استخدام تراكيز مختلفة من مستخلص زيت بذور نبات الشبنت *Anethum graveolens L* في حفظ اللحوم المفرومة

مجيد محمود عبد*، عماد حامد هويدي** وطالب خماس حسين**
*كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد
** المعهد التقني المسيب

الخلاصة

تم تشخيص المركبات الفعالة في مستخلص زيت بذور الشبنت الأساسي essential oil وهي:
Phenol thymol, carvacrol, $\beta-$ cymene, $\beta-$ pinene, limonene, Terpinene, Eugenol, Linalool.

بطريقة الكروموتوغرافيا الغاز- السائل Gas Liquid Chromatography (GLC). واستخدمت تراكيز مختلفة من الزيت الأساسي (25، 50، 75، 100، 150) ملغم/ غم لحم في عينات من لحوم العجول المحلية المفرومة وحفظت في درجة حرارة 4- 6 مْ ولفترات مختلفة (1، 72، 168، 240) ساعة. بينت النتائج التأثير الواضح للزيت الاساسي لبذور نبات الشبنت على العدد الكلي للبكتريا المسببة لفساد اللحوم عند زيادة تركيز المستخلص الزيتي. وبينت النتائج للتحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية عالية على مستوى ($P\leq0.01$) بين جميع المعاملات للتراكيز المختلفة مع معاملة السيطرة ولجميع فترات الحفظ.

Use the different concentrations of seeds *Anethum graveolens L* oil extract as a preservative in minced meat

M. M. Abd*, A. H. Hoedi and T. K. Hussain****
***College of Veterinary Medicine/ University of Baghdad**
****Al- Mseib Technical institute**

Abstract

Anethum graveolens L seed essential oil was extracted and the important active components such as a phenyl thymol, Carvacrol, β- cymone, β - pinene, limonene, Terpinene, Eugenol, Linalool. Were determined by gas liquid chromatography (GLC). Different concentration of the seed's oil extract (25, 50, 75, 100 and 150) mg/gm meat were used on local minced meat samples and kept at 4- 6 ^{o}C for different periods (1, 72, 168 and 240) hours. The results showed clear effect on total count of the bacteria responsible of spoilage meat with increasing concentration of the seed oil extract. Statistic analysis result showed high significant ($P\leq0.01$) variations of all different treatments compared with control for all the storage periods.

المقدمة

تعتبر اللحوم وخاصة المفرومة منها وسطاً ملائماً لنمو الكثير من الاحياء المجهرية مما تسبب في تلفها وخسائر اقتصادية كبيرة وتؤثر على الصحة العامة وخاصة في الدول النامية (1، 2). ونظراً للآثار الجانبية للمواد الكيميائية الحافظة المستخدمة في اطالة مدة حفظ المواد الغذائية بشكل عام واللحوم بشكل خاص فقد اتجهت الدراسات الحديثة إلى ايجاد بدائل طبيعية لاستخدامها في زيادة مدة حفظ المواد الغذائية. وتعد اللحوم

الحمراء والبيضاء ومنتوجاتها مصدراً مهماً لحدوث حالات التسمم الغذائي لجرثومة السالمونيا (3). كما تلعب campylobacter دوراً كبيراً في حالات التسمم الغذائي (4، 5، 6). كما تسبب الاشيريشيا كولاي Escherichia coli النزفية التي تنتقل عن طريق اللحوم الملوثة بعد عملية الذبح كثير من حالات الإسهال عند الأطفال (7). استخدم زيت نبات النعناع كمادة حافظة واعطاء نكهة في كثير من الصناعات الغذائية والدوائية (8، 9) حيث تم استخلاص 30 مركب زيتي من زيت النعناع وتم تشخيص ثمانية مركبات كمواد حافظة (8). وتعتبر المركبات الفعالة لزيت نبات الشبنتL Anethum gravcolens ومنها:

(Terpinene and coryophyldene, Linalool, α-phellandrene, Limonene, Carvone, Eugenol)(10) ذو تأثير فعال في تثبيط نمو الاحياء المجهرية في المواد الغذائية وكذلك كمادة منكهة ومحسنة للطعم. كما استخدم مستخلص الثوم Garlic في تثبيط *Bacillus cereus*. كما استخدم زيت نبات النعناع في تثبيط salmonella و(staphylococcus) . أما Yildrim (11) فقد استخدم مستخلص نبات Tilia والقويسة والشاي الأسود في تثبيط بعض الأحياء المجهرية الموجودة في الأغذية. أما ابراهيم وآخرون (12) فقد استخدمت المستخلص المائي والزيتي لنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis L* في تثبيط العديد من البكتريا والخمائر الموجودة في الأغذية، أما الزبيدي وآخرون (13) فقد درست الفعالية التثبيطية لمستخلص نبات الجت على الاحياء المجهرية المسببة لتلف اللحوم. أما زيت لحاء القرفة فيحتوي على 80 – 90% (Linalool, safrole, Benzyl benzoate, Eugenol acetat, cinnamaldehyde, Alcohol cinnamyl, Cinnamyl acetat) وغيرها من المركبات الفعالة في تثبيط كثير من الأحياء المجهرية (14). وأن مركبات Carvacrol, Limonene أعطت فعالية قوية ضد الفطريات وهذا ما توصل إليه Delaquis (11). لذا فقد هدف البحث إلى دراسة تأثير تراكيز مختلفة من زيت نبات الشبنت في تثبيط نمو بعض الاحياء المجهرية المسببة لتلف الأغذية وخاصة اللحوم. كما يهدف البحث إلى امكانية استخدام زيت النباتات كبديل للمواد الحافظة الكيمياوية في حفظ الأغذية.

المواد وطرائق العمل

- **استخلاص زيت نبات الشبنت:** بعد عملية تجفيف وطحن بذور نبات الشبنت تم استخلاص الزيوت بطريقة التقطير المائي وحسب الطريقة التي ذكرها (15) وباستخدام جهاز Clevenger حيث تم وزن 50 غرام من نبات الشبنت الجاف والمطحون ووضعت في دورق زجاجي سعة 1 لتر وأضيف إليها 500 مل ماء مقطر أي بنسبة (10:1) (مسحوق: ماء) واستمرت عملية التقطير (1.5 ساعة) لحين حصول طبقتين من الماء والزيت وثم فصل الزيت عن الطبقة المائية باستخدام قمع الفصل. نقل المستخلص إلى قنينة خاصة ذات غطاء محكم وحفظت لحين دراسة تأثيرها على الأحياء المجهرية.
- **الخواص الفيزيائية للزيت الأساسي لبذور نبات الشبنت:** تم تحديد الوزن النوعي ومعامل الانكسار لزيت بذور نبات الشبنت حسب طريقة Duhan (16).
- **الكشف عن المركبات الفعالة في زيت النبات:** تم استخدام تقنية G.L.C (Gaz Liquid Chromatography) باستخدام جهاز نوع shimadzn موديل Ge – 9A وباستخدام عمود (spB – 5) وبالتعاون مع وزارة العلوم والتكنولوجيا – مختبرات الرقابة النوعية.
  - درجة حرارة العمود الابتدائية 70 مْ.
  - درجة حرارة العمود النهائية 250 مْ لمدة دقيقتين.
  - معدل ارتفاع درجة الحرارة 24 مْ/ دقيقة.

- درجة حرارة الحاقن 240 مْ (injector temperature).
- درجة حرارة الكشاف 250 مْ (Detector temperature).
- الطور الثابت (30- se 3%).
- سرعة جريان غاز النتروجين الحامل (carrier gas) 25 ملم/ دقيقة.
- سرعة ورقة التسجيل 1 سم/ دقيقة.

- **تحضير عينات اللحم ومعاملات الدراسة:** تم استخدام 1200 غرام من لحوم العجول المحلية المفرومة من محلات الجزارة في بغداد بطريقة عشوائية وجزأت إلى 48 عينة، وزن العينة الواحدة 25 غرام بواقع 5 عينات للتراكيز وواحدة لمعاملة السيطرة بواقع مكررين وعلى مدى أربعة فترات من الحفظ على درجة حرارة 4 – 6° م وعلى تراكيز مختلفة ملغم/غم لحم 25، 50، 75، 100 و150.
- تم قياس العدد الكلي للبكتريا بعد 1، 72، 168 و240 ساعة من إجراء المعاملات بطريقة العد بواسطة الأطباق واستخدام تخفيف 10^{-5}.
- **التحليل الإحصائي:** استعمل برنامج SPSS الجاهز لسنة 2012 في التحليل الإحصائي بطريقة ANOVA وباتجاه واحد لدراسة تأثير المعاملات المختلفة.

النتائج والمناقشة

- **الخواص الفيزيائية لزيت بذور الشبنت:** الزيت الأساسي يميل إلى الاصفرار ذو وزن نوعي قدر (0.913) ومعامل الانكسار (1.483) وهذا ضمن الحدود الذي أوجده Duhan (16) (0.922).
- **المركبات الفعالة في زيت بذور الشبنت:** تبين النتائج من جدول (1) احتواء الزيت الأساسي للشبنت على المركبات الفعالة وهي:

Phenol-thymol, carvacrol, β– cymene, β– pinene, limonene, Terpinene, Eugenol, Linalool.

وحيث سجل Phenol-thymol أعلى تركيز 450 بالمليون وEugenol اقل تركيز(2 جزء بالمليون) وهذه المركبات أعطت للزيت فعالية قوية في التقليل من المحتوى البكتيري للحوم وهذا يتطابق لما جاء به (14، 17، 18، 19، 20).

جدول (1) تراكيز المركبات الفعالة في زيت بذور نبات الشبنت (جزء بالمليون ppm) باستخدام كروماتوغرافيا الغاز- السائل GLC

المركب	وقت الاحتجاز/ دقيقة	ملغم/ كغم زيت ppm
Carvacrol	4.2	110
β – pentene	4.6	11
Limonene	4.9	124
Linalool	5.1	34
Eugenol	6.1	2.0
Terpinene	6.4	32
Phenol –thymol	6.9	450
β – cymene	7.3	228

جدول (2) تأثير تراكيز مختلفة للمستخلص الزيتي لنبات الشبنت في معدل العدد الكلي للبكتريا خلال مدد خزنية مختلفة

مدة الحفظ / ساعة تركيز المستخلص ملغم/غم لحم	1	72	168	240
معاملة السيطرة	$10^4 \times 6.2$	$10^8 \times 6.2$	$10^9 \times 3.2$	$10^{11} \times 5.6$
25 ملغم/ غم لحم	$10^4 \times 4.8$	$10^6 \times 6.4$	$10^7 \times 3.8$	$10^8 \times 4.2$
50 ملغم /غم لحم	$10^4 \times 3.6$	$10^6 \times 2.6$	$10^7 \times 1.8$	$10^8 \times 1.2$
75 ملغم /غم لحم	$10^4 \times 3.8$	$10^5 \times 8.2$	$10^6 \times 2.4$	$10^7 \times 4.5$
100 ملغم /غم لحم	$10^4 \times 2.8$	$10^5 \times 5.2$	$10^6 \times 1.8$	$10^7 \times 2.4$
150ملغم/غم لحم	$10^4 \times 1.6$	$10^4 \times 6.8$	$10^6 \times 8.5$	$10^6 \times 9.1$
LSD	$10^4 \times 1.8$	$10^7 \times 5.3$	$10^8 \times 4.8$	$10^{10} \times 6.8$

- **تأثير زيت بذور الشبنت على أعداد البكتريا:**

توضح نتائج جدول (2) وجود انخفاض في معدل العدد الكلي للبكتريا بعد ساعة مع زيادة تراكيز مستخلص زيت بذور الشبنت مقارنة بمعاملة السيطرة وسجلت النتائج تفوق المعاملة مع تركيز150 ملغم/ غم لحم على باقي المعاملات. كما أن العدد الكلي للبكتريا للمعاملات الخمسة وبالتراكيز المختلفة لزيت بذور نبات الشبنت قد بينت انخفاضاً واضحاً مقارنة بمعاملة السيطرة للمدد 72، 168، 240 ساعة فقد ازداد العدد الكلي للبكتريا من $10^4 \times 6.2$ إلى $10^{11} \times 5.6$ بعد 240 ساعة من الحفظ لمعاملة السيطرة. في حين سجلت المعاملة مع 150 ملغم/غم إلى $10^6 \times 9.1$. وقد بين التحليل الإحصائي وجود فروقات معنوية عالية بمستوى ($P\leq0.01$) بين جميع التراكيز ومعاملة السيطرة لفترات الحفظ الأربعة المختلفة باستثناء المعاملة 25 ملغم/غم بعد ساعة واحدة من المعاملة فقط. مما يدل على أن المستخلص الزيتي لنبات الشبنت له تأثيراً واضحاً في تثبيط أعداد البكتريا خلال مدة حفظ العينات وهذا ما بينه Lopez وجماعته (21) ضد البكتريا الموجبة G^+ (Bacillus cereus, staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis) والبكتريا السالبة G^- Yarsinie enterocolitica, Escherichia coli, Salmonella choleraesuis and Pseudomonas aeruginosa والخمائر (a yeast, candida albicans) وبالتالي فأن زيت بذور نبات الشبنت يعتبر من المركبات الطبيعية التي تتمكن من خلق جو حماية للأغذية الطبيعية. ومن خلال نتائج هذا البحث يتبين ان زيت بذور نبات الشبنت يمكن اعتباره من المركبات الطبيعية التي يمكن استخدامها للتقليل من النشاط الميكروبي في اللحوم.

المصادر

1. WHO. (2002). Risk characterization of Salmonella spp. In eggs and broiler chicken and Listera mono cytogenes in ready to eat foods report from af 10/ WHO consultation in IAO Aead quarters. Rome. Italy 30 April 4 May 2001. http://www. Who. Int/fsf/micro/report 30 Apr.
2. USDA, Economic Research Service. (2004). Economics of food borne disease. www.ers. usda. gov/ briefing/food bornediseasel features Accessed/Nov,16.
3. Uzzao, S.; Brown, D. J. & wallis, T. (2000). Review: Host adapted serotypes of salmonella enteric. Epidemol. and Infection. 55: 125- 222.
4. Marler, C. (2009). About campylobacter. (http:// www.About- campylobacter.com).

5. Quinn, P. J. & Markey, B. K. (2003). concise Review of veterinary Microbiology. Black well pub. U. K.
6. Kramer, J. M.; Forst, J. A.; Bolton, F. J. & Waring, D. R. (2000). Campylobacter contamination of raw meat and poultry at retail sale identification of multiple types and compassion. J. Food Prot., 63: 1654.
7. Feng, P. & Morday, S. R. (2000). Multiplex PCR for detection of trait and virulence factors in enter hemorrhagic Escherichia coli Serotype. Mol. Probes., 14: 333- 337.
8. الاعرجي، إحسان سعد سند و طالب، حسين خماس طالب. (2000). دراسة التركيب الكيميائي لأوراق النعناع واستخدامها في تحضير شراب غذائي وعلاجي، مجلة العلوم الزراعية العراقية. 31 (4): 261 – 272.
9. Claus, E. P. & Tyler, V. E. (1967). Pharmacognosy lea and Febiger pgiladelphia. USA Fifth P. 572.
10. Hammans, K. I.; Diepenhorst, P.; Bakker, W. & Gorris, L. G. M. (1995). The use of carroue in Agriculture sprout suppression of Potatoes and Antifungal activity against Potato tuber and other Plant diseases . Ind. Crops Prod., 4 (1): 3- 13.
11. Yildrim, A.; Mavi, A.; Oktag, M.; Kara, A. A.; Algur, O. F. & Bilaloggu, (2000). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia. J. Agric. Food Chem., 48:503- 534.
12. Auroba, M. S.; Abid, M. & Alladdean, A. (2010). Evaluation of inhibition Activity of Rosmarinus officinalis plant watery and oily extracts on some pathogenic Microorganisme. J. College of Vet. Baghdad. 2: 46- 50.
13. الزبيدي، سحر عمران والحيالي، ميعاد سلمان حمود.(2011). الفعالية التثبيطية لمستخلصات نبات الجت في عزلات الأحياء المجهرية وإمكانية استخدامها في حفظة الأغذية، المؤتمر الأول لبحوث العلوم البايولوجية جامعة الكوفة– كلية التربية للبنات.
14. Health, H. B. (1987). Flavor technology- profiles, orodcts Application connected AVI publishing company– Inc.
15. Cuvelier, M. E.; Richard, H. & Berset, C. (1996). Antioxidative activity and phenolic composition of Pilot- plant and commercial extracts of sage and Rosmary. J. Am. Oil Chem. Sec., 73: 645- 665.
16. Duhan, S. P. S.; Culati, B. C. & Bhattacharya, A. K. (1975). Effect of nitrogen and row spacing on the yield and quality of Essential oil in Japanese mint. Indian J. of Agronomy (India), 20 (1):14-16.
17. Starvi, M. & Gibbons, S. (2005). The antimycobacterial constituents of dill (Anethum graveolens). Phytother. Res., 19: 938- 941.
18. Leung, A. Y. & Foster, S. (1996). Encyclopedia of common Natural ingredients used in Food, Drugs and cosmetics. New York, John Wiley and Sons, Inc.
19. Tassou, C. C. (1993). Microbiology of olives with emphasis on the antimicrobial activity of the phenolic compounds Ph.D. Thesis. University of Bath. Bath. U. K.
20. Turgis, M.; Han, J.; Borsa, J. & Locroix, M. (2008). Commend effect of natural essential oils modified atmosphere packing. J. Food Prot. Jun., 7 (6): 1150- 1161.
21. Lopez, P.; Sanchez, C.; Battle, R. & Nerin, C. (2005). Solid and Vapour phase antimicrobial activities of six essential oils. Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. J. Agric. Food Chem., 53: 6939- 6949.