تحديد الفعالية التثبيطية لمستخلصات درنات نبات الكركم *Curcuma longa* L. واستعمالها في حفظ بعض أنواع الحبوب

لبيب احمد الزبيدي إيمان عباس خلف
ميعاد عدنان عبدالرزاق عادل سعدي سلمان

الملخص

إجري الكشف الكيميائي النوعي عن المجاميع الفعالة في درنات نبات الكركم *Curcuma longa* L المستخلص بواسطة الماء الساخن والأمواج فوق الصوتية والكحول الاثيلي، وأظهرت النتائج احتواء المستخلصات على المجاميع الفعالة الرئيسة إلا إنها اختلفت في محتواها من المجاميع الفعالة كماً ونوعاً، وتم تحليل حامض العفصيك لتحديد المحتوى الفينولي الكلي باستعمال طريقة **Folin-Ciocalteau** فوجد احتواء المستخلص الكحولي على نسبة عالية من المحتوى الفينولي الكلي، وكما اختبرت الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات الكركم في العزلات الفطرية الاختبارية التي شملت كلًا من *Aspergillus niger* و*Aspergillus flavus* و *Fussarium* spp. بطريقة الانتشار بالاكار، ولوحظ بان الفعالية التثبيطية قد تنوعت باختلاف طريقة الاستخلاص والمذيب المستخدم في عملية الاستخلاص والكائن الدقيق الاختباري، إذ أعطى المستخلص الكحولي لدرنات نبات الكركم بتركيزيه 5 و2.5% تفوقاً معنويا على المستخلصين الآخرين (المستخلص الماء الساخن ومستخلص بالأمواج فوق الصوتية) في تثبيط العزلات الفطرية الاختبارية ($p \leq 0.05$) ،إذ بلغت أقطار مناطق النمو لعزلات الفطرية الاختبارية **0**، **0.66** و**0** مليمتر و**1.6**، **2.83** و**1.86** ملمتر على التوالي، وأظهر العفن *Asp. flavus* مقاومة اعلى لفعالية المستخلصات قيد البحث مقارنة ببقية العزلات الاختبارية، واختبرت الفعالية التثبيطية المستخلص الكحولي لنبات الكركم بتراكيز **0.25**، **0.5** و**1** % كلا على انفراد في العزلات الفطرية الاختبارية لانتخاب التركيز الأمثل للفعالية فظهر عند تركيز **1**%، وعند معاملته لنماذج حبوب التي شملت الذرة الصفراء والرز والفول السوداني المعاملة بالخلايا الفطرية بتركيز $1x10^6$ خلية/ ملم2 لمدتي الحضن **28** و**36** يوماً بدرجة حرارة **28±1** م مقارنة بنماذج السيطرةً الموجبة وظهر عدم ظهور أي نمو فطري أو حدوث تغييرات في الشكل وقوام نماذج الحبوب بالرغم من الوصول بعد مدة حضن **36** يوماً مقارنة بأنموذج السيطرة (أنموذج بدون معاملة بالمستخلص) الذي ظهر نمو فطري وتغيير في قوام نماذج الحبوب وقبل مدة حضن عشرة أيام.

المقدمة

يعرف التسمم الغذائي عادةً بأنه حالة مرضية مفاجئة تظهر أعراضها أثناء مدة زمنية قصيرة على شخص أو أشخاص عدة بعد تناولهم غذاء غير سليم صحياً، إذ يحدث التسمم الغذائي للإنسان نتيجة لتناوله غذاء يحوي على أعداد كبيرة من الميكروبات المسببة للمرض أو السموم الناتجة عنها أو كلاهما معاً وهو أكثر الأنواع انتشاراً في العالم. توجد أنواع عدة من السموم الفطرية **Mycotoxins** التي تؤثر في صحة الإنسان (**3**، **17**). تعد الافلاتوكسينات **Aflatoxins** أكثر السموم الفطرية شيوعاً، فهي تنتج أساسا من قبل العفن *Aspergillus flavus* ، فضلاً عن *Aspergillus parasiticus* و*Aspergillus nomius*. توجد هذه الكائنات الدقيقة في العديد من المواد، ولكن بصفة خاصة في البذور الزيتية والكعك **(8)**. الافلاتوكسينات عبارة عن أنواع عدة تشمل B_1 ، B_2، M_1، G_1 وG_2، ويعد الافلاتوكسين **B1** أهم مسببات التسمم الحاد في النسيج الحشوي وتلف الكبد الذي يتطور الى سرطان أو الورم الحميد واحد العوامل المعروفة المسببة للسرطان من أصل طبيعي **(12)**. تكون المملكة النباتية غنية بمنتجاتها

وزارة العلوم والتكنولوجيا. بغداد، العراق.

الثانوية التي استعملت علاجاً أتجاه معظم الأمراض المستعصية التي تصيب الإنسان والحيوان، كما استعملت في قتل وتثبيط نمو الكثير من الأحياء الدقيقة المرضية التي تصيب الإنسان عن طريق الغذاء، وان استعمالها يكون بشكل آمن دون حدوث آثار جانبية ضارة (6). ذكر كل من Suwitchayanon وKunasakdakul (16) إن للمستخلصات المائية والكحولية لدرنات نبات الكركم فعالية تثبيطية ضد الممرضات، إذ وجد إن التركيز التثبيطي الأدنى لمستخلصات الكركم عند 470 جزءاً بالمليون و230 جزءاً بالمليون ضد فطريات كل من *Altenaria brassicicola* و *Fusarium oxyporum* على التوالي، كما استنتج Alonso (3) إن للمستخلص المائي والكحولي لنبات الكركم فعالية تثبيطية متوسطة إتجاه عدد من العزلات البكتيرية منها *Staphylococcus* sp. و*Escherichia coli*، فضلاً عن فعاليته التثبيطية للفطريات والاعفان ومنها *Helminthosporium* sp. و*Pyricularia oryzae* و*Rhizoctonia solani*.

هدفت هذه الدراسة الى استعمال درنات نبات الكركم لأنه متوفر ورخيص نسبياً في العراق من اجل حماية الحبوب الزراعية المهمة والضرورية للاقتصاد العراقي ومستقبل الانتاج الحيواني في العراق فضلاً عن الحفاظ على سلامة المستهلك العراقي.

المواد وطرائق البحث

حضرت الكواشف والمحاليل حسب الطرائق التي ذكرها Atlas وجماعته (5)، Stahl (14). تم الحصول على درنات نبات الكركم من الأسواق المحلية، وجرى تشخيصها وفقاً لما ذكر في FAO (9)، ثم طحنت بواسطة طاحونة منزلية، للحصول على مسحوق متجانس وحفظت في حاويات زجاجية نظيفة ومعقمة لحين الاستعمال. للحصول على المستخلص المائي ألساخن لدرنات نبات الكركم اتبعت الطريقة التي ذكرها كل من Shtayeh وAbu-Ghdeib (13). في حين حضر المستخلص الكحولي لدرنات نبات الكركم باستعمال الكحول الاثيلي بتركيز 95%، بينما حضر المستخلص بواسطة الأمواج فوق الصوتية حسب ألطريقة ألتي وصفها Desmukh وBorle (7)، واتبعت طريقة Shihata (12) في الكشف عن المجاميع الفعالة الرئيسة، وتم تحديد المحتوى الفينولي الكلي في مستخلصات نبات الكركم باستعمال طريقة Folin-Ciocalteau (4)، وحضر تركيزان 2.5 و5% غرام/ مليلتر لكل مستخلص من المستخلصات نبات الكركم الثلاثة (المستخلص المائي بدرجة حرارة 90م، بالأمواج فوق الصوتية، المستخلص الكحولي) كل على انفراد، واختبرت فعالية مستخلصات درنات نبات الكركم بتركيزي 2.5 و5% كل على انفراد مع العزلات الفطرية الاختبارية التي تم الحصول عليها من مركز بحوث تلوث الغذاء/ وزارة العلوم والتكنولوجيا، تضمنت ثلاث عزلات شملت كل من *Aspergillus niger* و *Asp. flavus* و*Fusarium* spp. وبطريقة الانتشار بالاكار، واختبرت الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لدرنات نبات الكركم وبتراكيز0.25، 0.5 و1% كل على انفراد لتحديد التركيز الأمثل للفعالية، واختبرت فعالية التركيز الأمثل للفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي (1%) داخل الجسم الحي (*in vivo*) عند معاملة عفن *Asp. flavus* لنماذج حبوب الرز، فول سوداني، ذرة صفراء بأعداد 1_x10^6خلية/ملم^2 لمدتي حضن 28 و 36 يوما كل على انفراد بنسبة رطوبة مقدارها 30% بدرجة حرارة 28±2 مْ، واستعمل برنامج SPSS في إجراء التحليل الإحصائي للحصول على اختبار T-test وبمستوى معنوي ($p\leq0.05$) (15).

النتائج والمناقشة

يبين جدول (1) نتائج الكشف النوعي عن المجاميع الفعالة في المستخلصات (المائية الساخنة، بالأمواج فوق الصوتية، الكحولية) لدرنات نبات الكركم وجود اختلافات وتباين في احتوائها على المجاميع الفعالة التي يمكن ان يعود الى التباين في نوع المذيب المستخدم فضلاً عن الطريقة المستخدمة في عميلة الاستخلاص.

يلاحظ من جدول (2) اختلاف المحتوى الفينولي الكلي في مستخلصات لنبات الكركم ،إذ اظهر المستخلص الكحولي اعلى نسبة عن بقية المستخلصات وبلغت 59.3% بينما اظهر المستخلص المائي الساخن اقل نسبة وبلغت 26.33%.

جدول 1: الكشف الكيميائي النوعي عن بعض المجاميع الفعالة لمستخلصات درنات نبات الكركم

المجاميع الفعالة	المائي الساخن	الامواج فوق الصوتية	الكحولي
الكلايكوسيدات	+	+	+
القلويدات	-	-	+
التانينات	++	++	+++
الراتنجات	+	+	++
الصابونيات	+++	+++	++
الكومارينات	-	+	+
الفلافونات	-	+	++
الفينولات	++	++	++
التربينات	-	+	+++

(+) النتيجة موجبة. (++)شدة ناتج التفاعل. (-) النتيجة سالبة. تمثل النتائج لثلاث مكررات

جدول 2: معدلات المحتوى الفينولي الكلي لمستخلصات نبات الكركم المختلفة

نوع المعاملة	المحتوى الفينولي الكلي%
المستخلص المائي الساخن	1.2 ± 26.33b
المستخلص بالأمواج فوق الصوتية	1.9 ± 46.70ab
المستخلص الكحولي	3.3 ± 59.30a

تمثل الأحرف المختلفة في الصف الواحد وتشير الى وجود فروق معنوية. الاحتمالية ($P \leq 0.05$). النتائج معدل لثلاثة مكررات.

يبين جدول (3) أظهر المستخلص الكحولي لنبات الكركم بتركيز5% تفوقاً معنوياً على المستخلصين الآخرين في تثبيط العزلات الفطرية الاختبارية ،إذ لم يظهر نمو للفطريات عند استخدام المستخلص الكحولي الاثيلي بتركيز 5% بينما اظهر العفن *Asp. flavus* مقاومة اعلى لفعالية المستخلصات قيد البحث مقارنة ببقية العزلات الاختبارية، وقد يعود السبب الى مدى فاعلية الجدار الخلوي لهذا الفطر (10، 11)، كما أظهرت مستخلصات النبات بتركيز2.5% فعالية تثبيطية اتجاه العزلات الفطرية الاختبارية كما موضح في جدول (4)، شكل (1).

جدول 3: الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات الكركم بتركيز 5% في العزلات الفطرية الاختبارية

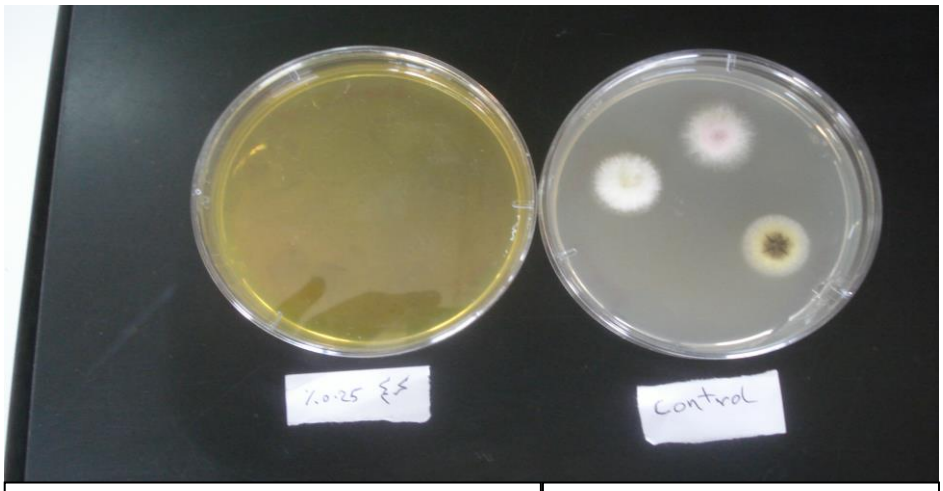
المعاملة / العزلة	السيطرة	المستخلص المائي الساخن بتركيز 5%	مستخلص بالأمواج فوق الصوتية بتركيز 5%	المستخلص الكحولي الاثيلي بتركيز 5%
Asp. niger	0.38 ± 28.17^{d}	0.38 ± 8.84^{c}	0.5 ± 5.0^{b}	0^{A}
Asp. flavus	0.5 ± 25.0^{d}	$0.63 \pm 12.1.7^{c}$	0.63 ± 6.17^{b}	0.66^{A}
Fussarium spp.	0.5 ± 28.5^{d}	1.04 ± 7.33^{c}	0.29 ± 3.67^{b}	0^{A}

تمثل الأحرف المختلفة في الصف الواحد وتشير الى وجود فروق معنوية. الاحتمالية ($P \leq 0.05$). النتائج معدل لثلاثة مكررات.

جدول 4: يوضح الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات الكركم بتركيز 2.5% في العزلات الفطرية الاختبارية.

المعاملة / العزلة	السيطرة	المستخلص المائي الساخن بتركيز 2.5%	مستخلص بالأمواج فوق الصوتية بتركيز 2.5%	المستخلص الكحولي بتركيز 2.5%
Asp. Niger	0.76±29.67^{d}	0.58±10.67^{c}	0.5±6.17^{b}	0.5±1.6^{A}
Asp. Flavus	0.58 ± 25.45^{d}	0. 38±15.17^{c}	0.63±7.17^{b}	0.29±2.83^{A}
Fusarium spp.	0.48±28.25^{d}	0.58±10.33^{c}	0.52±4.17^{b}	0.29±1.86^{A}

تمثل الأحرف المختلفة في الصف الواحد وتشير الى وجود فروق معنوية. الاحتمالية ($P \leq 0.05$). النتائج معدل لثلاثة مكررات.



نمو العزلات الفطرية على وسط غير معامل بالمستخلص الكحولي	عدم نمو العزلات الفطرية على وسط معامل بالمستخلص الكحولي لنبات الكركم

شكل 1: يوضح الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي بتركيز 5% لنبات الكركم في العزلات الفطرية الاختبارية

يلاحظ مما سبق إن الفعالية التثبيطية لمستخلصات النبات قد تنوعت وذلك يمكن أن يعزى الى الاختلاف بطريقة الاستخلاص ونوع المذيب المستخدم بالاستخلاص فضلاً عن الكائن الدقيق الاختباري ومنها الفطريات، وهذا ما يتفق مع العديد من الدراسات السابقة (2,1).

أظهرت نتائج جدول(5) أن المستخلص الكحولي لدرنات نبات الكركم بتركيز 1% أعطى تأثيراً معنوياً ($P \leq 0.05$) مقارنة بأنموذج السيطرة والمستخلص الكحولي بتركيز 0.25% بينما لم تكتسب المعنوية وخاصة عند معاملتها مع فطر *Asp. niger* و *Asp. flavus* مقارنة بالمستخلص الكحولي بتركيز 0.5% .وبذلك يعد تركيز 1% للمستخلص الكحولي لنبات الكركم هو التركيز الأمثل للفعالية التثبيطية، ويمكن أن يعزى السبب الى الاختلاف بتراكيز المجاميع والمركبات الفعالة في المستخلصات ونوع الفطر المستخدم.

جدول(5): يوضح الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الكركم بتراكيز مختلفة في العزلات الفطرية الاختبارية.

المعاملة / العزلة	السيطرة	المستخلص الكحولي بتركيز 1%	المستخلص الكحولي بتركيز 0.5%	المستخلص الكحولي بتركيز 0.25%
Asp. Niger	0.76 ± 21.33^{c}	0.5 ±1^{A}	0.29 ±1.3^{ab}	0.14 ±1.83^{b}
Asp. Flavus	0.86 ±22^{c}	0.67 ±2.33^{A}	0.28 ±2.43^{A}	0.43 ±2.7^{b}
Fusarium spp.	0.58 ±23.33^{d}	*Nill*	0.29 ±0.33^{b}	0.14 ±0.76^{c}

تمثل الأحرف المختلفة في العمود الواحد وتشير الى وجود فروق معنوية. الاحتمالية ($P \leq 0.05$). النتائج معدل لثلاثة مكررات.

أظهرت النتائج للفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لنبات الكركم بتركيز 1% في نماذج الحبوب الرز، الفول السوداني، الذرة الصفراء الملوثة بعفن *Asp. flavus* بعدم ظهور أي نمو فطري أو حدوث تغيير في الشكل وقوام نماذج الحبوب، بينما ظهر نمو فطري وتغيير في قوام نماذج الحبوب غير المعاملة بالمستخلص (السيطرة) وقبل مدة حضن عشرة ايام.

بناء على ذلك نوصي باستخدام درنات نبات الكركم في حفظ الأغذية ومنها الحبوب بديلا عن المواد الحافظة الكيميائية التي يمكن أن تسبب للإنسان أمراضاً بالإضافة الى إجراء دراسات كيميائية لفصل وتنقية المركبات الفعالة في نبات الكركم واستعمالها لأغراض غذائية وعلاجية مختلفة.

المصادر

1 – محمد، صبرية عبد علي (2012) الفعالية التثبيطية لمستخلصات الزنجبيل *Zingiber officinale Rosc.*) Ginger) تجاه بعض الفطريات. مجلة أبحاث البصرة. 38(2): 97–108.

2- Al-Meani, S.A.; Z.M. Yassin, and H.H. Khalid (2008). Study of inhibitory activity of volatile oil and flower milled for chamomile in some pathogenic bacteria. J. of Iraqi Biotech, 7 (1): 74 -85.

3- Alonso, J. (2004). Tratado de Fitofármacosy Nutracéuticos. Barcelona: Corpus, 8: 395-403.

4- Amin, I.; Y. Norazaidah and K.I. Emmy Hainida (2006). Antioxidant activity of extracts from the fruiting bodies of *aegeria var. alba*. Food Chemistry, 89: 533-539.

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

6- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev., 12 (4): 564-582.

7- Desmukh, S.D. and M. N. Borle (1975). Studies on the insecticidal properties of indigenous plant products. Indian. J. Enth. Pharm., 37(1): 11-18.

8- Feng-Qin, L.; L. Yu-Wei; W. Ye-Ru and L. Xue-Yun (2009). Natural occurrence of aflatoxins in chines peanut butter and sesame paste. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 57 (9):3519- 3524.

9- Food and Agriculture Organization (FAO). (1988). FAO production Yearbook, Vol. 52, Rome. Italy.

10- Grzanna, R., L. Lindmark and C.G. Frondoza (2005). Ginger-an herbal medicinal product with broad anti- inflammatory actions. J. Med. Food., 8: 125- 132.

11- Mc-daniel, A. (2011) Effect of matrix clean-up for aflatoxins analysis in corn and dried distiller grains. Natural Resources, 2 (4): 250- 257.

12- Shihata, I. M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M.Sc. Thesis, Faculty of Vet. Med., Cairo Univ., Egypt.

13- Shtayeh, M. S. A. and S. I. Abu- Ghdeib (1999). Antifungal activity of plant extract against dermatophytes. J. Mycoses., 42: 665-672.

14- Stahl, R. (1969). Thin Layer Chromatography, A Laboratory Handbook, 2nd ed., Translated by Ashworth M.R., Springer, verlag, Berlin.

15- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1980). Principle and Procedure of Statistics. 2nd Ed. McGraw Hill: New York.

16 Suwitchayanon, P. and K. Kunasakdakul (2009). *In Vitro* effects of clove and turmeric extracts controlling crucifer pathogens. Journal Agricultural Technology, 1: 193-199.

17- Williams, H.; T. D. Phillips; P. E. Jolly; J. K. Stiles; C.M. Jolly and D. Aggarwal (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: areview of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Am. J. Clin. Nutr., 80 (5): 1106- 1122.

DETERMINATION OF INHIBITION ACTIVITY TO *CURCUMA LONGA* L. RHIZOME EXTRACTS AND USES IT TO PRESERVATION OF SOME GRAINS

L. A. Alzubaidi **E. A. Khalaf**
M. A. Abdulrazaq **A. S. Selman**

ABSTRACT

The qualitative chemical test of the active groups in the in the curcumin rhizomes (*Curcuma longa* L.) that extracted by Hot watery, ultrasonic and ethanolic alcohol. The results showed that the curcumin extracts contain the major active groups, while the extracts were varied with quantitatively and qualitatively in their active groups, and Tannic acid was further analyzed to determine their total phenolic content by using the Folin- Ciocalteau method, the ethanolic extract was exerted highest percent of total phenolic content, and the inhibitor activity of the curcumin plant extracts in some fungi tested strains, which includes *Aspergillus niger, Aspergillus Flavus* and *Fussarium* spp. using the agar diffusion method. It was noticed that the inhibitory activity was varied according to the extraction method and solvent employed methods and and the microorganism. The ethanolic extract of curcumin plant at 2.5% and 5% showed significant effect ($P \leq 0.05$) in accordance to the two other extracts in the inhibition of the fungi tested isolates as the diameter of the growth areas of tested fungi isolates was 0, 0.66 and 0 mm, and 1.6, 2.83, 1.86 mm respectively and the *Asp. flavus* showed higher resistance in comparison to the other tested strains, and the ethanolic extract activity in concentration 1, 0.5 and 0.25% at alone in fungi tested isolates to select the optimums concentration to the activity and appeared with 1% concentration, and when treated with the grains samples that includes yellow maize, rice and pun nut that's treatment with fungi cells in number $1x10^6$cell/ mm^2 for incubation 28 and 36 days at alone at 28 ±1 C° comparison with positive control samples, and Appeared don't showed fungal growth that or differences in grain samples texture before incubation period for 28 days.

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