التأثير التثبيطي لمستخلصات ثمار نبات الكزبرة *Coriandrum sativum* في بعض البكتريا الملوثة للحم المفروم

لبيب احمد كاظم الزبيدي* مهدي ضمد القيسي**

الملخص

اختبرت الفعالية التثبيطية للمستخلصات:المائي الساخن (50°م) والكحول الاثيلي والزيتي لثمار نبات الكزبرة في العزلات البكتيرية الاختبارية، والتي تضمنت عزلات سالبة لملون كرام ***Salmonella typhimurium*** و***Escherichia coli*** و***Pseudomonas aeruginosa*** وعزلة موجبة لملون كرام ***Staphylococcus aureus***، وبطريقة الانتشار بالحفر. لوحظ بان الفعالية التثبيطية للمستخلصات الثلاثة قد تنوعت باختلاف مذيب الاستخلاص والكائن الدقيق الاختباري. كما أعطى المستخلص الزيتي تفوقاً على بقية المستخلصات في تثبيط عزلات البكتريا الاختبارية ماعدا عند بكتريا ***Ps. aeruginosa***، حيث تفوق المستخلص الكحولي على المستخلص الزيتي. بينما أظهر المستخلص المائي الساخن (درجة حرارة 50م) أوطأ فعالية تثبيطية. بينت أقطار مناطق تثبيط النمو للبكتريا الاختبارية بان بكتريا ***Ps. aeruginosa*** أقل تحسسا من بقية البكتريا الاختبارية.

المقدمة

يعد اللحم وسطاً جيدا لنمو كثير من ألأحياء الدقيقة,حيث تسبب هذه الأحياء تلف وفساد اللحوم وإعطاء روائح ونكهات غير مرغوبة، وقد يصبح اللحم ساما للإنسان عند تناوله كما في حالة تلوثه ببكتريا السالمونيلا والمكورات العنقودية فضلا عن بكتريا ***Clostridium perfringens*** و***Enteric bacteria*** و ***Streptococcus faecalis*** و***Proteus***. نظرا الى احتواء النباتات والأعشاب على مواد كيميائية كنواتج ثانوية من عمليات الأيض المختلفة وتسمى بالنواتج الطبيعية، وهي تمتلك فوائد مختلفة نتيجة لتأثيرها الفسيولوجي ونشاطها العلاجي للإنسان والحيوان، فهي تستطيع أن تثبط أو تحد من فعالية الأحياء الدقيقة التي تسبب فساد أو تلف الأغذية، ورغبة في الحصول على مضادات ميكروبية طبيعية لاستعمالها مواداً حافظة طبيعية للأغذية بدلا من المضافات الكيميائية التي كثرة التحذيرات من تأثيراتها الجانبية (14). فقد استخدمت مستخلصات كل من القرنفل والكمون والفلفل الأسود لتثبيط تكون السموم الفطرية عند أضافتها إلى نقيع الرز من خلال الحد من نمو الأحياء الدقيقة المنتجة لها فضلا عن تحسين النكهة والمذاق (15). واستخدم الجليلي وجماعته (1) زيت الدارسين العطري كمادة حافظة لإطالة مدة حفظ الجبن الأبيض الطري، وأظهرت النتائج تأثيراً تثبيطياً معنوياً في العدد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون. كما أوصى Delaquis (9) بإضافة مستخلص الفجل الحار Horse radish إلى اللحم غير المملح كمادة حافظة من خلال تأثيره في تثبيط نمو العزلات البكتيرية المسببة للتسمم الغذائي. ووجدت الجنابي (2) أن إضافة 4% من مستخلص الجرجير المجفف ***Eruca sativa*** لصناعة منتوج الكفتة من لحم الغنم المفروم قد احدث اختزالا كبيرا في العدد الكلي للبكتريا. أما العاني (4) فقد استخدم المستخلصات المائية والكحولية لراتنج (صمغ) لنباتي المستكي ***Pistacia lentiscus*** والكندر (لبان ذكر) ***Boswella cartrii*** وبذور الحبة السوداء ***Nigella sativa*** من خلال التأثير في الأحياء الدقيقة المسببة لتلوث الجبن الطري العراقي وبالتالي أطالة عمره الخزني، فضلا عن إكسابه نكهة مميزة ومقبولة من قبل المستهلك. واستخدمت الكزبرة في الأغذية وذلك لما لها من طعم ونكهة مميزتين، كما وتمتاز بقابليتها على حفظ الأغذية من التلوث، حيث يحتوي زيت بذور الكزبرة على 55–74% من مركب linalool، فضلا عن مركبات alpha وbeta pinene

* وزارة العلوم والتكنولوجيا – بغداد، العراق.

** وزارة الزراعة – بغداد، العراق.

وlimonene وgamma-terpinene (p-cymene وanethole و geraniol وcamphor)، و4-17% من oleic acid وpetroselinic acid – 5 وcoumarins و8-methoxypsoralen وimperatorin flavonoids وtannins (22). فقد اظهر زيت الكزبرة بتركيز 40 ملغم/سم^2 فعالية تثبيطية تجاه بكتريا *Listeria monocytogenes* حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 21.3 مليمتر، بينما بلغ في بكتريا *Escherichia coli* O157:H7 17.1 ملم (8).

لذا فقد هدفت هذه الدراسة إلى اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية الساخنة والكحولية والزيتية لبذور نبات الكزبرة في بعض البكتريا الملوثة للحم المفروم.

المواد وطرائق البحث

أمكن الحصول على بكتريا *Staph. aureus*، *E. coli*، *Sal. typhimurium* و*Ps. aeruginosa* المعزولة من اللحم المفروم من مركز سلامة الغذاء/ وزارة العلوم والتكنولوجيا والمشخصة في مختبر الصحة المركزي/ وزارة الصحة, ولغرض التأكد من نقاوتها تم إجراء بعض الاختبارات التشخيصية منها تفاعلها مع ملون غرام فضلا عن بعض الفحوص الكيموحيوية بالاعتماد على الطرائق المرجعية الواردة في Holt وجماعته (13). وحفظت العزلات البكتيرية على سطح وسط الأكار المغذي المائل Slant بدرجة حرارة 4 م لحين الاستخدام.

حضرت الكواشف حسب الطريقة التي ذكرها Stahl (21) وSmolensk وجماعته (20)، بينما حضرت المحاليل حسبما ذكره Atlas وجماعته (7). حضرت الأوساط الزراعية حسب تعليمات الشركات المجهزة وضبط رقم الهيدروجين المناسب لها، ثم عقمت جميع الأوساط بالمؤصدة عند درجة حرارة 121م (ضغط 1.5 باوند/انج^2) مدة 15 دقيقة. تم الحصول على بذور نبات الكزبرة من الأسواق المحلية، وشخصت حسبما ورد في FAO (11). طحنت النماذج بواسطة طاحونة منزلية للحصول على مسحوق متجانس وحفظ في حاويات زجاجية نظيفة لحين الاستخدام.

للحصول على المستخلص المائي الساخن (50°م) لثمار نبات الكزبرة اتبعت ألطريقة ألتي ذكرها Shtayeh وAbu-Ghdeib (18). وحضر المستخلص الكحولي والمستخلص الزيتي لثمار نبات الكزبرة باستخدام الكحول الاثيلي والهكسان على الترتيب وحسب الطريقة التي وصفها Desmukh و Borle (10) مع إجراء بعض التحويرات وشملت درجة حرارة 75م ولمدة 6 ساعات ونوع المذيب المستخدم. جرى تركيز المستخلص باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator تحت الضغط المخلخل عند حرارة 45°م. واتبعت طريقة Shihata (19) للكشف عن المجوعات الفعالة. استخدمت طريقة الانتشار في الحفر (Well diffusion method) لتقدير فعالية مستخلصات ثمار الكزبرة المائية الساخنة والكحولية والزيتية وبتراكيز 5، 10، 15، 20 و25% كل منهما على انفراد ضد السلالات بالمقارنة مع محلول مكفرلاند الذي حضر بمزج 0.5 مل من محلول كلوريد الباريوم مع 9.5 مل من 1% حامض الكبريتيك في انبوبة زجاجية ذات غطاء محكم لمنع التبخر وحفظت في الظلام وكانت عكورة هذا المحلول مطابقة إلى كثافة خلوية بواقع 1.5×10^8 خلية/ملم (16).

النتائج والمناقشة

يبين جدول (1) نتائج استخدام ثلاثة أجناس من البكتريا السالبة للون كرام وهي *E. coli*، *Sal. typhimurium* و*Ps. aeruginosa*، وبكتريا *Staph. aureus* الموجبة للون كرام، وذلك لان هذه البكتريا تعد من المسببات الشائعة لبعض الإمراض التي يتعرض لها الإنسان والحيوان فضلا عن أنها تعد من الملوثات التي تسبب

التلف لبعض الأغذية (17). تم التأكد من نقاوة العزلات الاختبارية المذكورة تبعاً للنتائج المستحصل عليها من الاختبارات البايوكيميائية التأكيدية.

جدول 1: الفحوص البايوكيميائية التأكيدية لنقاوة العزلات البكتيرية الاختبارية

نوع الفحص	*E. coli*	*Sal. typhimurium*	*Ps. aeruginosa*	*Staph. aureus*
ملون كرام	−	−	−	+
الاوكسديز	−	−	+	−
الكاتاليز	+	+	+	+
أنتاج الاندول	+	−	+	N
أنتاج صبغة الهيموسيانين	−	−	+	N
أنتاج H_2S	−	+	−	−

(N) لم يتم اختبارها ؛ (+) الفحص موجب؛ (−) الفحص سالب.

اظهر جدول (2) نتائج الكشف ألنوعي عن وجود المجموعات الفعالة في مستخلصات بذور الكزبرة (المائي الساخن، الكحولي والزيتي) تباينا في وجودها في هذه المستخلصات، فقد احتوى المستخلص المائي الساخن على التانينات والفلافونات والفينولات والتربينات والصابونيات، بينما احتوى المستخلص الكحولي على جميع هذه المجموعات ماعدا التربينات والقلويدات والستيرويدات التي لم تظهر ايجابية الكشف كما واحتوت كذلك على الكلايكوسيدات والراتنجات، أما المستخلص الزيتي للبذور فقد احتوى على مجموعات الفلافونات والتربينات والستيرويدات والراتنجات والصابونيات. وتعد المركبات المذكور أعلاه من نواتج الأيض الثانوية والتي لها أهمية دفاعية للنباتات تجاه الإحياء الدقيقة وكذلك استفاد منها الإنسان في مجالات الغذاء والدواء المتعددة (8).

جدول 2: نتائج الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المجموعات الفعالة لمستخلصات بذور الكزبرة

نوع المعاملة	نوع المستخلص		
	المائي الساخن	الكحولي	الزيتي
التانينات	+	+	−
القلويدات	−	−	−
الكلايكوسيدات	−	+	−
الكوماورينات	−	−	−
الفلافونات	+	+	+
الفينولات	+	+	−
التربينات	+	−	+
الستيرويدات	−	−	+
الراتنجات	−	+	+
الصابونيات	+	+	−

(+) الفحص موجب ؛ (−) الفحص سالب

يستدل مما تقدم الى أن مستخلصات ثمار نبات الكزبرة اختلفت في محتواها على المجموعات الفعالة. وللتحري عن الفعالية التثبيطية للمستخلصات المائية الساخنة (50°م) والكحولية والزيتية لبذور الكزبرة تجاه عزلات البكتريا الاختبارية ***Sal. typhimurium*** و***E. coli*** و***Ps. aeruginosa*** و***Staph. aureus*** فقد بينت نتائج الجدول (3، 4، 5) وجود فروق لتأثير هذه المستخلصات في البكتريا الاختبارية قيد الدراسة. إذ اظهر المستخلص الزيتي (جدول 5) لبذور الكزبرة وبالتراكيز 15، 20 و25% فعالية تثبيطية أفضل من تأثير بقية المستخلصات ضد كل من بكتريا و***E. coli*** و***Staph. aureus*** و***Sal. typhimurium***، بينما كانت فعالية المستخلص الكحولي تجاه بكتريا ***Ps. aeruginosa*** هي الأعلى من بين المستخلصات الأخرى، فقد بلغت متوسطات أقطار مناطق التثبيط للمستخلص الزيتي بتركيز 25% في البكتريا أعلاه 14 و14 و16 ملم على التوالي، وبلغ متوسط منطقة التثبيط للمستخلص

الكحولي بتركيز 25% ضد *Ps. aeruginosa* هو8 ملم ، في حين بلغ 4مليمتر عند التركيز نفسه في المستخلص الزيتي.

أن احتواء المستخلص الزيتي لبذور الكزبرة على التربينات والستيرويدات فضلا عن تأثير المجموعات الفعالة الأخرى كالفلافونات والراتنجات قد يجعله يمتلك فعالية تثبيطية تجاه الأحياء المجهرية أعلى بالمقارنة مع فعالية المستخلص المائي الساخن والمستخلص الكحولي لبذور الكزبرة، وهذا يتفق مع ما ذكره **Anderson** وجماعته (**6**) و**Xiang** وجماعته (**23**) من أن الفعالية التثبيطية للبكتريا تعود إلى احتواء المستخلص على مجموعات التربينات والفلافونات والتي بدورها تعمل كمواد مضادة للأكسدة، حيث أظهرت النتائج تباينا في تأثير المستخلصات في عزلات البكتريا الاختبارية. وان للمستخلص المائي الساخن أوطأ فعالية من بقية المستخلصات المختبرة، فقد أظهرت بكتريا ***Ps. aeruginosa*** مقاومة أعلى من بقية البكتريا الاختبارية. وذلك لأنه عندما تتعرض خلايا الأحياء الدقيقة إلى أجهاد يمكن أن تخلق مواداً حامية (**Protectants**) في داخل الخلايا أو تجمعها من البيئة المحيطة بها بعمليات النقل الفعال وهذه المواد الحامية هي مجموعة من المواد تضفي الحماية على الخلايا وتختلف حسب نوع الخلايا أو نوع الإجهاد المعرضة له أو غيرها من العوامل غير الطبيعية، ومن هذه المواد الكلوتاميت (**Glutamate**) والمانيتول (**Mannitol**) والكربوهيدرات ومواد أخرى (**3**). وان لتباين طرائق الاستخلاص المستخدمة واختلاف قطبية المذيب المستخدم تأثيراً في وجود المجموعات الفعالة، ويتوافق ذلك مع ما أشارت أليه دراسة الذهب (**5**) التي أكدت على أن سبب الاختلاف في الفعالية بين المستخلصات النباتية يعود إلى نوع المستخلص المستخدم والطريقة المتبعة في الاستخلاص وقطبية المذيب، وكذلك ما ذكره **Giese** (**12**) من أن اختلاف الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة للمستخلصات النباتية يعتمد على نوع النبات والكائن الدقيق.

بناء على ذلك توصي الدراسة بأجراء دراسات كيميائية لفصل وتنقية المركبات الفعالة في ثمار نبات الكزبرة واستخدامها لأغراض غذائية أو علاجية مختلفة، ودراسة إمكانية استخدام المستخلصات المختلفة لثمار نبات الكزبرة ضد الأحياء الدقيقة المرضية داخل الجسم الحي ***in vivo***.

جدول **3**: نتائج الفعالية التثبيطية للمستخلص المائي الساخن (**50**°م) لبذور نبات الكزبرة في البكتريا الاختبارية

تركيز المستخلص	متوسط أقطار مناطق التثبيط (ملم)			
	E. coli	*Staph. aureus*	*Sal. typhimurium*	*Ps. aeruginosa*
السيطرة	**0**	**0**	**0**	**0**
%5	**0**	**0**	**0**	**0**
%10	**0**	**0**	**0**	**0**
%15	**0**	**0**	**0**	**0**
%20	**0**	**0**	**0**	**30**
%25	**2**	**2**	**2**	**4**

جدول **4**: نتائج الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحول الاثيلي لبذور نبات الكزبرة في البكتريا الاختبارية

تركيز المستخلص	متوسط أقطار مناطق التثبيط (ملم)			
	E. coli	*Staph. aureus*	*Sal. typhimurium*	*Ps. aeruginosa*
السيطرة	**0**	**0**	**0**	**0**
%5	**0**	**0**	**0**	**0**
%10	**0**	**3**	**3**	**0**
%15	**3**	**7**	**6**	**5**
%20	**7**	**10**	**10**	**6**
%25	**10**	**14**	**12**	**8**

جدول **5**: نتائج الفعالية التثبيطية للمستخلص الزيتي لبذور نبات الكزبرة في البكتريا الاختبارية

تركيز المستخلص	متوسط أقطار مناطق التثبيط (ملم)			
	E. coli	*Staph. aureus*	*Sal. typhimurium*	*Ps. aeruginosa*
السيطرة	0	0	0	0
%5	0	0	0	0
%10	0	3	0	0
%15	10	8	10	0
%20	12	12	12	0
%25	14	14	16	4

المصادر

1- الجليلي، نزار فخري؛ غازي يونس العبيدي؛ عمر فوزي عبد العزيز و حامد صالح (1987). استخدام زيت الدارسين لإطالة مدة حفظ الجبن الأبيض الطري. مجلة العلوم الزراعية العراقية، 18(2): 9-18.

2- الجنابي، نضال محمد صالح (2004). تأثير بعض المستخلصات النباتية كمضادات للأحياء المجهرية ومضادات أكسدة وتطبيقاتها في بعض الأنظمة الغذائية. أطروحة دكتوراه- كلية الزراعة- جامعة بغداد، العراق.

3- الخفاجي، زهرة محمود (2003). حفظ مزارع الخلايا الحية. معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا، جامعة بغداد، العراق.

4- العاني، اوس هلال جاسم (2006). تأثير بعض المستخلصات النباتية في الأحياء المجهرية المسببة لتلف الغذاء وتطبيقاتها في أطالة فترة حفظ الجبن الطري. أطروحة دكتوراه. كلية العلوم، الجامعة المستنصرية، العراق.

5- الذهب، أزهار عمران (1998). الفعالية التضادية لمستخلصات نباتية عراقية في بعض البكتريا الممرضة. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل، العراق.

6- **Anderson, R. A.; C. L. Broadhurst; M. M. Polansky; W. F. Schmidt; A. Khan; V. P. Flamgan; N. W. Schoene and G. L. Graves (2004). Isolation and characterization of polyphenol type A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. J. Agric. Food Chem., 52(1): 65-70.**

7- **Atlas, R. M.; A. E. Brown and L. C. Parks (1995). Laboratory Manual of Experimental Microbiology. Mosby Yearbook, Inc., St. Louis.**

8- **Cai, R.; N. S. Hettiarachy; M. G. Jonson; M. A. Janes and M. F. Slavik (2003). Preperation and evaluation of selected natural plant extracts as antimicrobial agents *Lasteria monocytogens*, *Salmonella typhimurium* and *E. coli* 0157:H7.Session 29F. Food Microbiology: Control of foodborne microorganisms by antimicrobials. 2006.Chicago.**

9- **Delaquis,P.(2000). Natural Antibacterial Product. http://res2.Agric/proc.crapac/english/2summerland/food/delaquis.htm.**

10- **Desmukh, S. D. and M. N. Borle (1975). Studies on the insecticidal properties of indigenous plant products. Indi. J. Ethnopharmacol, 37(1): 11-18.**

11- **Food and Agriculture Organization (FAO). (1988). FAO Production Yearbook, Vol. 52, Rome.**

12- **Giese, J. (1994). Antimicrobials assuring food safety. Food Techno., June:102-110.**

13- **Holt, J.G.; N. R. Krieg; P. H. Sneatgh; J. T. Staley and S.T. William (1994). Bergy's manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. William Wilkins Co. Baltimore.**

14- Kimble, C.F. (1977). Chemical preservation in disinfection, sterilization and preservation. S.B. Seymour (2nd) lea and Fabiger, Philadelphia.
15- Mabrouk, S.S. and N. M. El-Shayeb (1980). Inhibition of aflatoxin formation by some spices. Z.Lebensm. Unters. Forsch.,171(5):344-347.
16- Mahmoud, M. J.; A. J. Jawad; A. M. Hussain; M. Al-Omeri and A. Al-Naib (1989). *In vitro* antimicrobial activity of *Salsola resmarinus* and *Adiantum capillusveneris*. Int. J. Crude Drug Res., 27: 14-16.
17- 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
18- Shtayeh, M. S.A. and S. I. Abu-Ghdeib (1999). Antifungal activity of plant extract against dermatophytes. J. Mycoses, 42: 665-672.
19- Shihata, I. M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M. Sc. Thesis, Faculty of Vet. Med. Cairo Univ. Egypt.
20- Smolensk, S. J.; H. Silnis and N. R. Franswarth (1972). Alkaloid screening, Part I. Lioydia, 35(1):31-34.
21- Stahl, R. (1969). Thin layer chromatography, A laboratory handbook, 2nd ed., Translated by Ashworth M.R., Springer, Verlag, Berlin.
22- Snyder, O. P. (1997). Antimicrobial effects of spices and herbs. http://antimicrobial.
23- Xiang, Q.S.; L. Z. Zhen; L. Luyengi; L. S. Kook; J. M. Pezzato; N. R. FainsWorth; L. U. Thompson and H. H.S. Fong (1999). Isolation and characterization of flax seed (*Linum usitatissimum*) constituents Pharm. Biol., 937(1):1-7.

INHIBITION ACTIVITY OF *Coriandrum sativum* FRUIT AGANIST SOME BACTERIA CONTAMINATING GROUND MEAT

L. A. K. Al-Zubaidi* **M. T. Al-Kaisey****

ABSTRACT

The study was conducted to evaluate the inhibitory activity of the hot water (50°C), ethanol and oil extracts of *Coriandrum sativum* fruit on some bacterial tested isolates, which includes three gram negative isolates *Escherichia coli, Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa*) and gram positive isolate *Staphylococcus aureus*, by using the well diffusion method. The inhibitory activity of the three extracts in the tested bacterial strains was varied according to the type of the extract solvent and the microorganism. The oil extract was highly effective as compared to the other extracts as for the inhibition of the bacterial growth except with *Ps. aeruginosa* where the high effect was with the alcohol extract, while the hot water extract showed the lowest inhibitory effect. As the diameter of the growth inhibition areas of the tested bacteria, showed that *Ps. aeruginosa* was less sensitive than other tested bacteria.

* Ministry of Sci. and Tech., Baghdad, Iraq.
** Ministry of .Agric.- Baghdad, Iraq.