تأثير الزيوت العطرية المستخلصة من بعض النباتات في تثبيط أنواع من البكتريا المرضية والمسببة لتلف الغذاء

صبا جعفر عجينة* مازن جميل هندي** عبد الغني إبراهيم يحيى **

الملخص

أجريت هذه الدراسة على أربعة نباتات ضمت بعض البهارات, هي ثمار الكمون (***Cuminum cyminum***) بذور الفلفل الأسود (***Piper nigrum***)، أوراق المريمية (***Salvia officinalis***) وأوراق الصنوبر الأبرية (***Pinus halipensis***) والتي تعود للعوائل التالية: الخيمية **Umbellifrae**، الفلفلية **Piperaceae**، الشفوية **Labiatae** والصنوبرية **Pinaceae** على التوالي. وتم الحصول على مستخلص الزيت العطري لكل نبات، وأخضع المستخلص إلى عدد من الاختبارات للكشف عن الفعالية المضادة للأحياء المجهرية (**Antimicrobial activity**) من بكتريا والتي ضمت:

Bacillus subtilis Bacillus stearothermophilus, Bacillus cereus
Proteus (mirabilus, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli
Salmonella typhimurium. استخدمت طريقة الانتشار بالقرص **Disk diffusion method** لاختبار فعالية المستخلصات ضد البكتريا. ولقد تنوعت نتائج دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات باختلاف نوع المستخلص النباتي نفسه واختلاف الكائن المجهري المختبر. حيث اظهرت مستخلصات الزيوت العطرية فعالية تثبيطية ضد بعض البكتريا الاختبارية، حيث تراوحت معدلات أقطار هالات التثبيط تجاه البكتريا بين **1.2– 3.2**سم للكمون و**0-1.4** سم للفلفل الأسود و**0-1.5** سم للمريمية و**0-1.2** سم لأوراق الصنوبر. وعليه كان مستخلص الزيت العطري لثمار الكمون هو الأكفأ في تثبيط جميع أنواع البكتريا الاختبارية كما سجل أعلى معدلات هالات تثبيط ضد البكتريا مقارنة مع بقية مستخلصات الزيوت العطرية. في حين لم يكن هناك تأثير تثبيطي لمستخلص الزيت العطري لاوراق الصنوبر تجاه بكتريا ***B.subtilis*** و ***P. mirabilus*** و ***K. pneumoniae***، ولم يكن لمستخلص أوراق المريمية العطري اي تأثير تثبيطي تجاه ***B. stearothermophilus*** ولم يكن لمستخلص بذور الفلفل الأسود اي تأثير تجاه بكتريا ***B.cereus*** و***Pse. aeruginosa***.

المقدمة

شكلت المستخلصات النباتية وبضمنها الزيوت العطرية، أساساً للعديد من التطبيقات الغذائية سواء للغذاء الطازج أوالمصنع باعتبارها مواداً تمتلك فعالية مضادة للأحياء المجهرية فهي تستخدم في حفظ الأغذية وتدخل في تركيب المستحضرات الصيدلانية وبديل للأدوية وعلاجات طبيعية (**18**). واشار **Pattanaik** وجماعته (**23**) أن الزيوت العطرية تمتلك مركبات ذات فعالية مبيدة للحشرات (**Insecticide**) ومضادة للفطريات (**Antifungel**) ومضادة للبكتريا (**antibacterial**)، وهذا مهم في حفظ الاغذية والسيطرة على الامراض ذات الاصل الميكروبي التي تصيب الانسان والنبات. بين **Ejechi** وجماعته (**12**) أن استعمال الزيت العطري لثمار الفلفل (**Pepperfruit**) ***Dennetia tripetala*** **G. Barker; anonaceae** في حفظ لحم البقر (**Beef meat**) (الطازج، المسلوق والمشوي) أدى إلى حدوث انخفاض معنوي في نمو بكتريا ***Staph. aureus***، ***Salmonella*** **sp.**، ***Clostridium*** **sp.**، ***Proteus*** **sp.**، ***E. coli***، ***Enterococcus faecalis***، ***Serratia*** **sp.** خلال **7** ايام خزن في حرارة

جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الأول

* كلية الطب البيطري – جامعة بغداد،بغداد،العراق.
** كلية الزراعة– جامعة بغداد– بغداد، العراق.

الغرفة 25ْ م، بينما لم يظهر نمو لمستعمراتها حتى بعد سبعة أيام خزن في حرارة الغرفة 25ْ م والتي أظهرت حساسيتها العالية لهذا الزيت العطري.

ووجد إن استعمال الكمون بتركيز 0.5% كان مناسباً في تثبيط تكوين السموم الفطرية (**Aflatoxines**) في نقيع الرز تثبيطاً كاملاً (**19**). كما استعمل الكمون في مجال حفظ الأغذية، فقد عرف مثبطاً لبعض الفطريات المفسدة للأغذية، وان له القدرة في السيطرة على الامراض الناجمة عن الاعفان (**24**). كما ان اضافة الفلفل الاسود (**Black pepper**) لاوساط الاغذية المخمرة يؤدي الى تقليل انتاج بكتريا ***Enterococcus faecium*** المنتجة للمركب **Enterocin** في الاغذية المخمرة وخاصة عند وجود كلوريد الهيدروجين (**4**). كما ان اضافته الى الصوصج المخمر يؤدي الى التقليل من معدلات نمو بكتريا **Lactobacillus** بشكل عام (**30**). وتشير بعض الدراسات الى وجود فعالية مثبطة للمكروبات تعزى للمستخلصات النباتية العائدة لنبات المريمية ***Salvia officinali*** (**20**). وان الزيت العطري لنباتات العائلة الصنوبرية (**Pinaceae**) يمتلك فعالية مضادة للبكتريا **(18)**. وان للزيت العطري لاوراق الصنوبر الابرية نوع ***Pinus ponderosa*** تاثيراً مثبطاً كاملاً لنمو الاعفان ***Fuserum solani*** و ***Fuserum poae*** بتركيز 2 و5 % على التوالي (5). وأوضح **Jobling** (**15**) ان المستخلصات النباتية عموما تعد اكثر تقبلاً واقل خطورة من المركبات الصناعية، فقد أظهرت تجاربه ان الزيوت العطرية المستخلصة من نباتات السدر (**Cedar**) واليوكالبتوس (**Eucalyptus**) والزعتر (**Thyme**) والبابونج (**Camomile**) تمتلك فعالية مضادة للاحياء المجهرية المرضية والمفسدة للغذاء مثل ***B. cereus***، ***Clostridium botulinum*** و***Listeria monocytongenes***. هذا وبعد تزايد القلق من سلامة استعمال المضافات الغذائية الكيميائية (**Chemical food dditives**)، ازداد الاهتمام بالتوجه نحو حفظ الأغذية بطرائق تضمن بقاءها بشكل طبيعي ومحافظ على خواصها الطبيعية لأطول وقت ممكن (**22**). أظهرت البحوث شكوكا حول المواد الكيميائية ذات الفعل المضاد للميكروبات مثل **Nitrites** و **Benzoic acid** التي قد تشكل خطراً كامناً بسبب امتلاكها للسمية (**Toxicity**)، وأدت هذه المشاكل إلى التوجه نحو إنتاج مضادات ميكروبية طبيعية وإضافتها بشكل مباشر للأغذية **(21، 22)**.

إن توفر البهارات والأعشاب ورخص ثمنها حتى في البلدان التي لا تنمو فيها، وكونها واحدة من المجموعات النباتية التي مازالت البحوث بصددها قليلة وبالأخص فيما له صلة بفعاليتها المضادة للمكروبات عند تطبيقها في الأغذية (**22**)، كان سبباً للتوجه الى الدراسة الحالية للكشف عن الفعالية المضادة للمكروبات لبعض البهارات والنباتات المتوفرة وهي الفلفل الأسود (***Piper nigrum***) والكمون (***Cumin cyminum***) والمريمية **Sage** (***Salvia officinalis***) والصنوبر(***Pinus halipenses***).

تهدف الدراسة هذه الحصول على مستخلص نباتي زيتي عطري من مصادر نباتية متوفرة ورخيصة (اقتصادية) والكشف عن المركبات والمجموعات الكيميائية الفعالة ذات الأثر المثبط لنمو بعض أنواع البكتريا الاختبارية.

المواد وطرائق البحث

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 شمسيا في الظل حتى الجفاف الكامل لمدة استغرقت أكثر من ثلاثة أيام، أما بالنسبة للبهارات فتم اختيار ثلاثة أنواع منها وهي ثمار الكمون وبذورالفلفل الأسود واوراق 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 في مختبرات الدراسات العليا في كلية الزراعة – جامعة بغداد.

استخلاص الزيوت العطرية من المصادر النباتية

استخدم جهاز كلا فنجر (**Clavenger**) المخصص لاستخلاص الزيوت العطرية من الأجزاء النباتية وباستعمال طريقة التقطير المائي **(Hydro distillation)** والموصوفة من قبل أحسان (**1**). واستمرت عملية التقطير لمدة **4** ساعات وعندها تم الحصول على اكبر كمية ممكنة من الزيت العطري في أنبوبة الجمع المدرجة. واختصرت تسمية مستخلصات الزيوت العطرية للكمون **CO**، للفلفل الأسود **BO**، للمريمية **SO** ولأوراق الصنوبر **PO**.

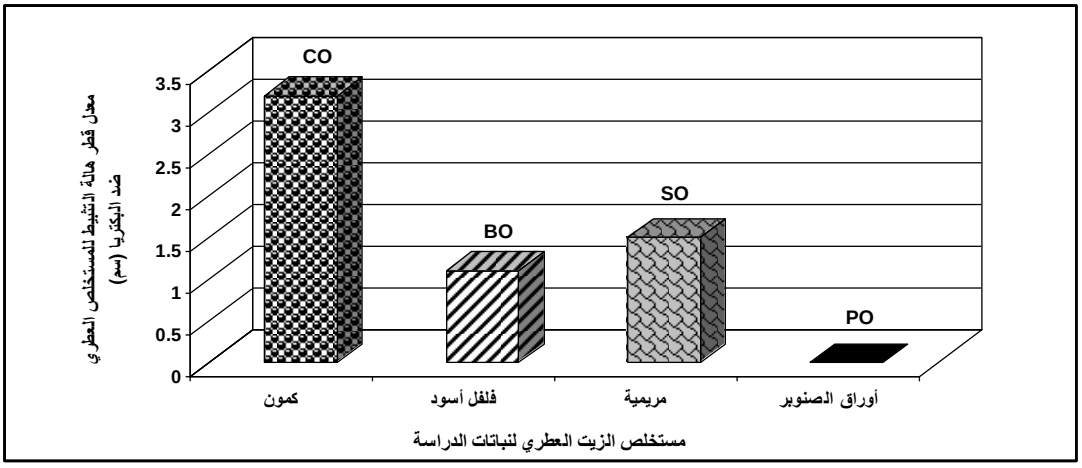
دراسة تأثير مستخلصات الزيوت العطرية النباتية على البكتريا الاختبارية

استخدمت طريقة الانتشار بالأقراص (**Filter paper discs diffusion**) كما وردت في الجنابي (**2**) حيث تم تلقيح سطح وسط المغذي الاكار الصلب (**Nutrient Agar**) بمستعمرات البكتريا الاختبارية (التي تم الحصول عليها من مختبرات الدراسات العليا في كلية الزراعة– جامعة بغداد، وكلية العلوم– الجامعة المستنصرية). اخذ **0.1** مل من العالق البكتيري لكل نوع من أنواع البكتريا كل على انفراد ونشر بناشر زجاجي معقم. بعدها تم وضع الأقراص المعقمة ذات قطر**6** ملم في كل طبق من **4-6** أقراص معقمة في أماكن محددة تم تعليمها على الطبق من الخارج وقد حمل كل قرص بمقدار **5** مايكروليتر من المستخلص النباتي باستخدام ماصة دقيقة خاصة (**Micropipette**).

النتائج والمناقشة

تأثير مستخلصات الزيوت العطرية النباتية في تثبيط بكتريا الاختبار

أظهرت الأشكال (**1–8**) نتائج قياس قابلية الزيوت النباتية العطرية في تثبيط نمو البكتريا الأختبارية. إذ لوحظ تباين في فعالية الزيوت العطرية تجاه انواع البكتريا، فقد اظهر مستخلص الزيت العطري للكمون **(CO)** تأثيراً مثبطا لنمو جميع أنواع البكتريا الأختبارية في حين إن مستخلص بذور الفلفل الأسود **(BO)** لم يبدي تأثيرا مثبطا ضد بكتريا ***B. cerreus*** او ***Pse. aerugerosa*** ولم يكن للزيت العطري الخام للمريمية **(SO)** تأثير مثبط ضد البكتريا ***B. sterothemophilis***. أما الزيت العطري لأوراق الصنوبر (**PO**) الابرية فلم تظهر هالة تثبيط ضد بكتريا ***B. subtitlis***, ***P. mirabilus*** و ***K. pneumoniae*** وكان ترتيب كفاءة الزيوت العطرية التثبيطية تجاه البكتريا الاختبارية بشكل أولي هو :**PO < BO < SO < CO**.

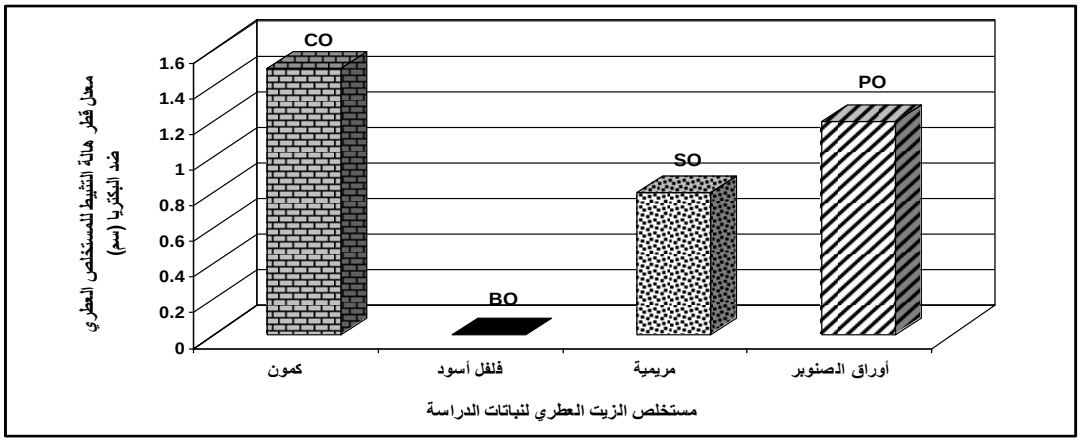


شكل **1**: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة على نمو بكتريا ***B. subtilis***.

اوضح الشكل (**1**) تأثير الزيت العطري لنباتات الدراسة في بكتريا ***B. subtitlis*** التي كانت حساسة جدا للزيت العطري للكمون **CO** واقل حساسية تجاه **PO** إذ لم تظهر أي هالة تثبيطية. وكان تسلسل كفاءة بقية الزيوت

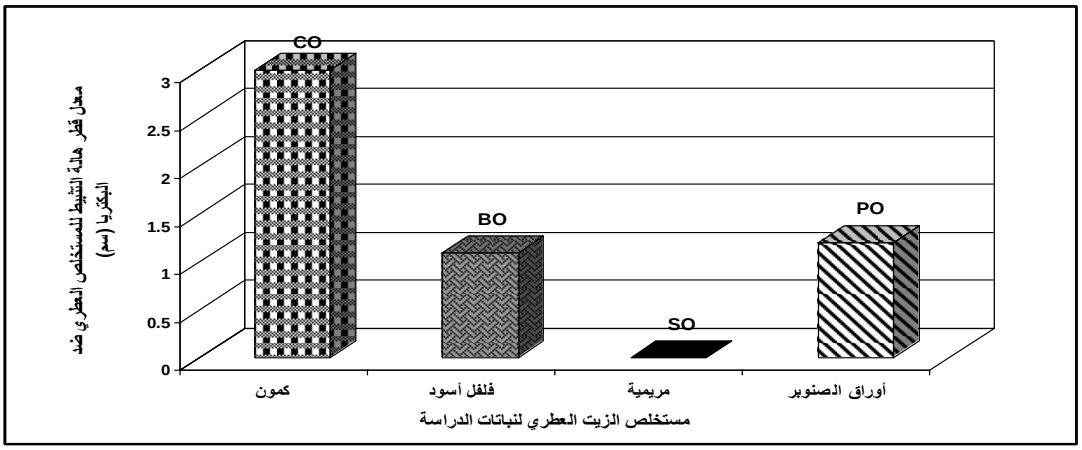
العطرية على أساس حساسيتها تجاهها CO> SO> BO > PO حيث بلغ معدل أقطار هالة التثبيط لكل زيت عطري ضدها 3.2 ,1.5 ,1.1 ,0 سم على التوالي.

أما بالنسبة لبكتريا *B. cereus* فقد اظهر الشكل (2) ان لزيت الكمون العطري CO كفاءة تثبيطية أعلى بالمقارنة مع بقية المستخلصات يليه الزيت العطري PO ثم SO، في حين لم يظهر زيت BO العطري أي فعالية ضدها وعليه فان ترتيب تسلسل حساسية البكتريا للمستخلصات كان: CO > PO > SO > BO.



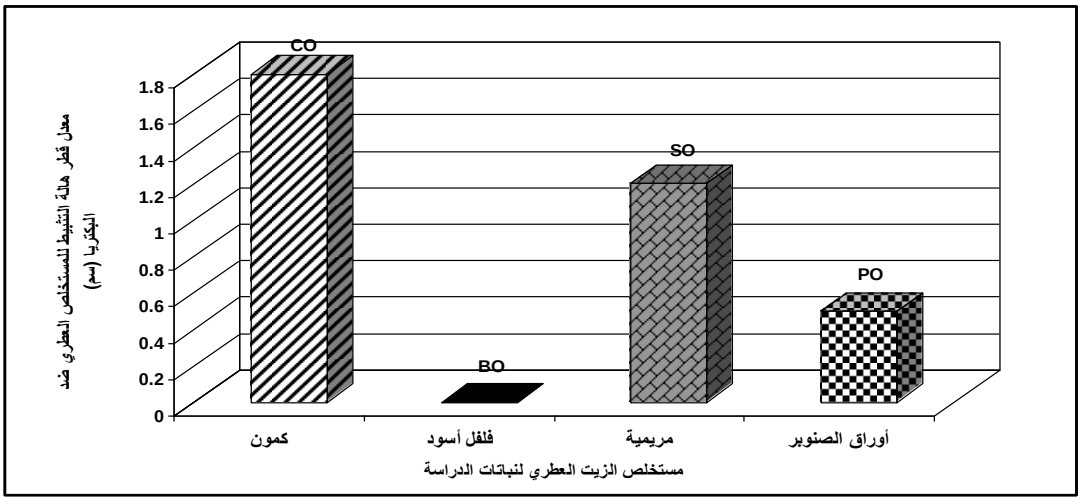
شكل 2: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة في نمو بكتريا *B. cereus*.

وكان الكمون العطري CO الأكثر فعالية ضد البكتريا *B. stearothermophilus* (شكل 3) يليه PO ثم BO في حين لم يكن لزيت SO العطري أي تأثير ضدها، وكانت قيم معدل أقطار هالات التثبيط للمستخلصات أعلاه ضد هذه البكتريا هي: 3، 1.2، 1.1 و0 سم على التوالي وعليه يكون تسلسل كفاءة المستخلصات في تثبيط بكتريا *B. sterothermophilis* هو: SO<BO<PO<CO.



شكل 3: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة في نمو بكتريا *B. stearothermophilus*

أما مستخلص CO فقد اظهر فعالية مثبطة لنمو *P. aeruginosa* (شكل 4) وكان الأكفأ بين الزيوت العطرية لنباتات الدراسة يليه مستخلص SO، أما مستخلص BO فلم يكن له أي تأثير تثبيطي ضد البكتريا ذاتها لذا فان سلسلة الكفاءة التثبيطية لمستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة ضد هذه البكتريا كانت BO < PO < SO < CO، اذ بلغ معدل أقطار هاله التثبيط لكل زيت عطري ضد هذه البكتريا 1.8، 1.2، 0.5 و0 سم على التوالي. في حين أشارت دراسة Hili وجماعته (14) أن مستخلص الزيت العطري لنبات المريمية (Sage) لم يظهر تأثيرا تثبيطيا ضد هذه البكتريا عندما قدرت بطريقة الانتشار بالقطرة (Drop-diffusion-method).

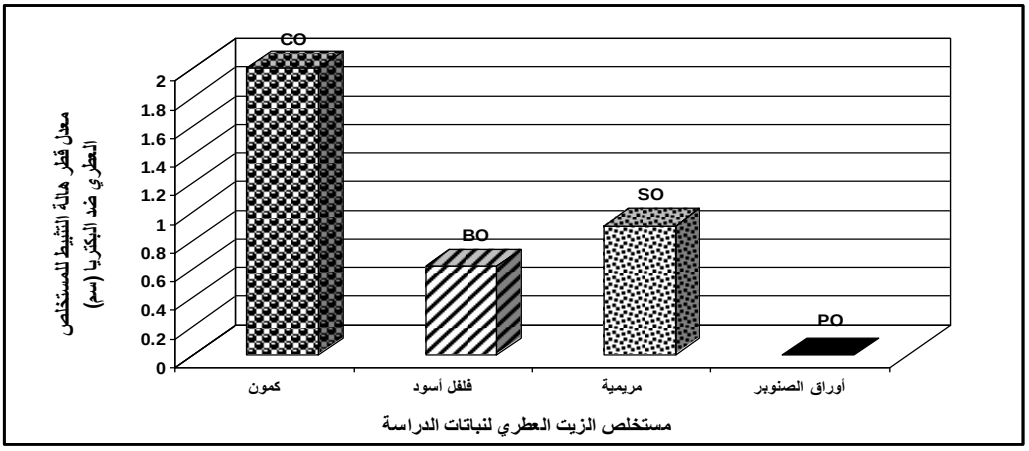


شكل 4: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة في نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*.

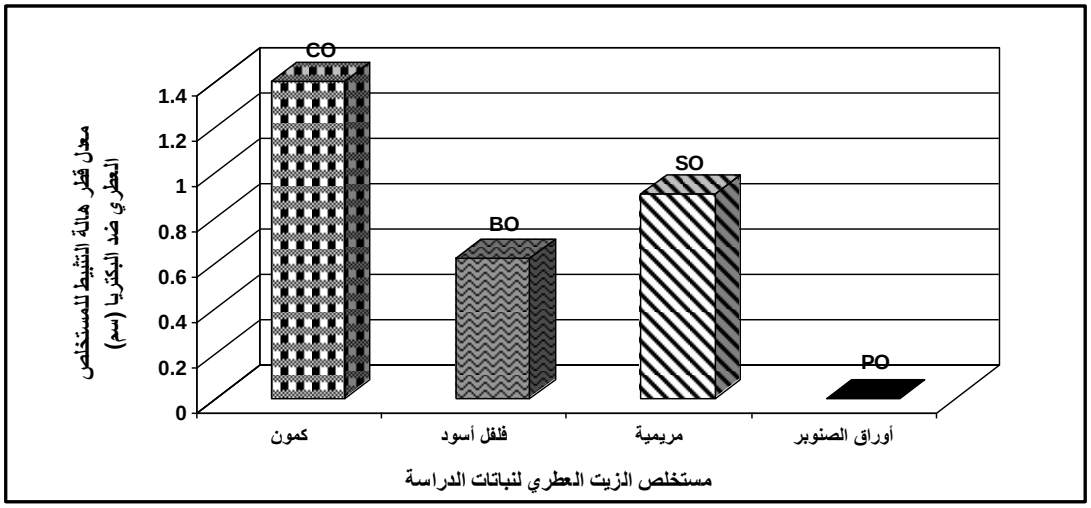
بين الشكل (5) أن بكتريا ***P. mirabilus*** كانت مقاومة جدا لمستخلص **PO** وحساسة لمستخلص **CO** واقل حساسية تجاه مستخلص المريمية **SO** وبدرجة اقل تجاه مستخلص **BO**. وعليه كانت كفاءة مستخلصات الزيوت العطرية في فعاليتها ضد البكتريا كما يلي **PO < BO < SO < CO**، اذن كان لمستخلص **SO** تأثير مثبط ضد بكتريا ***P. mirabilus***، واتفقت هذه النتائج مع دراسة سابقة (**13**) التي بينت إن الزيت التجاري (**Commercial oil**) للمريمية أعطى هالة تثبيط ضد هذه البكتريا معدل قطرها **1.2** سم وهذا يؤكد حساسية ***P. mirabilus*** لزيت المريمية العطري لان الزيت التجاري لايخلو من كميات كبيرة من الزيت العطري للنبات عينه.

ان مستخلص الزيت العطري للكمون **CO** امتلك اعلى فعالية تثبيطية ضد بكتريا ***K. pneumoniae*** مقارنة ببقية المستخلصات العطرية لنباتات الدراسة كما هو مبين في الشكل (**6**) إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط تجاهها بحدود **1.4**سم، في حين كان لمستخلص **BO** ومستخلص **SO** بمقدار **0.6 ,0.9** سم على التوالي، وكانت النتائج المستحصلة متفقة مع ماحصل عليه **Tepe** وجماعته (**27**) حيث كان معدل قطر هالة التثبيط للمستخلص الزيت العطري للمريمية **0.9** سم ضد بكتريا ***K. pneumoniae*** بطريقة الانتشار بالقرص.

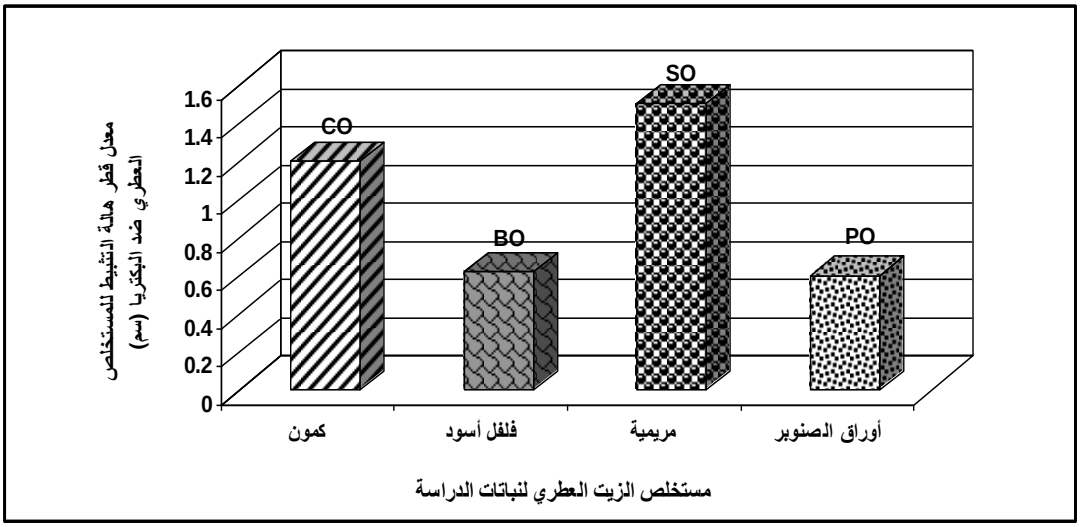
أما بكتريا ***E. coli*** فقد كانت متاثرة بزيت الفلفل الأسود العطري **(BO)** والوراق الصنوبر الابرية **(PO)** منه مستخلص **CO** و**SO**. حيث كان معدل قطر هالة التثبيط للبكتريا (**0.62**، **0.60**، **1.2** و**1.5**) سم على التوالي كما هو مبين في شكل (**7**) وتسلسل كفاءة تثبيط المستخلصات كان: **PO < BO < CO < SO**.



شكل 5: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة في نمو بكتريا *Proteus mirabilus*.

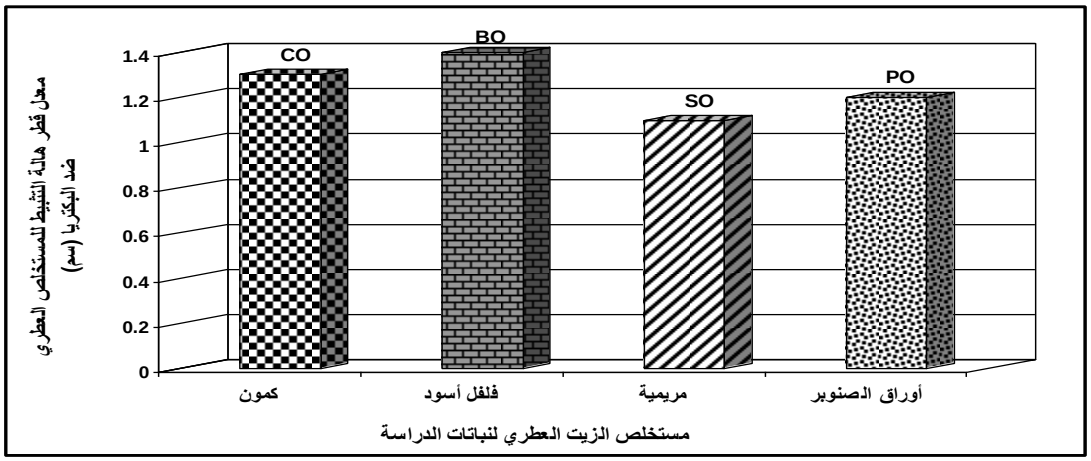


شكل 6: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة في نمو بكتريا *Klebsiella pneumoniae*.



ش

شكل 7: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة في نمو بكتريا *E. coli*.



شكل 8: تأثير مستخلص الزيت العطري لنباتات الدراسة في نمو بكتريا *Salmonella typhimurium*.

وتتفق النتائج الحالية مع ما وجده Hili وجماعته (14) في ان معدل قطر هالة التثبيط لمستخلص الزيت العطري للمريمية ضد بكتريا *E. coli* بلغ 1.5 سم باستخدام طريقة الانتشار بالقطرة (Drop diffusion

method). وقد أعزى **Draughon (11)** أن الفعالية المضادة لمستخلص الزيت العطري للمريمية ضد البكتريا تعود الى مركب **Linalool** و**Cineole** مركب **1.8–** الداخلة في تركيبه.

اظهر مستخلص **BO** (شكل **8**) فعالية ضد بكتريا ***Salmonella typhimurium*** إذ كان معدل قطرهالة التثبيط له **1.4**سم في حين بلغ لمستخلصي (**CO** و**PO**) **1.3** و**1.1**سم على التوالي، وابدى **SO** تأثيراً اقل ضد هذه البكتريا المرضية مقارنة مع بقية المستخلصات، لذا يكون تسلسل كفاءة المستخلص هو**BO** > **CO** > **PO** > **SO** .

اظهر مستخلص الزيت العطري للكمون فعالية عالية في تثبيط البكتريا وكانت بكتريا ***B. subtilis*** (شكل **1**) الأكثر حساسة مقارنة مع بقية البكتريا الاختبارية اذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط تجاهها **3.2** سم في حين كانت بكتريا ***Salmonella typhimurium*** (شكل **8**)، و***E .coli*** (شكل **7**) الأكثر مقاومة وبلغ قطر هالة التثبيط تجاهها (**1.3** و**1.2**) سم على التوالي وجاءت هذه النتائج متفقة مع دراسة سابقة (**9**)، إذ أشارت الى أن البكتريا المقاومة لمستخلصات الكمون هي ***Pse. aeruginosa*** وان بكتريا ***B. subtilis*** هي الأكثر حساسة لمستخلص الزيت العطري للكمون، كما كانت بكتريا ***B. subtilis*** هي الأكثر حساسة للمركب الفعال النقي (**Cuminaldehyde**) وتليها بكتريا ***B. cereus***، أما بكتريا ***Staph. aureus*** فكانت الأكثر مقاومة له (**8**).

أما بالنسبة لمستخلص الفلفل الأسود العطري **(BO)** فان البكتريا الأكثر مقاومة حسب معدل قطر هالة التثبيط كانت, ***P. mirabilus*** (شكل **5**) و ***K. pneumoniae*** (شكل **6**) و ***E .coli*** (شكل **7**) إذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط تجاه كل بكتريا منها على حدة **0.62** سم. أما البكتريا الأكثر حساسة فكانت ***Salmonella typhimurium*** (شكل **8**) وبلغ معدل قطر هالة التثبيط تجاهها **1.4** سم. واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة سابقة (**10**) ذكرت بان الزيت العطري للفلفل الاسود يمتلك فعالية مضادة للبكتريا خاصة منها المسببة لتلف وتلوث الغذاء بالاضافة الى البكتريا المسببة لأمراض النبات او الحيوان. أما بالنسبة لبكتريا ***B. subtilis*** فكان الأكثر حساسة لمستخلص (**SO**) وكانت الأقل حساسة، والأكثر مقاومة هي ***B. sterothermophilis***.

أما الزيت العطري لأوراق الصنوبر (**PO**) فكان أكثر فعالية من بقية الزيوت العطرية لنباتات الدراسة ضد بكتريا ***B. cereus*** (شكل **2**) و ***B. sterothermophilis*** (شكل **3**) و***Salmonella typhimurium*** (شكل **8**). حيث بلغ معدل قطر هالة التثبيط **1.2**سم تجاه كل بكتريا على حدة وهذه النتيجة قريبة من معدل قطر هالة التثبيط لزيت الزعتر العطري ضد بكتريا ***B. cereus*** (**11**).

بناء على النتائج المستحصلة واستناداً إلى ما ورد أعلاه تم اختيار المستخلص الأكفأ في تثبيط البكتريا على أساس تثبيطه كل البكتريا المختبرة في الدراسة وحيث انه سجل اكبر معدلات أقطار هالات تثبيط ضدها وهو الزيت العطري للكمون (**CO**) والذي تفوق على بقية المستخلصات النباتية. ويعزى الكفاءة العالية لمستخلص الزيت العطري للكمون الى محتواه العالي من مركب **Cuminaldehyde** الذي تبلغ نسبته حوالي **35-36 %** من الزيت العطري للكمون (**28**) محسوبة على أساس نسبة الألديهايدات (**25**).

إن مركب **Cuminaldehyde** هو المركب المسؤول عن الفعالية المضادة للمكروبات للزيت العطري للكمون كما أكد **DeM** وجماعته (**8**) عند استعمال هذا المركب كمادة قياسية في تثبيط البكتريا والتي أعطت هالة تثبيطية بقطر مقارب لأقطار تثبيط الزيت العطري للكمون والذي اثبت فعاليته ضد كل أنواع البكتريا الأختبارية وبين **Oiye** و **Muroki** (**22**) إن الكمون بالإضافة إلى كونه من البهارات التي تستخدم كمواد منكهة في الأغذية فانه من البهارات التي تمتلك خواصاً مضادة للمكروبات. أفاد **Sinki (26)** إن **Cuminaldehyd** من المركبات الفعالة في الكمون.

إن الفعالية التثبيطية لمستخلص الزيت العطري للمريمية (**SO**) تجاه البكتريا تعود إلى محتواه من التربينات **Terpene** و **Borneol** (**27**) بالإضافة إلى محتواه من المركبات الفعالة **Eucalyptol** و **Camphor** وهي مركبات كيميائية معروفة بامتلاكها فعالية مضادة للمكروبات (**29**). وان ميكانيكية التربينات غير مفهومة جيدا إلا انه يرجح حدوث تشابك بين المركبات الكارهة للماء المحبة للدهون (**Lipophilic**) في أغشية البكتريا والمركبات الموجودة في الزيت العطري مما يؤدي إلى تمزقها وبالتالي تمزق خلايا البكتريا وموتها (**7**). ذكر **Kataymamam** و**Nagai** (**16**) إن مركب **α- pinene** اظهر فعالية ضد بكتريا ***B. subtilis*** ،***E. coli*** ،***Staph. aureus*** ،***P. mirabilus*** و ***Pse. aeruginosa*** وانه يوجد في الزيت العطري للمريمية وأشجار الشاي والزيت العطري للكزبرة **Coriander** والزعتر **Thyme** .

أما بالنسبة للزيت العطري للفلفل الأسود فقد بين **Beuchart** (**6**) إن الفلفل الأسود يمتلك فعالية ليست بالقوية ضد بكتريا ***Vibrio parphaemolyticus*** وان مستخلص البهارات للفلفل الأسود (**Black pepper**) و الكمون (**Cumin**) والمريمية (**Sage**) تمتلك فعالية عالية ضد الأحياء المجهرية.

أما مستخلص الزيت العطري لأوراق الصنوبر (**PO**) فتعود فعاليته المضادة للمكروبات إلى محتواه من المركبات العطرية مثل **A-ocimene**، **B-myrcene** و**B-pinene** والتي تصل نسبتها إلى **29.3**، **9.6** و**4.3** % على التوالي في أوراق الصنوبر الابرية نوع ***P.deusi flora*** (**17**).

ن الفعالية الحافظة للزيت العطري لأوراق الصنوبر الأبرية نوع ***Pinus deusi flora*** يكمن تاثيرها على شكل الاغشية ضمن الخلوية (**Intracellular**) لخلايا البكتريا مما أدى إلى تثبيت محتوى**ATP** ضمن الخلايا أو داخل الخلايا في حين أزداد مستوى **ATP** خارج الخلايا الامر الذى أدى إلى تغير شكل الخلايا وتشويهها وبالتالي موت البكتريا المعرضة لهذه المركبات العطرية الفعالة ميكروبيا. وهذا ما أكده **Ahn** (**3**) في نمط قتل الخلايا البكتيرية لدى تعرضها للمركبات العطرية. كما اقترحت ميكانيكية الزيوت العطرية كمضادات مكروبية بان الزيوت العطرية او مكوناتها تذوب في الاغشية الدهنية للاحياء المجهرية مما يؤثر في الفعالية الايضية للخلايا وبالتالي تؤدي الى تثبيطها (**14**). خلصت الدراسة إلى كفاءة المستخلصات النباتية في تثبيط نمو البكتريا الاختبارية المفسدة لنوعية الغذاء والمسببة للأمراض.

المصادر

1- إحسان، سعد علي (**1999**). دراسة بعض العوامل المؤثرة في الصفات الكمية والنوعية للزيوت العطرية في النعناع و البطيخ. أطروحة دكتوراه - كلية الزراعة - جامعة بغداد، العراق.

2- الجنابي، نضال محمد صالح (**2004**). تأثير بعض المستخلصات النباتية كمضادات اكسدة ومكروبية في بعض الأنظمة الغذائية. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة – جامعة بغداد، العراق.

3- **Ahn, E. S.; Y. S. Kim and D. H. Shin (2001). Observation of bactericidal effect of allylisothio cyanate on Listeria mono cytogenes. Food Sci. Biotechnol., 10: 15-31.**

4- **Aymerch, T.; M. C. Artigas; M. Garriga and M. Monfort (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.**

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

6- Beuchart, L. R. (1976). Sensitivity of vibrio parahaemolyticus spices and organic acids. Food Res., 10:273.
7- Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents.Clincal Microbiology Reviews, 12(4):564-582
8- DeM; K. DeA; R. Mukhopadyay; A. B Banerjee and M. Miro (2003). Antimicrobial activity of *Ccuminum cyminum* L. Ars Fharmaceutica, 44(3):257- 269.
9- Dekker, M. (1995). Food Safety www.Amazon.com , Books Sense.com.
10- Dorman, H. J. D. and S. G. Deans (2000). Antimicrobial agents from plant: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88:308-316.
11- Draughon, F. A. (2004). Use of botanicals as biopresrvatives in foods. Food Technology.
12- Ejechi, B.O.; O. Nwafor and FJ. Okoko (1999) .Growth inhibition of tomato-rot fugi by phenolic acids and essential oil extracts of pepper fruit (Dennetia tripetala). Food Res. Intl., 32: 395-399.
13- EL-Astal, Z.Y.; A. Ashour and A.A. M. Kerrit. (2005). Antimicrobial activity of some medicainal plant extracts in palestine. Pak J. Med. Sci., 21 (2):187-193.
14- Hili, P.; Evans, C.S. and Veness, R.G. (1997). Antimicrobial action of essential oil: the effect of dimethyl sulphoxide on the activity of cinnamon oil.
15- Jobling, J. (2000). Essential Oils: A new idea for postharvest disease control .Good Fruit and Vegetable Magazine 11(3): 50, (Melbourne, Australia).
16- Kataymamam, T. and I. Nagai. (1960). Chemical significance of the volatile components of spices in the food preservative IV. Structure and antibacterial activity of terpenes. Bulletin Japanese Society of Science Fish-series, 26:29 -33.
17- Kim, Y.S. and D.H., Shin. (2005). Volatile components and antibacterial effects of pine needle (*Pinus densiflora* S. and Z.) extracts. Food Microbiology, 22: 37 - 45.
18- Lis-Balchin, M. and S.G. Dens. (1997). Bioactivity of selected plant essential oil against listeria monocytogenes. Journal of Applied Bacteriology, 82: 759–762.
19- Mabrouk, S.S. and EL-Shayeb, N.M. (1980). Inhibition of aflatoxin formation by some spices. Z. Lebensm. Unters. Forsch., 171 (5): 344.
20- Nadjalin, V.; Z. Djarmati and S. Filip. (1997). Arch. Pharm., (5): 676.
21- Naimiki, M. (1990). Antioxidants antiimutagens in food. Critical Review in Food Science and Nutrition. (29): 273 - 300.
22- Oiye, S.O. and N.M. Muroki (2002). Use of spices in food. The Journal of Food Technology in Africa, 7: 39-44.
23- Pattanaik, S.; V.R. Subramany; M. Brennan and C.R. Kole (1997). Antibacterial and antifungal activity of the aromatic constituents of essential oil Microbiois, 89: 39-46.
24- Saksena, N.K. and S. Saksena. (1948). Enhancement in the antifungal activity of some essential oils in combination against some dermatophytes. India Perfumer, 28: 42– 45.
25- Shetty, R. S.; R. R. KulKer (1994). Antimicrobial Proparties of cumin. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 10 (2):232-233.

26- Sinki, G.S. and F.W. Schlegel (1990). Flavouring Agents. In Branen, A.L., Davidson, P.M and Salminen, S. (Eds). Food Additives. Marcel Dekker Inc. New York, USA.

27- Tepe, B.; E. Donmez; M.Unlu; F.Candan; D. Daferera; G. Vardar-Unlu ; M. Polissiou and A. Sokmen. (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.

28- Thomas, E.F. and B. Nicolo (1975). FENARoLI`S handbook of flavor ingredients. (1) printed in the United States of American by CRC press, Inc.

29- Tzakou,O.; D. Pitarokili; I.B. Chinou and C. Harvala (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Salvia ringeus*. Planta Medica., 67: 81-83.

30- Verluyten, J.; F.Leroy and L.D. Vuyst. (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 environmental microbiology, 70 (8) :4807-4813.

EFFECT OF SOME PLANT ESSENTIAL OILS EXTRACTS AS ANTIBACTERIRAL AGENT ON SOME TYPE OF FOOD SPOILAGE AND POISIONING BACTERIA

S. J. Ageena* **M. J. Hindi**** **A.A. Yahya****

ABSTRACT

This investigation was carried out to study four types of herbs and spices being: cumin fruits (*cuminum cyminum*), Black pepper seeds (*Piper nigrum*), Sage leaves (*Salvia officinalis*) and Pinus needles (*Pinus halipensis*), they belonged to the families: Umbellifrae, Piperaceae, Labiatae and Pinaceae, respectively.

Essential oils extracts For each plant were test or examined for antimicrobial activity toward the bacteria: *Bacillus subtilis , Bacillus cereus, Bacillus sterothermophilis, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilus, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli,* and *Salmonella typhimurium*. Disk diffusion method was used to test the antibacterial activity. The obtained results revealed that the antimicrobial activity is depend on kind of extract and tested microorganism. The inhibition zone of essential oil extracts against bacteria was ranged between 0-0.9cm for cumin, 0.1-1.8cm for black pepper, 0-0.7cm for sage, 0-1.4 cm for pinus needles. Thus it is appeared that the black pepper essential oil was the best antibacterial agent as compared with other plant extracts, as recorded the highest rang of inhibition zone toward the studied bacteria. However the other plant extracts showed no inhibition activity toward *K. pneumoniae*. So the sage essential oil extract was not active against *B. sterothermophilis* and *P. mirabilus*, Pinus essential oil extract was not active on *Pse. aeruginosa*.

Part of Ph.D. Thesis of the first author.

*** College of Veterinary Medicine - Baghdad Univ. - Baghdad, Iraq.**

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