

مقارنة الكفاءة التثبيطية لمستخلصات بذور الخردل الأبيض تجاه بعض عزلات البكتريا الاختبارية

عامر حسين حمدان* عامر عبد الرحمن الشيخ ظاهر* مهدي ضمد القيسي**

الملخص

تضمنت الدراسة تقدير المكونات الكيميائية لبذور الخردل الأبيض *Sinapis alba* فكانت: 2.16، 26.24، 37.14، 4.75، 5.03 و 24.68% للرطوبة، البروتين، الزيت، الألياف، الرماد والكاربوهيدرات على التوالي. وبينت الفحوص النوعية وجود المكونات الفعالة التالية: الكلايكوسيدات والتانينات والقلويدات والراتنجات والفلافونيدات والفينولات.

جرى استخلاص بذور الخردل الأبيض بالطرائق الآتية: الاستخلاص المائي بدرجات حرارة 20، 40 و 60م، الاستخلاص الزيتي باستعمال مذيب الهكسان والاستخلاص الكحولي باستعمال الكحول الايثيلي المطلق. أخضعت جميع المستخلصات الخمسة المذكورة لاختبار كفاءتها التثبيطية تجاه بكتريا *Shigella*، *Salmonella typhimurium*، *dysentriae*، *Proteus vulgaris* السالبة لصبغة غرام و *Bacillus subtilis* الموجبة لصبغة غرام باستخدام تقنية التثبيط بالحفر.

أظهرت النتائج مقدرة المستخلصات المائية على تثبيط جميع أنواع البكتريا قيد الدراسة يعقبها المستخلص الزيتي، ولم يظهر المستخلص الكحولي فعالاً تثبيطاً تجاه أي نوع من البكتريا قيد الدراسة، وقد أظهر المستخلص المائي باستعمال درجة حرارة 40م تفوقاً معنوياً على جميع أنواع المستخلصات وقد عد هو المستخلص الأكفأ. واحتفظ المستخلص المائي (بدرجة حرارة 40م) بكفاءته التثبيطية تجاه العزلات البكتيرية بعد خزنه في درجة حرارة 5م ولمدة تزيد على ثلاثة أشهر.

المقدمة

يعد الخردل أحد أقدم المحاصيل الزراعية التي عرفها الإنسان. وتعد هذه المادة من أقدم أنواع التوابل المستعملة، فقد كتب فلاسفة اليونان والإغريق في كتاباتهم عن خصائصه العلاجية قبل القرن الخامس الميلادي، كما أشاروا إلى أهميته في تحسين النكهة وفي الاستعمالات الطبية. أشار فلاسفة اليونان في العام 530 قبل الميلاد إلى استعمال الخردل في علاج لسعات الزواحف، كما يقال أن الخردل يعمل على أخفاء طعم الأغذية المتفسخة وهذا يؤكد استعمال الخردل من قبل المصريين في تجهيز قبور ملوكهم بعد الموت (13). الخردل نبات حولي شتوي منتشر في أغلب بقاع العالم، ويعود إلى العائلة الصليبية *Bressicaceae* وموطن النبات هو منطقة البحر الأبيض المتوسط والسودان والعراق (3). وجد Mifsud (17) أن بذور الخردل تحتوي على 27.2 غم بروتين، 35 غم زيت، 27.3 غم كاربوهيدرات، 6 غم ألياف و 4.5 غم رماد محسوب على أساس الوزن الجاف. ويحتوي الخردل الأبيض على كلايكوسيد سينالبيين *Glucoside sinalbin* يكون هذا المركب غير فعال ولكن بوجود انزيم *Myrosinase* فانه ينتج زيت الخردل الأبيض الاساسي ويسمى *Acrinyl isothiocyanate* أو *p-hydroxy benzyl isothiocyanate* والمعروف *Sinalbin* و *Mustard oil* وان الفعل المثبط يعود إلى الايزوثايوسيانيات الموجودة في النباتات (1، 9).

البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

* كلية الزراعة - جامعة بغداد - بغداد، العراق.

** وزارة الزراعة، بغداد، العراق.

ان عملية تحطيم الكلايكوسينولات يجب أن تكون تحت ظروف قياسية لفعالية الأنزيم من حرارة ورقم هيدروجين، وأثبتت دراسة Botti وجماعته (6) أن درجة الحرارة المثلى للماء المستعمل لنشاط الأنزيم هي $37 \pm 1^\circ\text{C}$ ورقم الهيدروجين الأمثل للإنزيم 5-7. أشار Kim وجماعته (15) إلى إمكانية هذا المركب على تثبيط الأحياء المجهرية على سطح الاكار في الأوساط الصلبة. وأوضح Kim وShin (14) أن الفعالية التثبيطية لأوراق الخردل تكون ضعيفة في بداية الاستخلاص وتزداد الفعالية بعد مرور 12 ساعة على الاستخلاص وتصل إلى أقصاها بعد 24 ساعة من بداية الاستخلاص. تهدف هذه الدراسة إلى تقدير فعالية المستخلصات المائية والزيتية والكحولية لبذور الخردل الأبيض في تثبيط نمو بعض الأحياء المجهرية الاختبارية وتحديد المستخلص الأكثر فعالية واختبار كفاءته خلال مدة الخزن.

المواد وطرائق البحث

تم الحصول على بذور الخردل الأبيض *Sinapis alba* من قسم المحاصيل الحقلية، كلية الزراعة، جامعة بغداد. طحنت النماذج باستعمال مطحنة القهوة للحصول على مسحوق متجانس. قدر التركيب الكيميائي لمسحوق الخردل الأبيض حسب الطريقة المذكورة في AOAC (4). حضرت المستخلصات المائية لبذور الخردل الأبيض بدرجات حرارة 20، 40 و60م حسب الطريقة التي ذكرها Shtayeh وAbu-Ghdeib (23). حضر المستخلص الكحولي لمسحوق بذور الخردل الأبيض حسب الطريقة التي ذكرها Desmukh وBrole (10)، واستعملت الطريقة نفسها عند تحضير المستخلص الزيتي عدا استبدال الكحول الايثيلي بالهكسان. أجريت بعض الكشف الكيميائية النوعية لتحديد بعض المجموعات الفعالة في مسحوق بذور الخردل الأبيض. تم الكشف عن الكلايكوسيدات والقلويدات والتانينات والراتنجات والفلافونات والفينولات حسب الطرائق التي ذكرها الزبيعي (2).

تم الحصول على عزلات البكتريا الاختبارية *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium* و *Proteus vulgaris* السالبة لصبغة غرام و *Bacillus subtilis* الموجبة لصبغة غرام من كلية الزراعة - جامعة بغداد ومعهد الهندسة الوراثية - جامعة بغداد. نشطت العزلات حسب الطريقة الوارد ذكرها من قبل Atlas وجماعته (5). وحضرت تراكيز محاليل الأساس لبذور الخردل الأبيض حسب الطريقة التي اعتمدها Crespo وجماعته (8) عند دراستهم تأثير المستخلصات الخمسة لبذور الخردل الأبيض في فعالية البكتريا الاختبارية قيد الدراسة. واختبر التركيز المثبط الأدنى MIC للمستخلص المائي لبذور الخردل الأبيض في البكتريا حسب الطريقة الواردة NCCLS (19) وهي طريقة التخفيف بالاكازر Agar Dilution Method.

النتائج والمناقشة

بينت نتائج تحليل المكونات الكيميائية الأساسية لبذور الخردل الأبيض احتواءها على الزيت، البروتين، الكربوهيدرات، الرماد، الألياف والرطوبة بنسب 37.14، 26.24، 24.68، 5.03، 4.75 و2.16% على التوالي، وعند مقارنتها مع دراسة Xu وجماعته (25) نجد أنها تتفق مع نسبة البروتين التي وجدها عند دراسته بذور أنواع من الخردل حيث احتوت على 23-30%، أما نسبة الدهن فكانت أعلى والتي تراوحت بين 29-36%. وتتفق نسبة الألياف التي وجدت مع ما وجد في دراسة Misfud (17)، في حين أن نسبة الكربوهيدرات في هذه الدراسة هي اقل مما وجد في دراسة Misfud (17)، وان الاختلافات بين نسب المكونات لهذه الدراسة مع الدراسات المشار إليها قد تعود لاختلاف أصناف البذور المستعملة والطرائق التي اعتمدت في تقدير المكونات.

تبين نتائج الكشف الكيميائي النوعي للمجموعات الفعالة في بذور الخردل الأبيض (جدول 1) احتواء هذه البذور على كل من الكلايكوسيدات والتانينات والقلويدات والراتنجات والفلافونات والفينولات، وكان رقم الهيدروجين

للمستخلص المائي لبذور الخردل الأبيض 5.1. تعد هذه المركبات نواتج أيض ثانوية في النباتات التي تحتويها ولها دور فعال كوسيلة دفاعية في النباتات تعمل كمضادات للأحياء المجهرية (11).

جدول 1: الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المجموعات الفعالة في بذور الخردل الأبيض

المركب	الكاشف المستعمل	نتيجة الكشف
الكلايكوسيدات Glucosides	أ- كاشف فهلنك ب- كاشف بندكت	راسب احمر + راسب احمر +
التانينات Tannins	أ- خلات الرصاص 1% ب- كلوريد الحديدك 1%	راسب ابيض هلامي + ظهور لون اخضر مزرق
القلويدات Alkaloids	أ- كاشف واكر ب- كاشف ماير	راسب بني + راسب ابيض +
الراتنجات Resins	كحول اثيلي مغلي + ماء مقطر حمض	عكارة +
الفلافونيدات Flavonoids	كحول اثيلي + هيدروكسيد الصوديوم	ظهور لون اصفر +
الفينولات Phenols	كلوريد الحديدك 1%	لون اخضر مزرق +

النتيجة لثلاثة مكررات من العينة

درست فعالية مستخلصات بذور الخردل الأبيض تجاه عزلات البكتريا الاختبارية الأربع *Salmonella*، *Bacillus subtilis*، *Shigella dysenteriae* و *Proteus vulgaris* السالبة لصبغة غرام و الموجبة لصبغة غرام، ووقع الاختبار على هذه الأنواع البكتيرية لأنها من المسببات الشائعة لبعض الأمراض التي يتعرض لها الإنسان والحيوان. كما أنها تعد من الملوثات التي تسبب التلف لبعض الأغذية (18).

يبين جدول (2) معدل أقطار منطقة التثبيط للمستخلص المائي لبذور الخردل الأبيض الذي جرى استخلاصه في درجة حرارة 20م إذ كانت 5.8، 7.1 و 8.4 ملم لكل من البكتريا السالبة لصبغة كرام: *Shig dysenteriae*، *Sal typhimurin*، *P. vulgaris* على التوالي، في حين بلغ قطر منطقة التثبيط 10.8 ملم للبكتريا الموجبة لصبغة كرام *B. subtilis*، وان هذه الأقطار مطروح منها قطر الحفرة 4 ملم لكل النتائج الواردة في الدراسة. بينما بلغ معدل أقطار منطقة التثبيط للمستخلص المائي الذي جرى استخلاصه في درجة حرارة 40م (11.5، 13.8 و 14.5) ملم للبكتريا السالبة لصبغة كرام *Shig. dysenteriae*، *Sal. typhimurium* و *vulgaris*. على التوالي، بينما بلغ 16.6 ملم لبكتريا *B. subtilis* الموجبة لصبغة كرام. أما معدل أقطار منطقة التثبيط بالنسبة للمستخلص المائي الذي جرى استخلاصه على درجة حرارة 60م فكان 8، 9.1 و 9.8 ملم للبكتريا السالبة لصبغة كرام وهي *Shig. dysenteriae*، *Sal. typhimurium* و *P. vulgaris* على التوالي. وبلغ 12.6 ملم لبكتريا *B. subtilis* الموجبة لصبغة كرام.

أن احتواء المستخلصات المائية لبذور الخردل الأبيض على الكلايكوسيدات فضلاً عن تأثير المجموعات الفعالة الأخرى مثل القلويدات، الراتنجات، المركبات الفينولية، التانينات والزيوت الأساسية جعل المستخلص المائي يمتلك فعالية تثبيطية تجاه البكتريا الاختبارية، وتتوافق النتائج مع ما وجدته Carmen و Drewnswski (11) من أن النباتات ولاسيما نباتات العائلة الصليبية التي تحتوي على الفينولات والفلافونات والتربينات والكلايكوسيدات تكون قاتلة للأحياء المجهرية ومضادة للأكسدة. ومن جدول (2) نجد أن معدل أقطار منطقة التثبيط للمستخلص المائي الذي جرى استخلاصه في درجة حرارة 40م قد تفوق على المستخلصين اللذين جرى استخلاصهما بالماء في حرارة 20 و 60م ولجميع البكتريا الاختبارية، ويحتمل أن يعود السبب إلى أن درجة الحرارة المثلى هي 37م لعمل أنزيم Myrosinase وهي اقرب إلى 40م، حيث يعمل هذا الأنزيم على تحطيم الكلايكوسيدات المهمة للحصول على الزيت الاساسي الفعال،

وهذا يتوافق مع ماجاء به **Botti** وجماعته (6)، كما تتفق النتائج مع ما ذكره **Pechacek** وجماعته (22) فقد أشار إلى أن درجة حرارة 20م هي درجة حرارة منخفضة لتحلل السينالين في بذور الخردل، أما درجة حرارة 40 و 60م فتكون أسرع في التحلل ولكن المركبات الناتجة عند الاستخلاص في درجة حرارة 60م تكون اقل استقرارا وللمدة الزمنية نفسها. يلاحظ من جدول (2) أن معدل أقطار منطقة التثبيط للمستخلص الزيتي للهكسان هي 2.3، 2.8 و 3.8 ملم للبكتريا السالبة لصبغة كرام *Shig. dysenteriae*، *Sal. typhimurium* و *P. vulgaris* على التوالي، وبلغ 6.6 ملم لبكتريا *B. subtilis* الموجبة لصبغة كرام. ونجد أن المستخلص الزيتي لبذور الخردل كان تأثيره ضئيلا تجاه البكتريا الاختبارية بالمقارنة مع المستخلصات المائية السابقة الذكر، وقد يعود سبب ذلك إلى أن مستخلص الهكسان يكون ذا محتوى قليل من الكلايكوسيدات ويكون جزء منها ارتباطات كارهة للماء مع البروتين لوجود حلقة الفينول في مركب **P-hydroxy benzyl glucosinolate** مما يقلل من جاهزيتها كمادة فعالة (12). يتضح من جدول (2) عدم وجود فعالية تثبيطية للمستخلص الكحولي لبذور الخردل الأبيض لأنواع البكتريا الاختبارية قيد الدراسة كافة، وربما يعود السبب في ذلك إلى أن أنزيم **Myrosinase** المهم لتحطم الكلايكوسيدات قد يكون فاقدا فعاليتها بسبب وجود الخاليل العضوية ومنها الكحولات الأحادية المستخدمة في الاستخلاص (6).

جدول 2: تأثير مستخلصات بذور الخردل الأبيض تجاه البكتريا الاختبارية

مستخلص البذور بكتريا الاختبار	قطر منطقة التثبيط (ملم)				
	مستخلص مائي (20°م)	مستخلص مائي (40°م)	مستخلص مائي (60°م)	مستخلص زيتي (هكسان)	مستخلص كحولي (أيثانول 95%)
<i>Shig. dysenteriae</i>	c5.80	a11.5	b8.00	d2.3	e0
<i>Sal. typhimurium</i>	c7.10	a13.8	b9.10	d2.8	e0
<i>P.vulgaris</i>	c8.40	a14.5	b9.80	d3.8	e0
<i>B. subtilis</i>	c10.8	a16.6	b12.6	d6.6	e0

* قطر منطقة التثبيط مطروح منها قطر الحفرة (4ملم).

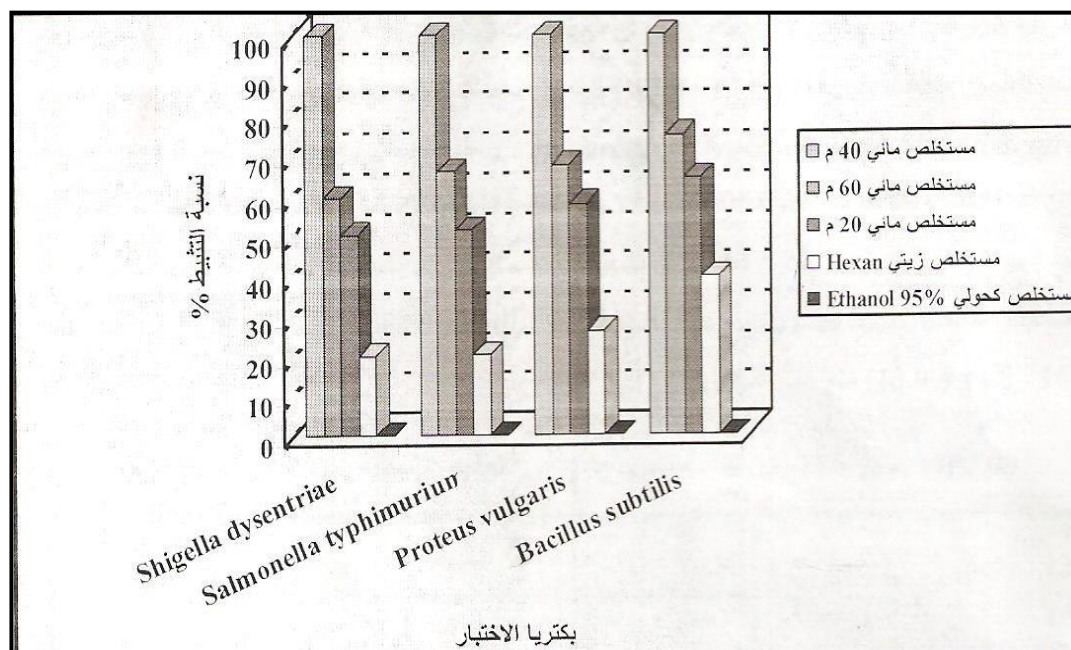
** الأحرف المشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية والمختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال (0.05).

يتضح من جدول (2) أن البكتريا السالبة لصبغة كرام تمتلك تحملاً أعلى نسبياً من البكتريا الموجبة لصبغة كرام تجاه مستخلصات بذور الخردل الأبيض قيد الدراسة، كما أن بكتريا *Shig. dyenteriae* كانت أكثر تحملاً للمستخلصات تليها بكتريا *Sal. typhimurium*، ثم *P. vulgaris* في حين كانت بكتريا *B. subtilis* الموجبة لصبغة كرام أكثر حساسية تجاه جميع أنواع المستخلصات المدروسة، وتتفق هذه النتائج مع ما ذكره **Uda** وجماعته (24) من أن البكتريا الموجبة لصبغة كرام أكثر حساسية من السالبة تجاه مستخلصات بذور الخردل.

نجد من خلال شكل (1) أن المستخلص المائي الذي جرى استخلاصه بدرجة حرارة 40م تميز بقابلية تثبيطية أعلى من بقية المستخلصات يعقبه المستخلص المائي الذي جرى استخلاصه في درجة حرارة 60م ثم المستخلص المائي الذي جرى استخلاصه في درجة حرارة 20م ويعقبه المستخلص الزيتي ولم يظهر المستخلص الكحولي أي تأثير تجاه البكتريا الاختبارية. كذلك نلاحظ وجود فروق معنوية عالية بين أنواع مستخلصات بذور الخردل عند مستوى احتمال (0.05). كذلك يبين شكل (1) أن النسبة المئوية للتثبيط كانت في أقصاها للمستخلص المائي الذي جرى استخلاصه بدرجة حرارة 40م وانخفضت إلى 66% تجاه بكتريا *Sal. typhimurium* على سبيل المثال مقارنة مع المستخلص المائي الذي استخلص بدرجة حرارة 60م ليستمر الانخفاض في نسبة التثبيط إلى 50.4% مع المستخلص المائي الذي جرى استخلاصه في درجة حرارة 20م لتصل نسبة التثبيط إلى 20% مع المستخلص الزيتي. أظهرت النتائج تبايناً في تأثير مستخلصات بذور الخردل الأبيض في عزلات البكتريا الاختبارية، ويعود سبب ذلك إلى تباين طرائق الاستخلاص

المستعملة واختلاف قطبية المذيب المستعمل إذ أن عملية الاستخلاص أدت إلى اختلاف في محتوى المستخلصات من المجموعات الفعالة وهذا يتفق مع ما ذكره Kim وجماعته (16) والذي أشار إلى أن لطريقة الاستخلاص أثر في نوعية المركبات الطيارة المستخلصة في أوراق وبذور الخردل.

استعملت طريقة التخفيف بالاكثار لدراسة فعالية المستخلصات المائية لبذور الخردل الأبيض والذي جرى استخلاصه في درجات حرارة 20، 40 و60م على التوالي، ويلاحظ من نتائج التجربة (جدول 3) أن مقدار التأثير المثبط الأدنى (MIC) للمستخلص المائي 40م كان 20 ملغم/مل لكل من بكتريا *Sal. typhimurium* و *Shig.* *Dysentriae*، وكانت قيمته 10 ملغم/مل لبكتريا *P. vulgaris*، بينما بلغ 5 ملغم/مل لبكتريا *B. subtilis*.



شكل 1: النسبة المئوية للتثبيط لمستخلصات بذور الخردل الأبيض تجاه البكتريا الاختبارية

جدول 3: التركيز المثبط الأدنى (MIC) للمستخلص المائي عند درجات حرارة 20، 40 و60م على التوالي لبذور الخردل تجاه البكتريا الاختبارية

MIC (ملغم/مل)	30 ملغم/مل			20 ملغم/مل			10 ملغم/مل			ملغم/مل			تركيز المستخلص (ملغم/مل) البكتريا الاختبارية
	60م	40م	20م	60م	40م	20م	60م	40م	20م	60م	40م	20م	
20	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>Shig. dysentriae</i>
20	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	<i>Sal. typhimurium</i>
10	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	<i>P. vulgaris</i>
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	<i>B. subtilis</i>

(+) وجود نمو (-) عدم وجود نمو

أما تأثير الحزن في الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي لبذور الخردل الأبيض، والذي اعتمد كونه الأفضل من حيث الفعالية التثبيطية والمستخلص عند 40م، فقد نفذت تجربة تأثير الحزن في درجة حرارة 5م على فعاليته التثبيطية تمت متابعة ذلك للمدد الزمنية 0، 1.5 و3 شهور، وبين جدول (4) أن معدل أقطار منطقة التثبيط بلغت 11.5، 13.8 و14.5 ملم لكل من البكتريا السالبة لصبغة كرام *Shig. dysentriae*، *Sal. typhimurium* و *P. vulgaris* على التوالي بعد يوم من الاستخلاص، وبلغت 9.3، 11.5 و12.1 ملم على التوالي عند الحزن لمدة 1.5

شهر، أما عند نهاية مدة الحزن فقد بلغت 6.8، 8 و 9.2 ملم على التوالي. بينما بلغ معدل أقطار منطقة التثبيط للبكتريا الموجبة لصبغة كرام *B. subtilis* للمدد الزمنية أعلاه 16.6، 14.8 و 13 ملم على التوالي. ويتضح من جدول (4) أن المستخلص المائي الأكفأ لبذور الخردل قد احتفظ بفعالته التثبيطية تجاه أنواع البكتريا الاختبارية طيلة مدة الحزن بالرغم من حدوث انخفاض نسبي للفعالية طيلة مدة الحزن. وكانت هناك فروق معنوية بين المدد الحزنية عند مستوى احتمال ($p < 0.05$). أن انخفاض فعالية التثبيط للمستخلص المائي المخزون قد تعود إلى انخفاض تركيز الايزوثايوسيانيات بسبب الحزن، وهذا ما أكدته Cejpek وجماعته (7) حيث لاحظ انخفاض تركيز الايزوثايوسيانيات في مستخلص الخردل من 1.2 ملغم/غم إلى 1 ملغم/غم بعد مدة حزن دامت 40 يوماً في درجة حرارة 5م، وانخفض التركيز إلى 0.7 ملغم/غم لنفس المدة وعلى درجة حرارة 20م. وأشار Ohata وجماعته (20) إلى إن تحطم الايزوثايوسيانيات في المحاليل المائية ينتظم تحت سيطرة تفاعلات حركية من الرتبة الأولى. وتتفق النتائج مع ما جاء به Panizzi وجماعته (21) حول حساسية البكتريا الموجبة لصبغة كرام لوجود التراكيز البسيطة من الزيوت الأساسية بالمقارنة مع البكتريا السالبة لصبغة كرام خاصة *Shig. dysenteriae* و *Sal. typhimurium* فقد وجدوا أن البكتريا الموجبة التفاعل مع صبغة غرام تكون حساسة للتراكيز المنخفضة من الزيوت الأساسية لأنواع عديدة من النباتات بالمقارنة مع البكتريا السالبة لصبغة غرام.

جدول 4: تأثير مدة الحزن في 5م في الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي (المستخلص عند 40م) تجاه بعض البكتريا الاختبارية

MIC (ملغم/مل)	قطر منطقة التثبيط (ملم)			مدة الحزن البكتريا الاختبارية
	بعد 3 أشهر استخلاص	بعد 1.5 شهر استخلاص	بعد يوم استخلاص	
20	c 6.8	b 9.3	a 11.5	<i>Shig. dysenteriae</i>
20	c 8.0	b 11.5	a 13.8	<i>Sal. typhimurium</i>
10	c 9.2	b 12.1	a 14.5	<i>P. vulgaris</i>
5	c 13.0	b 14.8	a 16.6	<i>B. subtilis</i>

*قطر منطقة التثبيط مطروح منها قطر الحفرة (4ملم).

**الأحرف المشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية والمختلفة تعني وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال (0.05).

المصادر

- 1- الدجوي، علي (1996). موسوعة إنتاج النباتات الطبية والعطرية، مكتبة مدبولي، القاهرة.
- 2- الزويبي، عامر حمدان حسين (2006). تأثير مستخلصات بذور الخردل الأبيض في بعض الأحياء المجهرية واستخدامها في حفظ الحليب الخام والقشدة. رسالة ماجستير-كلية الزراعة-جامعة بغداد.
- 3- المنظمة العربية للتنمية الزراعية (1988). النباتات الطبية والعطرية السامة في الوطن العربي الخرطوم.
- 4- A.O.A.C. (1980). Official Methods of Analysis, 13th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C.
- 5- Atlas, R. M.; A. E. Brown and L. C. Parks (1995). Laboratory Manual of Experimental Microbiology. Mosby Company, Yearbook, Inc., St. Louis.
- 6- Botti, M.; T. Grazia; G. Malcolm and N. P. Botting (1995). Studies on the Mechanism of Myrosimase. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, 270 (35): 20530-20535.
- 7- Cejpek, K.; J. Valusek; J. Velisek and H. Harbcova (1998). Effect of sulphate treatment on allylisothiocyanate in Mustard Paste. Food Chemistry, 62(1): 53-57.
- 8- Crespo, M. E.; J., Jimenez; E. Gomis and C. Nararro (1990). Antimicrobiol activity of essential oil of Tymus scrpylloides subspecies gadrensis. Micro. Bios. 61: 181-184.

- 9- Delaquis, P. J.; G. and Mazza (1995). Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation. *Food Technology*, 49 (11): 73-84.
- 10- Desmukh, S. D.; M. N. and Borle (1975). Studies on the insecticidal properties of indigenous plant products. *Indian. J. Enth. Pharm.*, 37(1):11-18.
- 11- Drewnowski, A.; G. C. and Carmen (2000). Bitter taste phyto nutrients, and the consumer. *American Journal of Nutrition*, 72(6) 1424-1435.
- 12- Fenwick, G. R.; R. K. Heaney and W. J. Mullin (1983). Glucosinolates and their breakdown products in food and plants. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*, 18:123-201.
- 13- Internet 1. (2002). Mustard. www.Agriculture crops oilseed Mustard. htm.
- 14- Kim, Y. S. and D. H. Shin (2005). Volatile components and antibacterial effects of pine heddle (*Pinus densiflora*) extracts. *Food Microbiology*, 22:37-45.
- 15- Kim, Y. S.; E. S. Ahn and D. H. Shin (2002). Extension of shelf life by treatment with allylisothiocyanate in combination with acetic acid on cooked rice. *Journal of Food Science*, 67(1) :274-279.
- 16- Kim, Y. S.; S. B. Park; Ji. Y. Lee; Y. H. Kim and D. H. Shin (2001). Volatile compounds and antimicrobial effects of mustard seeds and leaf mustard seeds according to extraction method. *Food Sci. Biotechnol.*, 10(5): 468-474.
- 17- Misfud, S. (2003). Marz-kreations. Com/Malta [www. Wild Plants of Malta and Gaza-Plant Sinpis alba \(White Mustard\). htm](http://www. Wild Plants of Malta and Gaza-Plant Sinpis alba (White Mustard). htm).
- 18- Musaiges, A. O. and S. S. Miladi (1997). The state of food and nutrition in the near-east countries. 42-43. *FAO Regional office for the Near-East. Cairo, Egypt, FAO, Rome.*
- 19- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (1993). Approved standards. M7-A3 methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grown aerobically. Villanova. Pa.
- 20- Ohata, Y.; Takatani, K. and S. Kawakishi (1995). Decomposition of rate of allylisothiothiocyanate in aqueous solution. *Bio. Sci. Biotech. Biochem.*, 59:102-103.
- 21- Panizzi, L.; G. Flamini; P. L. Ciani and L. Morelli (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J. Ethan. Pharmacology*, 39: 167-170.
- 22- Pechacek, R.; J. Velisek and J. Davidek (2000). Decomposition of sin grin by methanol/ammonia/water treatment in model systems and mustard (*Brassica nigra* L.) seed meal. *Eur. Food Res. Technol.*, 210: 196-201.
- 23- Shtayeh, M. S. A. and S. I. Abu-Ghdeib (1999). Antifungal activity of plant extract against dermatophytes. *J. Mycoses*, 42: 665-672
- 24- Uda, Y.; H. Matsuoka; H. Shim; H. Kumagami and Y. Maeda (1993). Antimicrobial activity of water-soluble products, derived from radish mustard oil and identification of an active component therein. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish.*, 40: 801-806.
- 25- Xu, L.; F. Lui; H. Luo and L. L. Diosady (2003). Production of protein isolated from yellow Mustard by membrane processes. *Food Research International*, 36: 849-856.

COMPARE ANTIMICROBIAL INHIBITION OF WHITE MUSTARD SEEDS EXTRACTS AGAINST SOME BACTERIAL STRAINS

A. H. Himdan*

A. A.-R. Alsak-Thaher*

M.T. Al-Kaisey**

ABSTRACT

The study was conducted on white mustard *Sinapis alba* seeds which belong to Brassicaceae family. The chemical composition of seeds were 2.16% moisture, 26.24% protein, 37.14% fat, 4.75% fiber, 5.03% ash and 24.68% carbohydrates. The preliminary chemical detection of active compounds showed that the seeds contain glycosides, tannins, alkaloids, resins, flavonoids and phenols.

The bioactivity assay included preparation of five extracts mustard seeds were water extracts (with different temperature degrees of extraction 20, 40 and 60C°), oil extract by hexane and alcohol extract by 95% ethanol.

The inhibition activity of the hot water, ethanol and oil extracts of white mustard seeds were evaluated on bacterial tested isolates, which includes four gram negative *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus vulgaris*, and gram positive bacteria *Bacillus subtilis* using the well diffusion method. The water extracts had highly significant effect in comparison to other extracts, followed by the oil extract (hexane), while the alcohol extract showed the lowest inhibitory effect.

Water extract at 40 C° degree of extraction had effectiveness to inhibit bacteria and still have inhibition activity against bacterial test in spite of strong the extract for 3 months under cooling conditions at 5C°.

Part of M. Sc., thesis of the first author.

* College of Agric., Baghdad Univ., Baghdad, Iraq.

** Ministry of Agric., Baghdad, Iraq.