تأثير المستخلصات الكحولية الخام لأجزاء بعض النباتات في تثبيط النمو لأنواع من البكتريا المرضية والمسببة لتلف الغذاء

صبا جعفر عجينة* مازن جميل هندي عبد الغني إبراهيم يحيى

كلية الطب البيطري–جامعة بغداد كلية الزراعة–جامعة بغداد كلية الزراعة–جامعة بغداد

المستخلص

أجريت هذه الدراسة على أربع انواع من النباتات ضمت بعض البهارات, هي ثمار الكمون *Cuminum cyminum* وبذور الفلفل الأسود *Piper nigrum* وأوراق المريمية *Salvia officinalis* وأوراق الصنوبر الأبرية *Pinus halipensis* والتي تعود للعوائل الخيمية Umbellifrae والفلفلية Piperaceae والشفوية Labiatae والصنوبرية Pinaceae على التوالي. وأظهرت نتائج التشخيص الكيميائي الابتدائي احتواء النباتات على المكونات الفعالة مثل الكلايكوسيدات والفلافونويدات والراتنجات والقلويدات، وتم الحصول على المستخلص الكحولي الايثانولي لكل نبات، وأخضع المستخلص إلى عدد من الاختبارات للكشف عن الفعالية المضادة للأحياء المجهرية التي ضمت البكتريا الموجبة لصبغة كرام مثل *Bacillus Bacillus subtilis* *stearothermophilus* , *Bacillus cereus* والبكتريا السالبة لصبغة كرام مثل *Proteus Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli* *Salmonella typhimurium, mirabilus,* . واستخدمت طريقة الأنتشار بالقرص لاختبار فعالية المستخلصات ضد البكتريا. وقد تنوعت نتائج دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات باختلاف نوع المستخلص نفسه واختلاف الكائن المجهري المختبر، إذ أظهرت المستخلصات الكحولية الأيثانولية فعالية تثبيطية ضد بعض الأحياء المهجرية في تركيز 80 ملغم/مل حيث تراوحت معدلات أقطار هالات التثبيط تجاه البكتريا بين 0-0.9 سم للكمون و0.1-1.8 سم للفلفل الأسود و0-0.7 سم للمريمية و0-1.4 سم لأوراق الصنوبر، وبسبب من ذلك كان المستخلص الكحولي لبذور الفلفل الاسود هو الأكفأ في تثبيط جميع انواع البكتريا الاختبارية كما انه سجل أعلى معدلات هالات التثبيط ضد البكتريا موازنة ببقية المستخلصات الكحولية، في حين لم يكن هناك تاثير تثبيطي لبقية المستخلصات النباتية الكحولية تجاه بكتريا *Klebsiella pneumoniae*، ولم يكن لمستخلص أوراق المريمية الكحولي أي تأثير تثبيطي تجاه بكتريا *Bacillus stearothermophilus*

* جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الأول، كلية الزراعة– جامعة بغداد.

و *Proteus mirabilus*، ولم يكن لمستخلص ثمار الكمون واوراق الصنوبر الكحولية أي تأثير تجاه بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*.

المقدمة

بعد تزايد القلق من سلامة استعمال المضافات الغذائية الكيميائية وتزايد الاهتمام بالتوجه نحو حفظ الأغذية بطرق تضمن بقائها بشكل طبيعي ومحافظ على خواصها الطبيعية لأطول وقت ممكن (21)، ولان التساؤلات كانت وما زالت تدور حول نوعية وسلامة الغذاء بإضافات غذائية محددة ومنتخبة (28)، أظهرت البحوث شكوكا حول المضادات الميكروبية مثل Nitrites و Benzoic acid التي تشكل خطرا كامنا بسبب امتلاكها للسمية، وأدت هذه المشاكل إلى التوجه نحو إنتاج مضادات ميكروبية طبيعية وإضافتها بشكل مباشر للأغذية (20؛ 21).

شكلت المستخلصات النباتية أساسا للعديد من التطبيقات الغذائية سواء للغذاء الطازج أو المصنع باعتبارها مواد تمتلك فعالية مضادة للأحياء المهجرية فهي تستخدم في حفظ الأغذية وتدخل في تركيب المستحضرات الصيدلانية وبدائلا للأدوية وعلاجات طبيعية (16).

ازداد الاهتمام باستخدام منتجات الأعشاب في العالم كله ،ففي الولايات المتحدة وصلت هذه الزيادة الى 380% بين عام 1990-1997، اذ إن بعض هذه الإعشاب تحوي على مركبات فعالة مثل الزيوت العطرية والفينولات والالديهايدات والقلويدات وغيرها التي كان لها العديد من التطبيقات العلاجية ضد أمراض عديدة متسببة من البكتريا أو الاعفان او الفيروسات (8).

ويمثل توفر البهارات والأعشاب ورخص ثمنها حتى في البلدان التي لا تنمو فيها، والتي تعد واحدة من المجاميع النباتية التي مازالت البحوث بصددها قليلة وبالأخص فيما يتعلق بفعاليتها المضادة للمكروبات عند تطبيقها في الأغذية (21)، كان سببا للتوجه في دراستنا للكشف عن الفعالية المضادة للمكروبات لبعض البهارات والنباتات المتوفرة والرخيصة الثمن ومن ضمنها البهارات والنباتات التي استخدمت في الدراسة الحالية وهي الفلفل الأسود والكمون والمريمية والصنوبر.

وقد وجد (17) ان استخدام الكمون بتركيز 0.5% كان مناسباً في تثبيط تكوين السموم الفطرية في نقيع الرز تثبيطاً كاملاً، كما استخدم الكمون في مجال حفظ الاغذية، فقد عرف مثبطاً لبعض الفطريات المفسدة للاغذية، وان له القدرة في السيطرة على الأمراض الناجمة عن الاعفان (23)، كما ان إضافة الفلفل الأسود لأوساط الأغذية المخمرة يؤدي الى تقليل انتاج بكتريا *Enterococcus faecium* المنتجة للمركب Enterocin في الأغذية المخمرة وخاصة عند وجود كلوريد الهيدروجين (3)، كما ان اضافته الى الصوصج المخمر يؤدي الى التقليل من معدلات نمو بكتريا Lactobacillus بشكل عام (27)، وتشير بعض الدراسات لوجود فعالية مثبطة للمكروبات تعزى للمستخلصات النباتية العائدة للجنس *Salvia officinali* لنبات المريمية (19)، كما ان الزيت

العطري لنباتات العائلة الصنوبرية يمتلك فعالية مضادة للبكتريا (16) وان للزيت العطري لاوراق الصنوبر الابرية نوع *Pinus ponderosa* تاثيراً مثبطاً كاملاً لنمو الاعفان *Fusarium solani* و *Fusarium poae* بتركيز 2% و5% على التوالي (4)، وأثارت مؤخرا المستخلصات النباتية اهتماما باعتبارها مصدرا للمنتجات الطبيعية، فهي تمتلك مواصفات وقاية وحماية عند استخدامها بدائلا علاجية في الكثير من العلاجات وللعديد من المسببات المرضية، بالإضافة الى انها تعد موادا حافظة للغذاء (26)، وقد هدفت هذه الدراسة الى الحصول على مستخلص نباتي من مصادر نباتية متوفرة ورخيصة (اقتصادية)، يمتلك كفاءة تثبيطية كمضاد للبكتريا المرضية والمسببة لتلف الغذاء واستخدام المستخلص النباتي الاكفأ كبدائل للمواد الحافظة الصناعية وإطالة العمر الخزني للاغذية.

المواد وطرائق البحث

1. جمع النباتات وتحضيرها:

تم الحصول على أوراق الصنوبر الابرية من أشجار الصنوبر في منطقة الجادرية– بغداد وغسلت جيداً بالماء فقط وفصلت الأوراق عن الأغصان وتم تجفيفها تجفيفا شمسيا في الظل لأكثر من ثلاثة أيام الى ان جفت،أما بالنسبة للبهارات فتم اختيار ثلاث أنواع منها وهي ثمار الكمون وبذور الفلفل الأسود وأوراق المريمية وتم الحصول عليها من العشابين في سوق الشورجة– بغداد وبكمية (5) كغم لكل نوع ثم طحنت كل على حدة وتم إجراء الاستخلاص والاختبارات اللازمة عليها.

2. الكشف عن المجاميع والمركبات الفعالة الموجودة في الاجزاء النباتية قيد البحث:

تم الكشف عن الراتنجات والتانينات والصابونيات بالاعتماد على طريقة (24)، اما الكلايكوسيدات فكشف عنها حسب طريقة الشيخلي وجماعته (2)، والقلويدات كما في (9)، والفينولات حسب طريقة (12)، والفلافونات حسب (14)، الكومارين حسب (11) وأخيرا الرقم الهيدروجيني كما ورد في (1).

3. الحصول على المستخلصات الكحولية من المصادر النباتية:

حسب طريقة (12) اذ استعمل الكحول الاثيلي تركيزه 99.9%، أذيب 100غم من مسحوق كل نبات على حدة في 200 مل من الكحول الاثيلي إي بنسبة (2:1) (مسحوق نباتي: كحول اثيلي) وقد تم خلطه جيدا بواسطة خلاط كهربائي نوع National و بعد وضعه في حاضنة هزازة في درجة حرارة 28م^{o} لمدة 24 ساعة بعدها رشح المزيج باستخدام قمع بخنر تحت الضغط الفراغي مع أوراق ترشيح نوع Wattman No.1 وجمع الراشح وركز بالجهاز المبخر الدوار في درجة حرارة 40م^{o} إلى أن تم تبخر كمية معينة من الكحول وجمعها وبعد وضع المركز في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة

وتم تجفيف الكحول المتبقي في فرن كهربائي في درجة حرارة 40م^{o} إلى أن تبخر الكحول كليا، وبعد الحصول على مسحوق من المستخلص الكحولي، تم تحضير التركيز 80 ملغرام/ مل وعقم عبر أوراق ترشيح خاصة تستخدم للتعقيم ذات ثقوب بقطر 0.20 مايكرومتر، واختصرت تسمية المستخلصات الايثانولية للكمون CE، والفلفل الأسود BE ولمريمية SE ولأوراق الصنوبر الابرية PE.

4. دراسة تأثير المستخلصات الكحولية النباتية على البكتريا الاختبارية:

استخدمت طريقة الانتشار بالأقراص كما وردت في (1) حيث تم تلقيح سطح وسط المغذي الاكار الصلب Nutrient Agar بمستعمرات البكتريا الاختبارية كل بكتريا على انفراد، حيث أخذ 0.1 مل من العالق البكتيري ونشر بناشر زجاجي معقم، بعدها تم وضع الأقراص المعقمة ذات قطر6 ملم في كل طبق حيث وضعت من 4-6 أقراص معقمة في أماكن محددة تم تعليمها على الطبق من الخارج وقد حمل كل قرص بمقدار 5 مايكروليتر من المستخلص الكحولي لكل نوع من الأجزاء نباتية باستخدام ماصة دقيقة خاصة.

وبلغ تركيز المستخلص الكحولي لكل نوع من الأجزاء النباتية 80 ملغرام/ مل كحول اثيلي 99.9% مع الأخذ بنظر الاعتبار وضع قرص للعينة الضابطة Control وقد حمل بنفس الحجم من الكحول الاثيلي 99.9%، وتم تعقيم المستخلصات الكحولية لكل نوع من الاجزاء النباتية بمرشحات ميكروبية معقمة خاصة ذات فتحات بقطر0.20 مايكرومتر.

النتائج والمناقشة

1. الكشف عن المجاميع والمركبات الفعالة الموجودة في بعض أجزاء النباتات قيد الدراسة:

بين الجدول (1) كشفاً أوليا كيميائياً عن المركبات والمجاميع الفعالة في نباتات الدراسة، حيث أظهرت النتائج احتواء جميع الأجزاء النباتية المستعملة في الدراسة على الكلآيكوسيدات والفلافونويدات والراتنجات.

جدول (1): الكشف الأولي عن المركبات والمجاميع الفعالة في نباتات الدراسة.

المركب الفعال	الكاشف المستخدم	دليل الكشف	بذور الكمون	اوراق الصنوبر	بذور الفلفل الأسود	أوراق مريمية
التانينات Tannins	خلات الرصاص 1%	ظهور راسب هلامي القوام	−	+	−	−
	كلوريد الحديديك 1%	ظهورلون اخضر مزرق	−	+	−	−
الكلايكوسيدات Glycosides	كاشف فهلنك	ظهور راسب احمر	+	+	+	+
	كاشف بندكت	ظهور لون احمر	−	+	−	+
الصابونيات Saponins	أ−رج المستخلص المائي	رغوة كثيفة لمدةطويلة	−	+	+	+
	ب− كلوريد الزئبق	ظهور راسب ابيض	−	+	+	+
الفلافونويدات Flavonoids	كحول اثيلي +NaOH	ظهور لون اصفر	+	+	+	+
الراتنجات Resins	ايثانول 95%+ماء محمض بالـ HCL 4 %	تكون عكارة Turbidity	+	+	+	+
الكومارين Coumarins	ورق ترشيح NaOH مع اشعة الـ U.V	ظهور لون اخضر مزرق	+	/	+	−
القلويدات Alkaloids	أ.كاشف واكنر Wagner	ظهور راسب بني	+	+	+	+
	ب.كاشف دراجنروف	ظهور راسب برتقالي	+	+	+	+
الأس الهيدروجيني (pH)	/	/	4.5	5.5	6	5

والفلافونويدات بالإضافة إلى الراتنجات والقلويدات وكانت قيم الأس الهيدروجيني لمنقوعها المائي تتراوح بين 4.5 كما لبذور الكمون و 6 كما في بذور الفلفل الأسود، في حين لم يحتوي بذور الكمون على التانينات والصابونيات اما بذور الفلفل الأسود فلم يحتوي على التانيات فقط.

وأوضحت النتائج المدروسة في الجدول ذاته إن التانينات لم تكن موجودة في اوراق المريمية ولم تحتوي الأخيرة على الكومارين أيضا، وجاءت بعض النتائج متفقة مع نتائج الدراسة الحالية فقد ذكر

(29) احتواء بذور الفلفل الأسود على القلويدات والتي تعد المركبات الفعالة الرئيسية فيه والمتمثلة بالـ(Piperine, Piperidine) كما أكد نفس المصدر احتواءه على الصابونيات.

كما تتفق النتائج في احتواء المريمية على الفلافونويدات مع ما حصل عليه (13) بالإضافة الى الفلافونول مثل borned , cineol وحامض الفينوليك وهذا قد يكون سبب في جعل قيمة الأس الهيدروجيني منخفضة.

2. تأثير المستخلصات النباتية الكحولية في تثبيط بكتريا الاختبار:

تبين الأشكال (1–8) معدلات أقطار هالة التثبيط التي أحدثها المستخلص الكحولي للنباتات بتركيز 80 ملغرام/ مل كحول اثيلي مطلق ضد البكتريا المختبرة حيث اظهر المستخلص الكحولي لثمار الكمون *Cuminum cyminum* وبذور الفلفل الأسود *Piper nigrum* والمريمية *Salvia officinali* وأوراق الصنوبر الأبرية *Pinus halepensis* تأثيرا مثبطا على بعض البكتريا الأختبارية، حيث سجل مستخلص الكمون CE أعلى متوسط قيم لهالة التثبيط ضد بكتريا *Salmonella typhimurium* وبلغ 0.9 سم، في حين بلغ معدل قطر هالة تثبيط نفس المستخلص 0.2 سم ضد بكتريا *B. sterothermophilis*. وعدت اقل هالة تثبيط ضد البكتريا الأختبارية التي سجلها مستخلص الكمون الكحولي CE وبتركيز 80 ملغرام/ مل ولم يكن هناك تأثير لهذا المستخلص على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وبكتريا *Klebsiella pneumoniae* في هذا التركيز.

أما بالنسبة للمستخلص الكحول الاثيلي لبذور الفلفل الأسود BE فقد بلغ أعلى معدل لقيمة قطر هالة التثبيط له ضد بكتريا *B. subitlis* 1.8 سم أما اقل معدل لقيمة هالة تثبيط فسجلت ضد بكتريا *Proteus mirabilus* و *Klebsiella pneumoniae* وكانت0.1 سم، ولم يبدي تأثيرا مثبطا ضد بكتريا *Pseudomonus aeruginosa* في هذا التركيز.

كما أظهرت النتائج إن المستخلص الكحولي لأوراق المريمية SE انه غير فعال ضد بكتريا *B. sterothermophilis* و *Proteus mirabilus* و *Klebsiella pneumoniae* في تركيز 80 ملغم/مل، وتتفق هذه الدراسة مع ما وجده (8)، الى ان المستخلص كحول الاثيل لنبات المريمية (Sage) بتراكيز 2.5-40 ملغرام/ مل لم تبدي أي فعالية تثبيطية ضد بكتريا *Proteus mirabilus* و *Klebsiella pneumoniae* .

في حين كان معدل قيمة اكبر قطر هالة تثبيط لمستخلص الكحول الاثيلي للمريمية (SE) ضد بكتريا *E. coli* اذ بلغ 0.7 ملغرام/ مل أما اقل معدل قطر هالة تثبيط أظهره مستخلص الكحول الاثيلي فبلغ 0.3 ملغرام/ مل ضد بكتريا *B. cereus*، واتفق هذا مع ما بينه (26) بان المستخلص

الكحولي الايثانولي لنبات المريمية كان له تأثير تثبيطي عالي ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* و *B. cereus* واعزى هذه الفعالية الى محتواه من مركب Broneal.

اظهر مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات الصنوبر الابرية (PE) فعالية تثبيطية ضد البكتريا الاختبارية باستثناء بكتريا *Pseudomonus aeruginosa* وبكتريا *Klebsiella pneumoniae* ، وقد سجل أعلى قيمة لمعدل أقطار هالة التثبيط بين المستخلصات ضد بكتريا *E. coli* إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط حوالي 1.4 سم وتعد هذه اكبر هالة تثبيط سجلتها المستخلصات ضد بكتريا *E. coli*، أما اقل قيمة لمعدل قطر هالة التثبيط التي سجلها مستخلص الصنوبر الكحولي PE ضد بكتريا الاختبار فكانت ضد *B. cereus* و *B. sterothermophilis* و *Salmonella typhimuriunm* إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط (PE) 0.3 سم.

ان حساسية كل بكتريا من بكتريا الدراسة تجاه المستخلصات الكحولية كانت كما مبينة، ان بكتريا الـ *B. subtilis* حساسة لمستخلص (BE) إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط حوالي 1,8 سم تلاه المستخلص الكحولي لأوراق الصنوبر الابرية PE وكان معدل قطر هالة التثبيط 0.8 سم أما بقية المستخلصات الكحولية فكان تأثيرها على نمو هذه البكتريا اقل حتى في تركيز 80 ملغرام/مل كما موضح في (شكل 1) حيث كان تسلسل الكفاءة لها كما يلي : BE > PE > SE > CE.

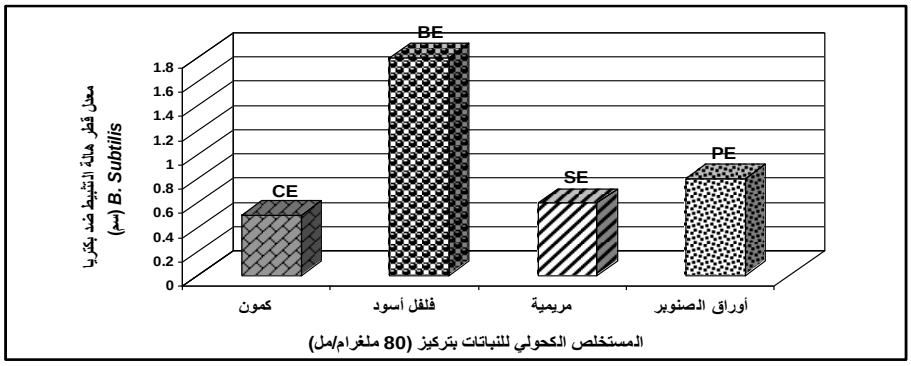
أما بالنسبة لبكتريا *B. cereus* فكانت مستخلصات النباتات متساوية في قيم معدلات أقطار هالة التثبيط فقد بلغ 0.3 سم لمستخلصات CE و SE و PE والذي اتضح جليا في (شكل 2) في حين كان مستخلص الفلفل الأسود الكحولي هو الأكثر فعال ضد هذه البكتريا إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط 0.8 سم.

كما إن بكتريا *B. sterothermophilis* كانت مقاومة للمستخلص الكحولي للمريمية SE إذ لم يكن فعال ضدها، في حين بلغ معدل قطر هالة التثبيط لمستخلص PE و BE 0.3 سم وبلغت 0.2 سم لمستخلص CE كما مبين في (شكل 3).

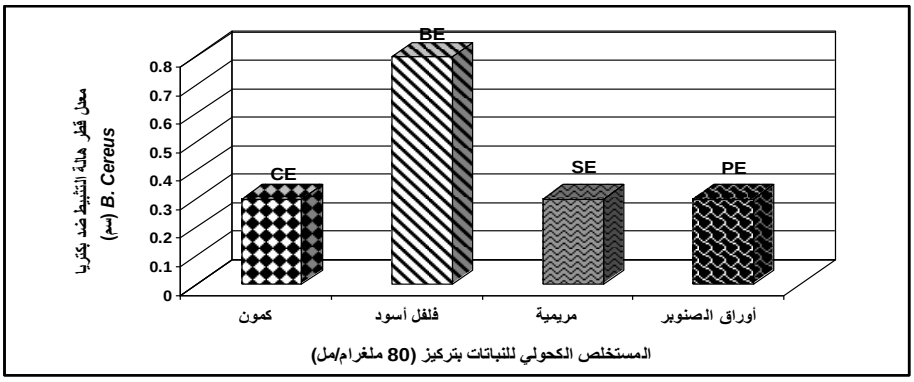
واتضح من (الشكل 4) أن مستخلص CE و PE لم يكن لها تأثيرا فعالاً بتركيز 80 ملغرام/مل ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* اذ ابدت هذه البكتريا مقاومة تجاه هذه المستخلصات، إلا إن أكثر المستخلصات الكحولية للنباتات الاختبارية فعالا ضدها هو SE إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط 0.6 سم، وكانت 0.5 سم عندما استخدم مستخلص BE.

ولوحظ أن بكتريا *Proteus mirabilus* و *Klebsiella pneumoniae* كانتا مقاومتان للمستخلص الكحولي للمريمية SE شكل (5 و6) وهذا يتفق مع (8)، وان الثانية (*Klebsiella pneumoniae*) كانت مقاومة لمستخلصي (CE وPE)، إلا أن المستخلص الفعال ضدها هو مستخلص الفلفل الأسود الكحولي BE إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط 0.1 سم ،أما الأولى فكان معدل

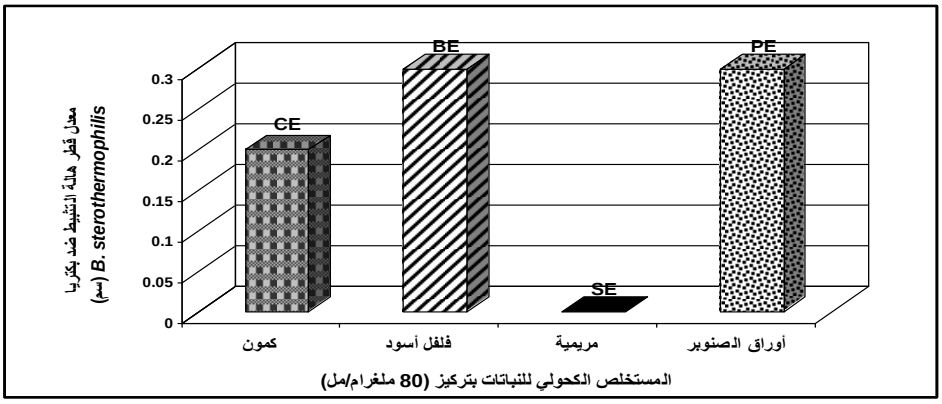
قطر هالة التثبيط لمستخلصات BE ،PE وCE هي (0.1 ،0.3 و 0.6) سم إذ إنها كانت حساسة لمستخلص CE أكثر من البقية.



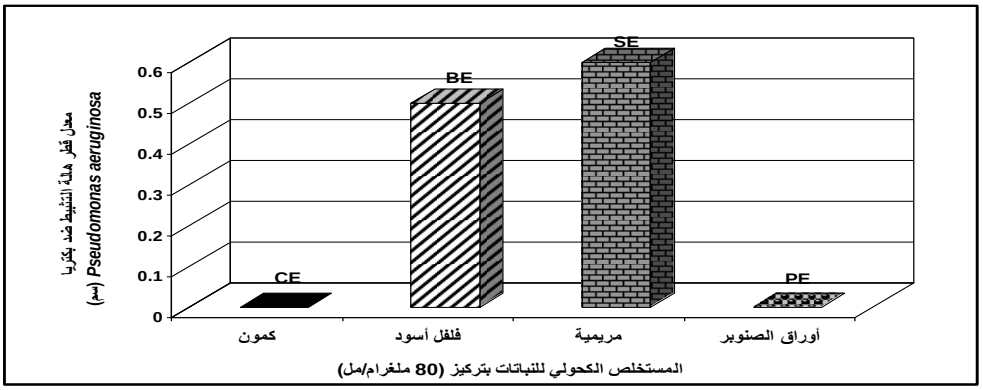
شكل (1): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة على بكتريا *Bacillus subtilis*.



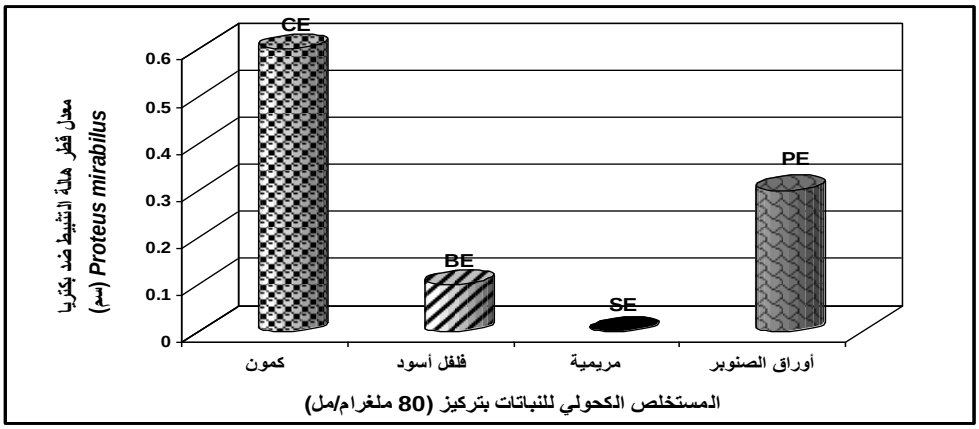
شكل (2): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة على بكتريا *Bacillus cereus*.



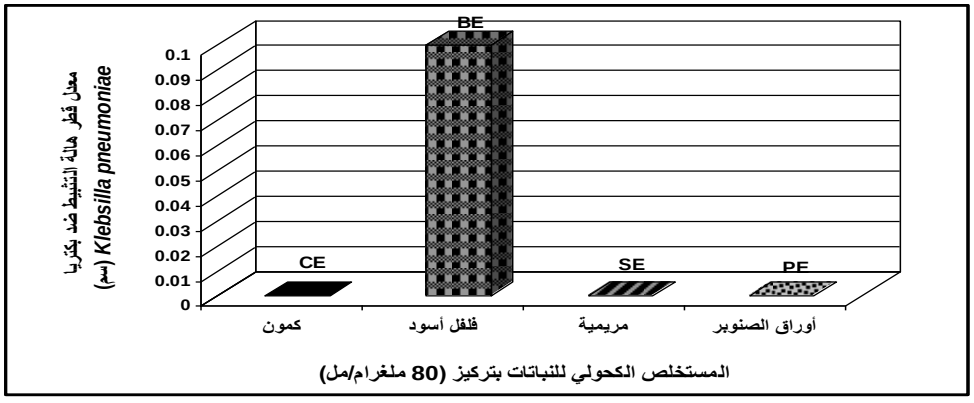
شكل (3): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة على بكتريا*Bacillus stearothermophilus*.



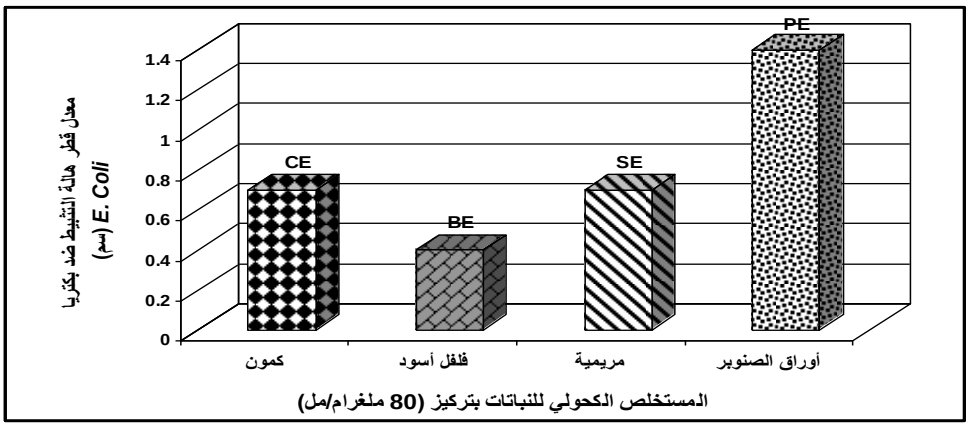
شكل (4): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة على بكتريا*Pseudomonas aeruginosa*.



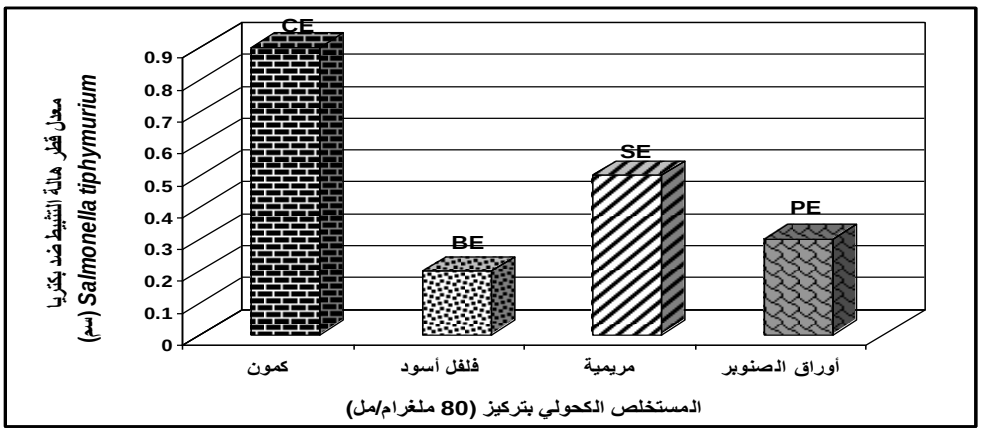
الشكل (5): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة ضد بكتريا *Proteus mirabilus*.



الشكل (6): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة ضد بكتريا*Klebsiella pneumoniae*.



الشكل (7): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة ضد بكتريا *E. coli*.



الشكل (8): تأثير المستخلص الكحولي لنباتات الدراسة ضد بكتريا *Salmonella typhimurium*.

يظهر الشكلين (7و8) ان جميع المستخلصات النباتية الكحولية لها تأثيرا ضد بكتريا*E. coli* ، *Salmonella typhimurium* وكان تسلسل معدل اقطار هالة التثبيط للبكتريا *E. coli* حسب الكفاءة في التثبيط هي:

1.4 سم PE > 0.7 سم = SE > 0.7 سم CE > 0.4 سم BE.

وبالنسبة لبكتريا *Salmonella typhimuriunm* كانت:

0.9 سم CE > (0.5) سم SE > 0.3 سم PE > 0.2 سم BE.

في حين أظهرت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين مستخلصي SE و CE ولا بين مستخلصي PE و BE في تأثيرها تجاه هذه البكتريا وكانت معنوية في غير ذلك.

وعلى ضوء النتائج المستحصلة بشكل كلي من الاختبارات تجاه كل البكتريا الاختبارية يمكن ترتيب تسلسل كفاءة المستخلصات النباتية الكحولية في تثبيط اكبر عدد من البكتريا الاختبارية كما يلي: SE < PE = CE < BE, ويمكن تفسير كفاءة المستخلص الكحولي BE في تثبيط اكبر عدد من البكتريا يعود إلى محتواه العالي من المركبات القلويدية التي لها قابلية عالية في الذوبان في الكحول الاثيلي تفوق بكثير قابلية ذوبانها في الماء (6)، وان هذه القلويدات خصوصا العطرية منها يكون لها القدرة على التداخل مع الـ DNA لخلايا البكتريا مؤدية إلى قتلها (22)، واهم هذه القلويدات هي Piperine, Piperidine, Piperettine, حيث أكد (11) ان Piperine من القلويدات التي توجد في الفلفل الأسود والتي لها فعالية مضادة ضد بكتريا *E. coli* والاعفان، أما بالنسبة لفعالية مستخلص CE التثبيطية تعود الى ما يحويه المستخلص من مركبات كحولية والديهايدية أهمها Cuminaldihyde, Cuminicalcohol التي أثبتت العديد من المصادر فعاليتها ضد الإحياء المجهرية (7).

لقد تفوقت المستخلصات النباتية الكحولية عموما على المستخلصات المائية في فعاليتها ضد البكتريا الاختبارية، واقتربت هذه النتائج مع نتائج (18) على إن المستخلص الكحولي الميثانولي للحبة السوداء كان أكفا من مستخلص الكلوروفورم ومن المستخلص المائي ضد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وخميرة Candida.

كما وجد (5) ان مستخلص كحول الميثانول للاوراق الابرية لنبات الصنوبر صنف *P. densiflova* اعطت فعالية تثبيطية ضعيفة ضد بكتريا *Staphylococcus aureus* و *E. coli* وبرهن (25) على ان مستخلص أوراق الصنوبر العائدة لصنف *P . densiflova* المستخلص بالمذيبات العضوية (SDE) قد ثبط البكتريا نفسها *Staph. aureus* و *E. coli*. كما بين (15) ان الفعالية التثبيطية لأوراق الصنوبر ضد البكتريا تعتمد على نوع الكائن المجهري وطريقة ومدة الاستخلاص والأس الهيدروجيني للاستخلاص وكل هذه عوامل مؤثرة في الفعالية لأي مستخلص نباتي ضد أي كائن مجهري.

المصادر

1. الجنابي، نضال محمد صالح. (2004). تأثير بعض المستخلصات النباتية كمضادات أكسدة ومكروبية في بعض الأنظمة الغذائية. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة. جامعة بغداد.

2. الشيخلي، محمد عبد الستار. عبد الجليل، فريال حسن والعزاوي، حسن فياض. (1993). الكيمياء الحياتية. الجزء العلمي. كلية العلوم. الجامعة المستنصرية.

3. Aymerch, T.; Artigas, M. C.; Garriga, M. and Monfort, M. (2000). Effect of Sausage ingredients and additives on the production of enterocins A and B by *Enterococcus faecium* CTC 492. Optimization of in vitro production and anti-listerial effect in dry fermented sausages. J. Appl. Microbiol. 88: 686-694.

4. Baranowska, M. K.; Mardarowicz, M.; Wiwart, W.; Poblocka, L. and Dynowska, M. (2002). Antifungal activity of the essential oils from some species of the genus Pinus. Z. Naturforsch. 57: 478-482.

5. Cho, J. E.; Lee, M. J.; Lee, Y. B. and Yoon J. R. (1999) a. Comparisons of volatile compounds of pinus densiflora on kinds of extraction solvent and parts of pinus. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 82: 973-979.

6. Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clincal Microbiology Reviews. 12 (4): 564-582.

7. De M.; De AK.; Mukhopadyay, R.; Banerjee, AB. and Miro, M. (2003). Antimicrobial activity of *cuminum cyminum* L. Ars Fharmaceutica .44 (3): 257- 269.

8. EL Astal, Z. Y.; Ashour, A. and Kerrit, A. A. M. (2005). Antimicrobial activity of some medicainal plant extracts in palestine. Pak Jmed. Sci. 21 (2):187-193.

9. Fahmy, I. R. (1933). Constituents of Plant Crude Drugs. Ist. Ed. Poul Barbey. Cairo.

10. Geissman, T. A. (1962). Chemistry of Flavonoid Compounds. Macmillan Co., New York.

11. Ghoshal, S.; Krishna Prasad, B. N. and Lakshmi, V. (1996). Antimoebic activity of *piper longum* fruits aganst *Entamoeba histolytica* in vitro and in vivo. J. Ethnopharmacol. 50: 167-170.

12. Harborne, J. B. (1973). Phytochemical Method. Champman and Hall. London, New York.

13. Herb Information.(2000). WWW. Holistic online.com.

14. Jaffer, H. J.; Mahmod, M. J.; Jawad, A. M.; Naji, A. and AL-Naib, A. (1983). Phytochemical and biological screening of some Iraqi plan Fitoterapia Lix 299.

15. Kim, Y. S. and Shin, D. H. (2005). Volitile components and antibacterial effects of pine needle (pinus densiflora S. and Z.) extracts. Food Microbiology. 22: 37-45.

16. Lis, B. M. and Dens, S. G. (1997). Bioactivity of selected plant essential oil against *Listeria monocytogenes*. Journal of Applied Bacteriology. 82: 759–762.

17. Mabrouk, S. S. and EL-Shayeb, N. M. (1980). Inhibition of aflatoxin formation by some spices Z. Lebensm. Unters. Forsch. 171(5): 344.

18. Mashhadian, N. V. and Rakhshandeh, H. (2005). Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extract against *S. aureus*, *P. aeroginosanand* and *C. albicans*. Pak. J. Med. Sci. 21(1): 47-52.

19. Nadjalin, V.; Djarmati, Z. and Filip, S. (1997). Arch. Pharm. (5): 676.

20. Naimiki, M. (1990). Antioxidants antiimutagens in food. Critical Review in food science and Nutrition. (29): 273-300.

21. Oiye, S. O. and Muroki, N. M. (2002). Use of spices in food. The Journal of food technology in africa. 7: 39-44

22. Phillipson, J. D., and O'Neill, M. J. (1987). New leads to the treatment of protozoal infections based on natural product molecules. Acat. Pharm. Nord. 1:131-144.

23. Saksena, N. K and Saksena, S. (1948). Enhancement in the antifungal activity of some essential oils in combination against some dermatophytes. India. Perfumer. 28: 42-45.

24. Shihata, I. M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis* M. D. Vet. Thesis. Cairo Unversity.

25. Shin, K. H.; Chi, H. J.; Lim, S. S.; Cho, S. H.; Moon, H. I. and Yu, J. H. (1997). Antimicrobial activities of volatile essential oil from Korean aromatic plants. Nat. Prod. Sci. 3: 141-147.

26. Tepe, B.; Donmez, E.; Unlu, M.; Candan, F.; Daferera, D.; Vardar-Unlu, G.; Polissiou, M. and Sokmen, A. (2004). Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of the *Salvia cryptantha* (Monthbret et Aucher ex Benth.) and salvia multicaulis (Vahl). Food Chemistry. 84(4): 519-525.

27. Verluyten, J.; Leroy, F. and Vuyst, L. D. (2004). Effects of different spices used in production of fermented sausages on growth of and curvacin a production by *locatobacillus curvatus* LTH 1174. Applied and environmentalmicrobiology. 70(8): 4807-4813.

28. Weng, X. C. and Wang, W. (2000). Antioxidant activity of compounds isolated from *Salvia plebeia*. Food chemistry (71): 489-493.

29. Spices continue to show steady gain in popularity. (1995). J. 29-Wolf, FOCUS. Issue (54). Corning Harleton**.**

Effect of Some Ethanolic Plant Extracts on the Inhibition of Some Types of Pathogenic Bacteria and Causing Spoilage of Food

Yahya A. A
College of Agriculture
Uni. of Baghdad

Hindi M.G
College of Agriculture
Uni. of Baghdad

[*]Ageena S. J
College of Veterinary
Uni. of Baghdad

Abstract

This study was carried out to study four types of herbs and spices: cumin fruits (*cuminum cyminum*), Black pepper seeds (*Piper nigrum*), Sage leaves (*Salvia officinalis*) and Pinus needles (*Pinus halipensis*), which they belong to these family: Umbellifrae, Piperaceae, Labiatae and Pinaceae respectively. The result of primary chemical characterization showed that all test plants Contain some active ingredients that included: Glycosides, Flavonoides, Risens and Alkaloids.

Ethanol extracts For each plant were tested or examined for Antimicrobial activity toward the bacteria: gram positive bacteria like *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sterothermophilis* and gram negative bacteria like *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium*. Disk diffusion method was used to test antibacterial activity. The results showed that antimicrobial activity depend on kind of extract and tested microorganism. The Inhibition zone of ethanolic extracts against bacteria ranged between (0-0.9) cm for cumin, (0.1-1.8) cm for black pepper, (0-0.7) cm for sage and (0-1.4) cm for pinus needles. From this result the black pepper ethanolic extract was the best as antibacterial agent compared with other plant extracts, and because it recorded a highest rate of inhibition zone toward study bacteria. As there is no inhibition activity from the other plant extracts toward *Klebsiella pneumoniae*. The sage ethanolic extract was not active at *Bacillus sterothermophilis* and *Proteus mirabilus*, pinus ethanolic extract was not active at *Pseudomonas aeruginosa*.

[*] **Apart of PHD thesis for the first researcher Baghdad University- Agriculture College.**