المستخلص المائي بالتركيز الاقل المستخدم في الدراسة (٢٥٠مايكروغرام/ مل ) ثبط نمو الفطر اعلاه بنسب ٤ , ٤٩ و ٧, ٥٤ و ٤, ٣٩% للتوابل الثلاث السابقة ، على التوالي ، فيما ازدادت هذه النسب بزيادة التركيز المضاف من المستخلص المائي لتصل الى ١٠٠ و٥ ,٨٨ و ٨,٥٣ % ،على التوالي ، بعد اضافة المستخلص المائي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل بتركيز ١٠٠٠ مايكروغرام/ مل من الوسط السائل .




الشكل (٤): النسب المئوية لتثبيط نمو الفطر *A. parasiticus* في الوسط الغذائي السائل .

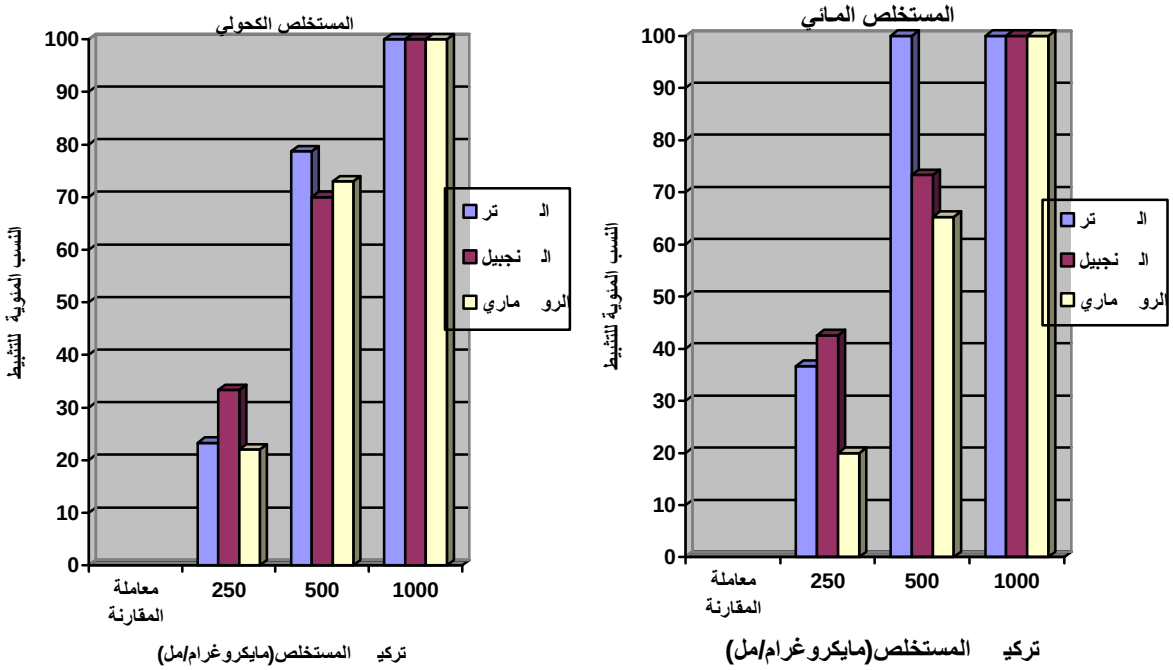
ومن الشكل نفسه يتبين أن المستخلص الكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل قد خفض من قدرة الفطر A. parasiticus على النمو وتكوين الكتلة الحيوية المتمثلة بالغزل الفطري وإزداد هذا التاثير بزيادة التراكيزالمضافة من هذا المستخلص كما اثر نوع المستخلص كذلك تحديد النسب المئوية لتبيط نمو الفطر وتكوين الغزل الفطري إذ يلاحظ أن إضافة المستخلص الكحولي للتوابل الثلاث بتركيز ٢٥٠ مايكروغرام من المستخلص الكحولي للتوابل الثلاث / مل من الوسط السائل ثبط نمو الفطر اعلاه بنسب١, ٤٢ و ٥٠,٨ و ٨, ٣٨ % ،على التوالي ، واصبح التاثير اكثر وضوحاً عند إضافة هذا المستخلص ولكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل بتركيز ١٠٠٠مايكروغرام / مل من الوسط اذ بلغت نسب تثبيط نمو الفطر A.parasiticus ١٠٠ و ٤, ٨٦ و ٨ ,٨٠ % على التوالي .

ومثلما ذكرنا في معرض مناقشة تاثير المستخلصين المائي و الكحولي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل في نمو الفطر A.flavus في الوسط السائل فان هذه المستخلصات خفضت من قدرة الفطر A. Parasiticus على النمو وتكوين الغزل الفطري ولنفس ا سباب التي ذكرت سابقاً وهذه النتائج تتفق مع ماوجده Soliman و Badeaa (٢٠٠٢) اللذان لاحظا حصول تثبيط بنسب وصلت الى مابين ٨٥ – ١٠٠% لنمو الفطر اعلاه عند إضافة مستخلص الزعتر بتراكيز ٢٥٠ـ١٠٠٠ جزء بالمليون ومع ماذكره Ozcan و Chalchat (٢٠٠٨) اللذان لاحظا أن لإكليل الجبل تأثيراً مثبطاً لنمو العديد من أنواع الفطريات لما يحتويه من مركبات فعالة مثل P-cymene و الـ Thymol وغيرها .

**تأثير المستخلصات في إنتاج سموم الأفلا :** أصبح واضحاً من خلال مناقشة التأثير الفاعل للمستخلصين المائي والكحولي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل في تثبيط نمو الفطرين *A. flavus* و *A. parasiticus* أن هذا التأثير في النمو وتكوين الغزل الفطري أدى كذلك الى خفض

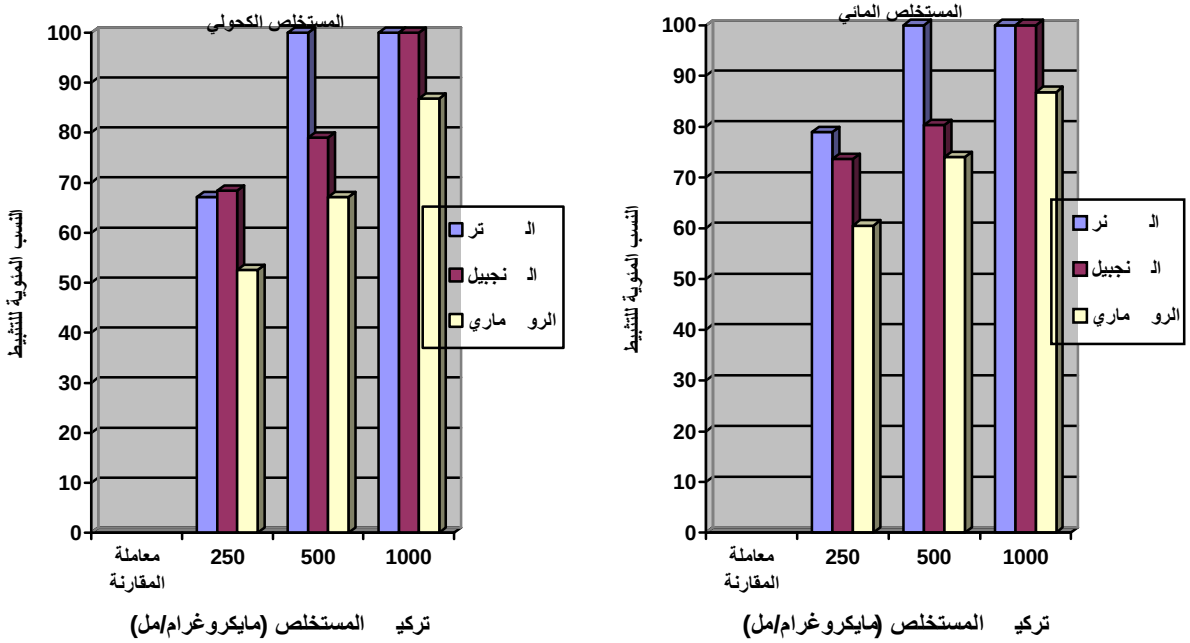
معنوي ( $P\leq 0.05$ ) في قدرة الفطرين على إنتاج سموم الافلا كذلك ومن ملاحظة الشكل ( ٥ ) يتضح أن قدرة الفطر *A. flavus* على إنتاج سم الافلا $B_1$ قد تأثر بأضافة المستخلصين المائي والكحولي للتوابل الثلاث مقارنة مع المعاملة القياسية فمن الشكل يلاحظ أن إضافة المستخلص المائي بتركيز ٢٥٠ مايكروغرام/مل من الوسط السائل خفض إنتاج السم بنسب بلغت ٣٦,٧ و ٤٢,٦ و٢٠% للتوابل الثلاث ، على التوالي ، وإزدادت النسب بزيادة التراكيز المضافة من هذا المستخلص لتصل الى ١٠٠ % بعد إضافة المستخلص المائي للزعتر بتركيز ٥٠٠ و١٠٠٠ مايكروغرام/مل أو إضافته بتركيز ١٠٠٠ مايكروغرام/مل لكل من الزنجبيل وإكليل الجبل.

من الشكل نفسه تتضح فاعلية المستخلص الكحولي في خفض إنتاج سم الافلا $B_1$ بوساطة الفطر *A. flavus* إذ أن إضافة هذا المستخلص بتركيز ٢٥٠ مايكروغرام/مل من الوسط خفض إنتاج الفطر السابق من السم بنسب ٢٣,٣ و٣٣,٣ و٢٢% للتوابل الثلاث ،على التوالي، ثم إزدادت النسب وبلغت ١٠٠% بعد إضافة المستخلص الكحولي للتوابل المستخدمة في الدراسة بتركيز ١٠٠٠ مايكروغرام/مل من الوسط الغذائي .




الشكل(٥)النسب المئوية لتثبيط إنتاج سم ا فلا $B_1$ بوساطة الفطر *A. flavus* في الوسط الغذائي السائل .

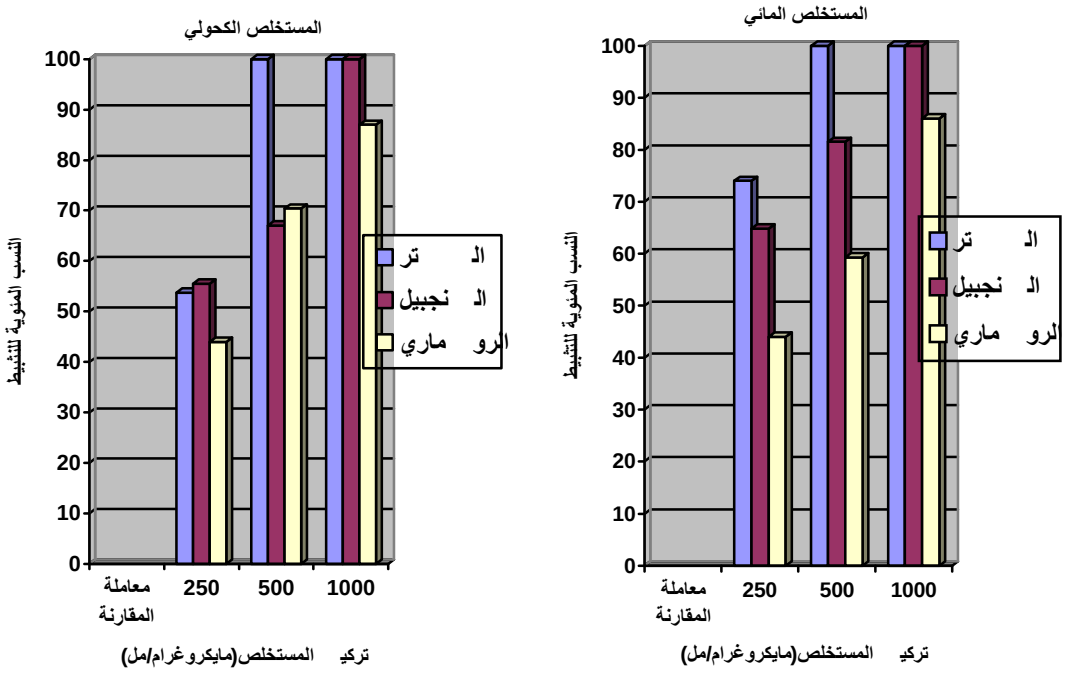
من هنا يتضح أن تأثر نمو الفطر *A. flavus* بالمستخلصين وللتوابل الثلاث أدى الى خفض قدرته على انتاج سم الافلا $B_1$ الى حد تثبيط إنتاجه تماماً من هذا الفطر ومما لاشك فيه فإن إحتواء التوابل الثلاث على العديد من المواد الفعالة مثل الـ Thymol و الـ Camphene والـ Limonen وغيرها له التأثير ا كبر في تثبيط إنتاج سم ا فلا $B_1$ وهو يوافق ماوجده Mahmoud (٢٠٠٨) الذي لاحظ أن إضافة بعض الزيوت العطرية مثل زيت الزعتر بتركيز ٢٠٠ – ١٠٠٠ جزء بالمليون قد ثبطنإنتاج سموم ا فلا بوساطة الفطر *A. flavus* . ومن الشكل (٦) يتضح أننإنتاج سم ا فلا $B_1$ بوساطة الفطر *A. parasiticus* قد تأثر بإضافة المستخلصين المائي والكحولي للتوابل الثلاث المستخدمة في الدراسة عند مقارنتها مع المعاملة المقارنة وتفاوتت نسب تثبيط إنتاج هذا السم باختلاف نوع وطبيعة وتركيز المستخلص المضاف .




الشكل (٦)النسب المئوية لتثبيط إنتاج سم ا فلا $B_1$ بوساطة الفطر *A. parasiticus* في الوسط الغذائي السائل.

إذ يلاحظ أن إضافة المستخلص المائي لكل من الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل بتركيز ٢٥٠ مايكروغرام/مل الوسط السائل خفض إنتاج السم من الفطر السابق بنسب ٧٨,٩ و ٧٣,٧ و ٦٠,٥ % للتوابل الثلاث ، على التوالي ، ثم إزدادت بزيادة التركيز المضاف من المستخلص المائي للتوابل الثلاث وبلغت ١٠٠% عند إضافة المستخلص المائي للزعتر والزنجبيل و٨٦,٨ % بعد إضافة مستخلص إكليل الجبل بتركيز ١٠٠٠ مايكروغرام/مل من الوسط الغذائي . من الشكل أعلاه يتبين أن إضافة المستخلص الكحولي خفض من إنتاج سم ا فلا $B_1$ بوساطة الفطر *A. parasiticus* إذ إنخفض الانتاج بنسب ٦٧,١ و٦٨,٤ و٥٢,٦ % بعد إضافة المستخلص الكحولي للتوابل الثلاث بتركيز ٢٥٠ مايكروغرام/مل من الوسط الغذائي ثم إزدادت نسب تثبيط إنتاج السم بعد إضافة هذا المستخلص بتركيز ١٠٠٠مايكروغرام/مل من الوسط الغذائي لتصل حد التثبيط التام في حالة إضافة مستخلصي الزعتر والزنجبيل وبنسبة ٨٦,٨ % في حالة إضافة المستخلص الكحولي لإكليل الجبل .

أما نسب تثبيط إنتاج سم ا فلا $G_1$ بوساطة الفطر *A. parasiticus* فيلاحظ من الشكل ( ٧) إذ يتبين أن إضافة المستخلصين المائي والكحولي خفضا إنتاج هذا السم بوتائر مختلفة معنوياً تبعاً للعوامل المدروسة وهي مختلفة تماماً عن معاملة المقارنة.إذ يتضح من الشكل السابق أن المستخلص المائي للزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل خفض إنتاج سم ا فلا $G_1$ بنسب ٧٤ و٦٤,٨ و٤٤ % ،على التوالي بعد إضافة هذا المستخلص بتركيز ٢٥٠مايكروغرام/مل ، ثم إزدادت الى ١٠٠ % عندما أضيف المستخلص المائي للزعتر والزنجبيل و٨٦% عند إضافة مستخلص إكليل الجبل بتركيز ١٠٠٠مايكروغرام/مل . من الشكل السابق يتضح كذلك فاعلية المستخلص الكحولي في خفض إنتاج سم ا فلا $G_1$ بوساطة الفطر *A. parasiticus* إذ أن إضافة مستخلص الزعتر والزنجبيل وإكليل الجبل بتركيز ٢٥٠مايكروغرام/مل أدى الى خفض إنتاج السم بنسب ٥٣,٧ و٥٥,٥ و٤٤ % ،على التوالي ثم إزدادت النسب بعد وصول التركيز المضاف من هذا المستخلص الى ١٠٠٠ مايكروغرام/مل لتصبح ١٠٠% في حالة إضافة مستخلص الزعتر والزنجبيل و٨٧ % في حالة إضافة مستخلص إكليل الجبل .




الشكل (٧): النسب المئوية لتثبيط إنتاج سم ا فلا $G_1$ من الفطر *A. parasiticus* في الوسط الغذائي السائل .

إن هذه النتائج تظهر الفعالية للمستخلصين المائي والكحولي للتوابل الثلاث المستخدمة في الدراسة في تثبيط إنتاج سمي ا فلا $B_1$ و$G_1$ بوساطة الفطر *A.parasiticus* ، ومما لاشك فيه فأن ماتحتويه هذه التوابل من مواد فعالة خفض من قدرة الفطر على تكوين الغزل الفطري وبالتالي ثبط إنتاج هذه السموم خاصة عند إضافة هذين المستخلصين بالتركيز ا على المستخدم في الدراسة والذي أدى الى تثبيط تام في حالة مستخلصات الزعتر والزنجبيل وشبه تام في حالة إضافة مستخلصات إكليل الجبل . إن النتائج هذه تتطابق مع ماوجده Farag وآخرون (٢٠٠٦ ) و Rasooli وآخرون (٢٠٠٩ ) الذين أكدوا أن للزيوت العطرية ومستخلصات بعض التوابل مثل الزعتر وإكليل الجبل تأثير مثبط لإنتاج سموم ا فلا بلغت حد التثبيط التام .

## EFFECT OF AQUEOUS AND ALCOHOLIC EXTRACTS OF SOME SPICES ON GROWING OF *Asperigillus flavus* AND *A. parasiticus* AND AFLATOXIN PRODUCTION

**Salah Omer Ahmad**
Food Science Dept./ College of Agriculture and Forestry/ Mosul University, IRAQ

## ABSTRACT

The effect of aqueous and alcoholic extracts of thyme, ginger and rosemary (garland) on growing of *Asperigillus flavus* and *A. parasiticus* and their production of aflatoxins $B_1$ and $G_1$ in solid and liquid media was studied. The extracts were added at 0, 250, 500 and 1000 ug/ml of media and incubated at 28º for 7 days. The percents of growth inhibition of the two fungi were calculated in both media and aflatoxins production was tested in liquid

medium. Results showed that the extracts were active on fungi growth inhibition and aflatoxins production. Results also showed that 18-100% and 20.5-100% of fungi growth on solid media was inhibited when the liquid and alcoholic extracts were added, respectively. Whereas, the growth of both fungi in liquid media were decreased by 39.4-100% and 38.8-100% when aqueous and alcoholic extracts were used, respectively, the production of aflatoxin $B_1$ by both fungi was decreased by 20-100% and 22-100% when aqueous and alcoholic extracts were added, respectively. Results also showed that aflatoxin $G_1$ production decreased by 44-100% when aqueous and alcoholic extracts were added, respectively. It has been noticed that thyme and ginger had observed higher activity in fungi inhibition and aflatoxins production than that of rosemary.

## المصادر


Ahmad, M. M.; O. F. Abdul-Aziz; and H. S. Mohammad (2003). Effect of essential oils extracted from some spices and herbs on growth and aflatoxins production by *Asperigillus parasiticus* NRRL 2999 .J. of Agric. Sci. 4 ( 3);5-12.

Anonymous (1980). Official Methods of Analysis 13th Ed. Association of Analytical Chemists. Washington D.C. U.S.A.

Anonymous (2003). Ginger:Its Role In Xenobiotic Metabolism. Printed and Published By Shri. J. N. Mathur For The Indian Coun. Med. Resea.,New Delhi,India.

Farag,R.S.; Z.Y.Daw and S.H. Abo-Raya (2006). Influence of some spice essential oils on *Asperigillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in asynthetic medium.J.Food Sci. ,54(1): 74-76.

Harrigan,F.; M.C.Cance and E. Margaret (1976). Laboratory Methods In Food and Dairy Microbiology .Academic Press- London –NewYork-Sanfrancisco.

Ilondu,E.M.;and A.C.Iloh (2007). Inhibition of three fungal isolates from sorrel drink (Zobo) using hurdle technique World J. of Agric.Aci.,3(3):339-343.

Jones, B. D. (1972). Methods Of Aflatoxin Analysis London, Tropical Products Insititute, P. 58, Report G 70.

Krishna , K.G.;S.Pandes and S.Harish (2007). Evaluation of essential oils and their components for broad-antifungal activity and control of late leaf spot and crown rot diseases in peanut . Plant Disease,91(4):375-379 .

Mahmoud,A.L.E.(2008).Antifungal action and antiaflatoxigenic properties of some essential oils constituents.Appl.Microb.,19(2):110-113.

Mankeviciene, A.; I. Gaurilcikiene; Z. Dabkevicius; R. Semaskiene; R. Mackinaite and R. Suproniene (2006). Mycotoxin contamination of Lithuanian – grown cereal grains and factors determining it . Ekologia No. 3:21-27.

Nabney J. and B.F. Nesbitt (1965). Aspectrophotometeric method for determination the aflatoxin . Analyst , 90 : 155 – 160 .

Ozcan, M. M. and J. C. Chalchat (2008). Chemical composition and antifungal activity rosemary (*Rosemarinus officinalis* L.) oil from Turkey. Internat.J.food of Sci. and Nutrit., 59 (7-8):691-698.

Ozkalp, B. and M. M. Ozcan (2009). Inhibitory effect of hydroistillation waters of some medicinal and aromatic plants. World Appl. Sci. J., 6 (6):825-828.

Pitt, J.I. (1985). Fungi and Food Spoilage. Division of Food Research - Sydney. (CSIRO) Academic Press, Pp 403.

Rasooli, I.; M. H. Fakoor; A. A. Allameh; M. B. Rezaee and P. Owlia (2009). Phytoprevention of aflatoxin production. J. Med.plants, 8(5): 97-104.

Reddy, K, R. N.; C. S. Reddy and K. Muralidharan (2009). Potential of botanicals and Biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Asperigillus flavus* Infecting rice grains. Food Control, 20:173-178.

Satish,S.; D.C.Mohana ; M.P.Raghavendra and K. A. Raveesha (2007). Antifungal activityof some plant extracts against important seed borne pathogens of *Asperigillus sp*. J. Agric. Tech., 3(1); 109-119.

Soliman,K.M.; and R.I.Badeaa (2002) . Effect of oil extracted from medicin plants on Different mycotoxigenic fungi. Food and Chem.Toxico.,40:1669-1673.

Sudhakar, P.; P. Latha; y. Sreenivasulu; B. V. B. Reddy; T. M. Hemalatha; M. Balakrishna and K. R. Reddy (2009). Inhibition of *Asperigillus flavus* colonization.

Thanaboripat, D.; Y. suvathi; P. Sirlohasin and S. Sirakdee (2007). Inhibitory effect of essential oils on the growth of *Asperigillus flavus*.KMITL Sci. Tech.,7(1):1-7

Yousef, A. E. & E. H. Marth (1981). Growth and synthesis of aflatoxin by *Asprigillus parasiticus* in the presence of sorbic acid, J. Food Protection. 44:736-741.