# تأثير الزيت الطيار المستخلص من قشور ثمار السندي *Citrus grandis* في نمو بعض الأحياء المجهرية الملوثة للأغذية.

**بتول زينل علي ، إستبرق عز الدين ، إبراهيم هادي محمد***
**قسم علوم الحياة ، كلية التربية- ابن الهيثم ، جامعة بغداد**
*** قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ،جامعة ديالى**

## الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى تأثير الزيت الطيار المستخلص من قشور ثمار السندي الصفر *Citrus grandis* في نمو ثلاث عزلات من البكتريا المعزولة من عينات غذائية وفطر *Aspergillus flavus* للكشف عن إمكانية استعمال هذا الزيت مادة حافظة غذائية أو مانعة لنمو الأحياء المجهرية الملوثة للأغذية . أظهرت النتائج اختلاف حساسية الأنواع البكتيرية للزيت الطيار الذي اظهر تأثيرا مضادا لعزلتي البكتريا *Salmonella enteritidis* و *Staphyllococcus aureus* بزيادة التراكيز . وكان الـ MIC للعزلتين (1 و 0.12)% على التوالي . وأظهرت البكتريا *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة تامة للزيت بالتراكيز المستعملة في الدراسة .

كما أظهرت نتائج معاملة عالق ابواغ الفطر *A. flavus* بتراكيز مختلفة من الزيت الطيار فعالية تثبيط تامة لإنبات الابواغ عند التراكيز (0.12 ، 0.25 ، 0.5 ، 1)% في حين أخر التركيزين (0.03 ، 0.06)% إنبات الابواغ لغاية (11 و 17) ساعة بعد الحضانة مقارنة بمعاملة السيطرة التي ظهراول مؤشر فيها للإنبات بعد مرور (6) ساعات حضانة . كما أثرت التراكيز المختلفة للزيت الطيار في معدل النمو القطري للفطر *A. flavus* ،إذ أظهرت التراكيز (0.12 ، 0.25 ، 0.5 ، 1)% فعالية تثبيط تامة لنمو الفطر أما التراكيز الأدنى من ذلك فقد أظهرت انخفاضا في أقطار المستعمرات بزيادة التراكيز .

## المقدمة

الزيوت الطيارة هي المواد العطرية التي يمكن إن توجد في جميع أجزاء النبتة ، وبما إنها تتبخر عند تعرضها للهواء في درجات حرارة اعتيادية لذلك فإنها تسمى الزيوت الطيارة Volatile oils أو الزيوت الأساسية Essential oils وكذلك تسمى بالزيوت العطرية وهذه التسمية تعود لكون الزيوت الطيارة تشمل المواد العطرية الموجودة في النباتات (1 ، 2) . تستعمل قسم من العقاقير الخام طبيا لاحتوائها على زيوت طيارة وفي حالات عديدة تستعمل الزيوت الطيارة المفصولة من العقاقير عقارا" نفسه . أن أكثر استعمالات الزيوت الطيارة شيوعا هي للأغراض العطرية، إذ تستعمل في العطور ومستحضرات التجميل فضلا عن استعمالاتها العلاجية ، كما تستعمل مضافات غذائية ولبعضها خاصية معقمة ، لذلك فان فعالية الزيوت الطيارة المضادة للبكتريا والفطريات كانت وما تزال موضوع بحث مستمر (2) . وقد أجريت العديد من الدراسات لبيان فعالية الزيوت الطيارة المستخلصة من العديد من النباتات ضد البكتريا والفطريات (3 ، 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8 ، 9) .

يعود نبات السندي *Citrus grandis* (Sindi) تسميته الانكليزية Pumello إلى عائلة Rutaceae ورتبة Geraniales (10) أو Sapindales (11) التابعة لتحت الصف Archichlamyae (10) أو Angiospermae .

بصورة عامة تعد ثمار الحمضيات غنية بفيتامين C و $B_1$ واللافونويدات ، حوامض ، وزيوت طيارة (11) . يستخلص الزيت الطيار أما من الأزهار المتفتحة ، ويستعمل في تحضير العطور أو يستعمل مادة من الأوراق والثمار الناضجة ويستخدم كمادة غذائية عطرية .

أن المكون الرئيس للزيت الطيار وبصورة عامة لكل أنواع الحمضيات باستثناء السندي هو زيت Limonene وهو من التربينات الأحادية أما المكون الرئيس للزيت الطيار للزيت الطيار المستخلص من السندي فهو Linalool وبنسبة (50.3)% وه من التربينات الأحادية أيضا فضلا عن ذلك يحوي زيت قشور السندي على مركب أخر فعال هو γ-3-Carene وبنسبة (2.37)% (12) .

هدفت الدراسة الحالية الى تأثير الزيت الطيار المستخلص من قشور ثمار السندي الصفر في نمو بعض أنواع البكتريا المعزولة من عينات غذائية وفطر *Aspergillus flavus* ومن ثم إمكانية استعمال هذا الزيت مادة غذائية حافظة أو مانعة لنمو الأحياء المجهرية الملوثة للأغذية .

## المواد وطرائق العمل

-نبات السندي : جمعت قشور ثمار السندي الناضجة الصفر الذي تم الحصول عليه من السوق المحلية واستعملت القشور مباشرة من دون تجفيفها (12) .

- العزلات االبكتيرية وفطر *A. flavus* :

تم الحصول على عزلات البكتريا *Salmonella enteritidis* و *Staphyllococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* والمعزولة من عينات غذائية ، وفطر *A. flavus* الذي عزل من عينات من الطحين في دراسة سابقة (13) ، أظهرت قدرته على إنتاج سموم الافلاتوكسين ، من مختبر الأحياء المجهرية المتقدم في قسم علوم الحياة / كلية التربية ابن الهيثم .

**- تحضير الزيت الطيار من قشور ثمار السندي :**

اتبعت طريقة (14) لاستخلاص الزيت الطيار من القشور الصفر لثمار نبات السندي،اذ تم وزن (100) غم من القشور وأضيف إليها لتر واحد من الماء المقطر ووضعت في جهاز التقطير بالبخار Steam distillator ، بعد استخلاص الزيت الطيار وضع في قناني معتمة وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال وكان معدل الزيت المستخلص من كل (50) غم قشور يعادل (2 مل) .

**- تحضير مزروع البكتريا ومحلول ابواغ فطر *A. flavus* :**

اتبعت طريقة (15) في تحضير مزروع البكتريا اذ نقل جزء من مستعمرات الأنواع البكتيرية النامية على الوسط الصلب وبعمر (24) ساعة إلى أنبوبة اختبار حاوية على (10) مل من وسط المرق المغذي وبعد حضانة (16–18) ساعة بدرجة حرارة (30º) م عملت تخافيف للمزروع وحددت الكثافة الضوئية للمزروع المخفف باستخدام جهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي قدره (420) نانوميتر .

أما محلول ابواغ الفطر *A. flavus* فحضر بإتباع طريقة (16) اذ زرع الفطر *A. flavus* على وسط البطاطا–دكستروز أكار (PDA) وبعد مرور (5–6) أيام أضيف (5) مل من الماء المقطر المعقم إلى الطبق وتم فصل الابواغ بوساطة الناقل المعدني ، رشح المحلول باستعمال طبقات متعددة عدة طبقات من الشاش المعقم للتخلص من هايفات الفطر . جمع محلول الابواغ في قنينة معقمة وعملت منه تخافيف متعددة ثم اختير التخفيف الملائم وهو $10^3$.

**- اختبار حساسية العزلات البكتيرية تجاه الزيت الطيار :**

اختبر تأثير الزيت المستخلص تجاه العزلات البكتيرية وحسب طريقة (15) اذ حضرت سلسلة من التخافيف المتدرجة لمستخلص الزيت الطيار الذي أضيفت له مادة Tween 80 بتركيز (0.05)% لعمل مستحلب يمكن إذابته في وسط المرق المغذي وبثلاث مكررات وكمايأتي :

(0.03 ، 0.06 ، 0.12 ، 0.25 ، 0.5 ، 1 ، 2)% (حجم : حجم) ، وحضرت أنابيب السيطرة الحاوية على عوالق البكتريا ووسط المرق المغذي ومادة Tween 80 ، حضنت الأنابيب مدة (16–19) ساعة بدرجة (37º) م بعدها اخذ

حجم (0.1) مل من كل تركيز ووضع في طبق زجاجي معقم ثم صب فوقه وسط الاكار المغذي المعقم والمبرد لدرجة حرارة (40–45º) م . حركت الأطباق لمجانسة المزروع مع الوسط الزرعي وتركت لحين تصلب الوسط الزرعي وحضنت بدرجة (37º) م لمدة (24–48) ساعة ، بعد ذلك تم حساب عدد المستعمرات النامية لكل تركيز ومقارنتها مع معاملة السيطرة الخالية من الزيت .

**- اختبار تأثير الزيت الطيار لقشور نبات السندي في النسبة المئوية لإنبات ابواغ الفطر *A. flavus* .**

حضرت تراكيز مختلفة من الزيت الطيار في أنابيب اختبار معقمة وأضيف إليها مادة Tween 80 بنسبة (0.05)% لعمل مستحلب أضيف إليه (0.1) مل من محلول الابواغ وحجم معين من وسط مستخلص البطاطا–دكستروز السائل للحصول على التراكيز (0.07 ، 0.15 ، 0.31 ، 0.62 ، 0.25 ، 2.5 ، 5 ، 10)% (حجم : حجم) فضلا" عن معاملة السيطرة . حضنت الأنابيب بدرجة الحرارة (28º) م وتمت متابعة أنابيب الإنبات من حين بزوغها كل ساعة وذلك بأخذ قطرة من كل تركيز على شريحة زجاجية وفحصت مجهرياً و حسبت عدد الابواغ النابتة مدة (24) ساعة ومقارنتها بمعاملة السيطرة .

**- اختبار تأثير الزيت الطيار في معدل النمو القطري لفطر *A. flavus* .**

اتبعت طريقة (17) اذ اخذ حجم (0.5) مل من عالق الابواغ المعامل بالزيت الطيار من الفقرة السابقة ومعاملة السيطرة بعد مرور (24) ساعة بوساطة ماصة معقدة ووضعت في مركز الطبق الزجاجي على وسط PDA وحضنت الأطباق بدرجة حرارة (28º) م . وحسب قطر المستعمرات في كل يوم مدة خمسة أيام لحين وصول النمو في طبق السيطرة إلى حافة الطبق .

## النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج معاملة البكتريا *S. enteritidis* و *S. aureus* و *P. aeruginosa* بتراكيز مختلفة من الزيت الطيار تأثيرا مضادا وتدريجيا لنمو هذه العزلات بزيادة التركيز القاتل الأدنى تحت مستوى احتمالية (0.001 ، 0.01 ، 0.05) . واختلفت الأنواع في حساسيتها للزيت الطيار ، وأظهرت بكتريا *P. aeuroginosa* مقاومة تامة للزيت بالتراكيز المستعملة في التجربة ، ويعتقد إن تلك المقاومة تعود إلى الجدار الخلوي للبكتريا المذكورة اذ إن الغلاف الخارجي للبكتريا يتألف من Lipopolysaccharides (LPS) ودهون فوسفاتية وبعض البروتينات وهذه المواد تغطي طبقة الببتيدوكلايكان (Peptidoglycan) وتعمل حاجزا" يمنح البكتريا المذكورة حماية ضد الزيوت الطيارة (6 ، 16) ، فضلا عن قدرة البكتريا المذكورة على تأييض مدى واسع من المركبات العضوية ، كذلك طبيعة الزيت الطيار إذ ان بعض الزيوت الطيارة لاتستطيع النفاذ إلى داخل الخلية البكتيرية (16) . أما بكتريا *S. aureus* فقد كانت أكثر تأثرا من بكتريا *S. enteritidis* شكل (1) ، إذ كان MIC لبكتريا *S. aureus* و *S. enteritidis* (0.12و 1)% (حجم : حجم) على التوالي . تظهر هذه النتائج أن البكتريا الموجبة لملون غرام *S. aureus* كانت أكثر تأثرا بالزيت الطيار من البكتريا السالبة لملون غرام قد يعود ذلك إلى ان طبقة الـ Peptidoglycan في البكتريا الموجبة لملون غرام أكثر متاحة للاتصال بالزيت الطيار فلا تملك حماية من قبل أي مادة خارج هذه الطبقة (16) .

تعزى قابلية الزيت الطيار لقشور ثمار السندي على تثبيط الأنواع البكتيرية لكونه من المركبات التربينية الأحادية التي تتداخل مع الأغشية السايتوبلازمية فتؤثر بالدرجة الأساس على إيقاف آلية النقل الفعال وعملية الفسفرة التأكسدية في البكتريا فضلا عن إن التربينات الأحادية تكون محبة للدهون وكلما ازدادت هذه الخاصية في الزيوت الطيارة كانت أكثر قابلية للذوبان في الأغشية الخلوية ومن ثم كانت أكثر سمية للأحياء المجهرية (6) .

**- تأثير الزيت الطيار لقشور ثمار السندي في النسبة المئوية لإنبات ابواغ الفطر *A. flavus* .**

أظهرت نتائج معاملة عالق ابواغ الفطر *A. flavus* بتراكيز مختلفة من الزيت الطيار فعالية تثبيط عالية تحت مستوى احتمالية (0.001 ، 0.01 ، 0.05) في النسبة المئوية لإنبات ابواغ الفطر شكل (2) . إذ اظهر الزيت المستخلص فعالية تثبيط تامة عند التراكيز (0.12 ، 0.25، 0.5 ، 1)% (حجم : حجم) في حين أخر التركيز (0.03 ، 0.06)% إنبات الابواغ لغاية (11) و(17) ساعة بعد الحضانة مقارنة بمعاملة السيطرة التي ظهر أول مؤثر للإنبات بعد مرور (6) ساعات من الحضانة . تتفق هذه النتيجة مع ماتوصل إليه (8 ، 9) اللذين أكدا على الفعالية التثبيطية العالية للزيت الطيار المستحصل من نبات حشيشة الليمون *Cymbopogan citrates* وقشور ثمار النارنج الخضراء على التوالي في النسبة المئوية لإنبات ابواغ الفطر *A. flavus* . كما تتفق النتيجة مع ماتوصل إليه (17 ، 18) من إن الزيوت الطيارة وما تحويه من التربينات الأحادية لها تأثير فعال تجاه نمو الفطر *A. flavus* .

**- تأثير الزيت الطيار لقشور ثمار السندي في النمو القطري لفطر *A. flavus* .**

أظهرت التراكيز المختلفة للزيت الطيار فعالية تثبيط بلغت (100)% عند التراكيز (0.12 ، 0.25 ، 0.5 ، 1)% لنمو مستعمرات فطر *A. flavus* (شكل 3) أما التراكيز الأدنى من ذلك فقد أظهرت انخفاضا في أقطار المستعمرات بزيادة التركيز وأوضح التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية عالية جدا تحت مستوى احتمالية (0.001 ، 0.01 ، 0.05) عند التركيزين المؤثرين (0.03 ، 0.06)% ، تتفق هذه النتيجة مع ماتوصل إليه (17 ، 18) من إن التربينات الأحادية لها تأثير تثبيطي عال" في نمو الفطر *A. flavus* .

أظهرت نتائج البحث تأثير مضاد للزيت الطيار المستخلص من قشور ثمار السندي لعزلتي البكتريا *Salmonella enteridis* و *Staphyllococcus aureus* وكذلك فعالية تثبيط تامة لإنبات الابواغ وتأثير في معدل النمو القطري للفطر *Aspergillus flavus* .

## المصادر


1-Harborne, J.B. (1973). Phytochemical methods. C.X & Wyman Ltd., Norfolk: 278 pp.

2-الشماع، علي عبد الحسين (1989). العقاقير وكيمياء النباتات الطبية. مطبعة دار الكتب للطباعة، الموصل: 400 صفحة.

3-Crespo, M.E.; Jimenez, J.; Gomis, E. & Navarro, C. (1990). Microbios, 61: 181-184.

4-El-Kady, I.A.; El-Maraphy, S.S.M. & Mohamed, E.M. (1993). Qat. Univ. Sci., 13 (1): 63-69.

5-Amaral, J.A.; Ekins, S.R.R. & Knowles, R. (1998). Appl. Envirom. Microbiol., 64 (2): 520-525.

6-Mann, C.M.; Cox, S.D. & Markham, J.L. (2000). Lett. Appl. Microbiol., 30: 294-297.

7-Shyh, M.Y. & Mei, C.Y. (2001). J. Antimicrob: Crob. Chemother., 47: 665-670.

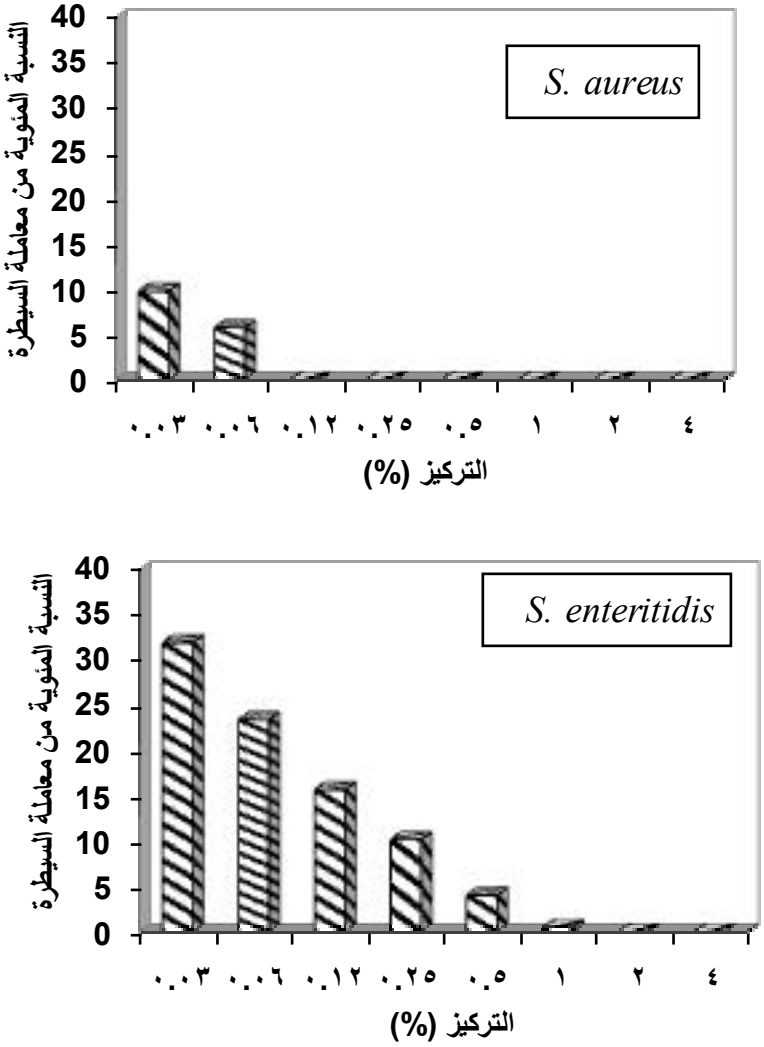
8-القيسي، صفاء الدين احمد شنتر (2003). تأثير عصير اللهانة L. *Brassica oleraceae* var. *capitata* والزيت الطيار لحشيشة الليمون *Cymbopogon citratus* في نمو بعض الأحياء المجهرية وفعاليتها والمعزولة من حالات مرضية. رسالة ماجستير، كلية التربية/ ابن الهيثم، جامعة بغداد: 96 صفحة.

9-القيسي ، إستبرق عز الدين محمود (2004) . تأثير مستخلصات نبات خناق الدجاج L. *Zygophyllum fabago* والزيت الطيار لقشور ثمار نبات L. *Citrus aurantium* الخضراء في نمو وفعالية بعض الأحياء المجهرية . رسالة ماجستير ، كلية التربية ابن الهيثم ، جامعة بغداد : 97 صفحة .

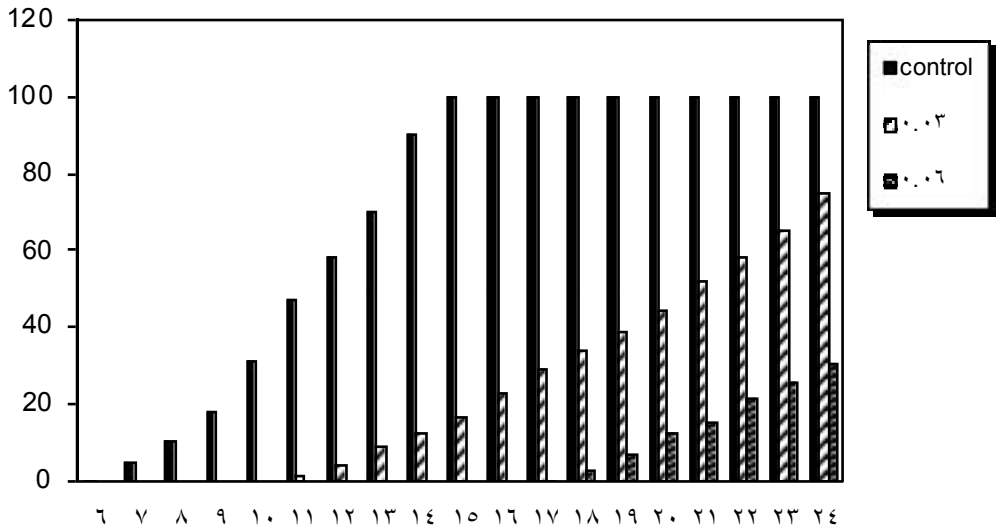
10-Bhattacharyya, B. & Johri, B.M. (1998). Flowering plants taxonomy and phylogeny. Navosa publishing house, New Delhi: 753 pp.

11-Gonz'alez, C.N. ; Sanchez, F. ; Quintero, A. ; Usubillage, A.(2004). Chemotaxonomic value of essential oil compounds in Citrus species . International conference on medicinal and aromatic plants . Abstract . http:// www.actahort. Org .

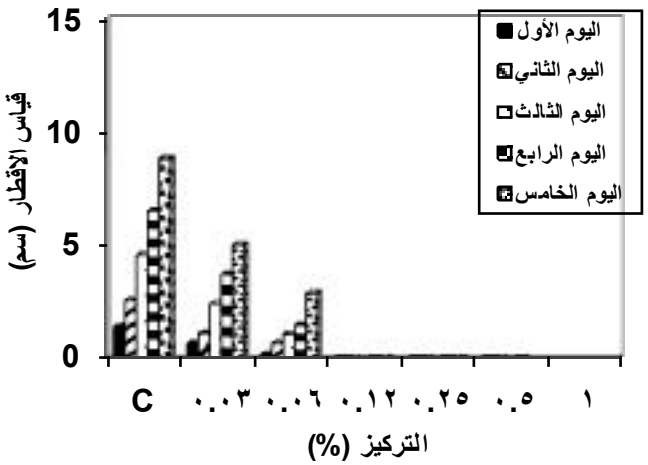
12-Vekiari, S.A.; Protopapadakis, E.E.; Papadopoulou, P.; Papanicolaou, D.; Panon, C. & Vamovakias, M. (2002)..J.Agric. Food Chem., 50(1): 147-153.
13- الجنابي ، سندس جميل (1998) . تـأثير بعض المواد الحافظـة للأغذيـة فـي نمو الفطريـات والتلـوث بالافلاتوكسين . رسالة ماجستير . كلية التربية ابن الهيثم ، جامعة بغداد .
14-Cavallito-Freiitas, M.I.R and Costa, M. (1945). L. Biol. Pharm. Bull., 25(12) : 1629-1633.
15-Mann, C.M. & Markham, J.L. (1998). J. Appl. Microbial., 84: 538-544.
16-Chao, S.C.; Young, D.G. & Oberg, C.J. (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. J. Essent. Oil Res., 12: 639-649.
17-Benjilali, B.; Elaraki, A.T.; Ayadi, A. & Ihlal, M. (1984). J. Food Prot., 47 (10): 748-752 pp.
18-Lopez, M.A.; Al-Zamora, S.M. & Palou, E. (2002). Int. J. Food Microbiol., 73 (2-3): 213-218.




**شكل(1): تأثير الزيت الطيار لقشور ثمار نبات السندي في نمو بعض أنواع البكتريا الملوثة للأغذية**




**شكل(2):تأثير الزيت الطيار لقشور نبات السندي في النسبة المئوية لإنبات ابواغ الفطر *A. flavus***




**شكل (3):تأثير الزيت الطيار لقشور نبات السندي في النمو القطري لفطر *A. flavus***

# Effect of Volatile oil extracted from *Citrus grandis* yellow peel on growth of some food borne microorganisms

**B. Z.Ali , E. AL-Qaissi , E. H. Mohammed***
**Department of Biology ,College of Education-Ibn Al-Haitham, University of Baghdad**
*** Department of Biology , College of Science , University of Diyala**

## Abstract

The study is conducted to investigate the effect of volatile oil extracted from the yellow peel of *C. grandis* fruits (Sindi) on growth of three bacterial species isolated from food samples , as well as *A. flavus* , and to check the possibility of using the volatile oils of this plant as a food preservative .

Results showed a variation in the sensitivity of the bacterial isolates against the volatile oil which showed inhibitory effect on the growth of *S. enteritidis* and *S. aureus* with the increasing concentration of the volatile oils used in this studys , MIC for both bacteria was (0.12 , 1)% (v:v) respectively. Whereas , *P. aeruginosa* showed complete resistance to all treating concentrations used . Results of treating spore suspension of *A. flavus* with different concentrations of volatile oil showed also complete inhibition of germination at concentrations (0.12 , 0.25 , 0.5 , 1)%. Whereas lower concentrations (0.03 , 0.06)% delayed spore germination for (11) and (17) hrs after incubation respectively compared to the control treatment in which spores germination was within (6) hrs after incubation .

Different concentrations of the volatile oil also affected the radial growth rate of *A. flavus* was colonies with the increasing concentrations . A complete inhibition of growth occurred at concentrations (0.12 , 0.25 , 0.5 , 1)% , Whereas lower concentrations showed a reduction of colony diameters with the increasing concentrations .