ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/343442985

The Effects of Extracts From Some Medical Plants on Microorganisms Isolated From Local Soft Cheese

Conference Paper · August 2020

CITATIONS
0

READS
11

3 authors, including:

Abdulridha Sarhan
Hilla University College
43 PUBLICATIONS **64** CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

Quality Standards in higher Education View project

Evaluation and diagnosis of pathogens View project

All content following this page was uploaded by Abdulridha Sarhan on 05 August 2020.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

The Effects of Extracts from Some Medicinal Plants on Microorganisms Isolated From Local Soft Cheese

Abdulridha Sarhan, Thohaeeb FN & Atiea AT
University of Al-Qadisiya, College of Sciences, Department of Biology, Diwanyia, Iraq

Abstract:

The present study was carried out to study the effect of extracts from some medical plants on microorganisms isolated from local soft cheese and find out if there is any possibility for eliminating these microorganisms. Local soft cheese samples are taken from local sellers in AL-Diwaniya city markets. Samples were collected, (20) specimens monthly, from November (2011) until June (2012), the total number of samples was (160). All kinds of bacteria, Molds and yeasts in these samples were detected. The following microorganisms were isolated from the cheese samples studies: coliform bacteria, fecal coliform bacteria, streptococci, fecal streptococci, salmonella, staphylococci, psychrotrophic bacteria, thermophilic bacteria, proteolytic bacteria, lipolytic bacteria, spore forming bacteria, molds and yeasts. Moreover, ecological conditions also proved influential on the number of microorganisms beings in the cheese samples studied regardless of their sources , there number in the summer months was much greater than in the winter months. Some medical plants extracts were used to detect if they have any effect on group of the isolated microorganisms included: *Staphylococcus aureus ; Escherichia coli ; Streptococcus faecalis ; Bacillus* sp. *; Proteus vulgaris ; Pseudomonas flourescens ; Klebsieella pneumonia ; Salmonella* spp. *; Aspergillus niger* and *Penicillium* sp.

The ethanol and aquatic extracts from six medical plants were used in the study, these plants include: *Trigonella foenum-graceum* L., *Foeniculum vulgare* mill , *Rosa damascena* mill, *Pimpinella anisum* L., *Mentha piperita* L. and *Jasminum, grandiflorum* L. All the aforementioned plants had prohibiting effect on 5 kinds of the microorganisms studied with different degrees of prohibition . The ethanol extract proved more powerful than aquatic extract . It was also found out that prohibiting effect of the extract decreases with the decrease in it's concentration and differs according to the kind of bacteria and the kind of plant.

Key words: plant extracts, medicinal plants, microorganisms and local soft cheese.

تأثير مستخلصات بعض النباتات الطبية على الأحياء المجهرية المعزولة من الجبن الطري المحلي

أ.د. عبدالرضا طه سرحان أ.م.د. فعال نعمة ذهيب م.د. أمل طالب عطية
قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة القادسية / الديوانية / العراق

المستخلص:

نفذ هذا البحث لغرض دراسة تأثير مستخلصات بعض النباتات الطبية على الأحياء المجهرية المعزولة من الجبن الطري المصنع محلياً في محافظة الديوانية. تم جمع عينات الجبن من الباعة المحليين في أسواق مدينة الديوانية للفترة من شهر تشرين الثاني (2011) ولغاية شهر حزيران (2012) وبواقع (20) عينة شهرياً فبلغ عدد العينات (160)عينه ، إذ تم الكشف عن البكتيريا والاعفان والخمائر فيها. أظهرت نتائج الفحوصات المايكروبيولوجيه لعينات الجبن المدروسة ارتفاع محتواها من الأحياء المجهرية والتي شملت العديد من المسببات الممرضة للإنسان فضلاً عن مسببات التسمم الغذائي . لقد تباينت أعداد الأحياء المجهرية المعزولة من عينات الجبن تبعا للظروف المناخية التي أظهرت تأثيراً كبيراً على أعداد الأحياء المجهرية في عينات الجبن إذ ازدادت أعداد الأحياء المجهرية خلال أشهر الصيف بالمقارنة مع أعدادها خلال أشهر الشتاء. وتضمنت الأحياء المجهرية المعزولة من الجبن عدة مجاميع هي : بكتيريا القولون ، بكتيريا القولون البرازية ، المكورات المسبحية والمسبحيات البرازية ، العنقوديات الذهبية ، البكتريا المحبة للبرودة ، البكتيريا المحبة للحرارة ، البكتيريا المحللة للبروتين ، البكتيريا المحللة للدهون ، البكتيريا المكونة للأبواغ ،السالمونيلا ، الاعفان والخمائر. كما درست تأثيرات مستخلصات بعض النباتات الطبية ضد نمو مجموعة من الأحياء المجهرية المعزولة من الجبن هي :-

Staphylococcus aureus ; Escherichia coli ; Streptococcus faecalis ; Bacillus sp. *; Proteus vulgaris ; Pseudomonas flourescens ; Klebsieella pneumonia ; Salmonella* spp. *; Aspergillus niger ; Penicillium* sp.

لقد استخدم كل من مستخلص الكحول الاثيلي والمستخلص المائي لستة من النباتات الطبية هي : الحلبة *Trigonella foenum-graceum* L. ، الحبة الحلوه *Foeniculum vulgare* mill النعناع البستاني . *Mentha piperita* L ، اليانسون *Pimpinella anisum* L. ، الورد ألجوري *Rosa damascena* mill ، الياسمين الابيض *Jasminum grandiflorum* L. ودرست تأثيراتها المثبطة لنمو الأحياء المجهرية. أظهرت جميع المستخلصات تأثيرات مثبطة لنمو خمسة أنواع من مجموعة الأحياء المجهرية المعزولة مع وجود اختلاف في شد ة التثبيط باختلاف نوع المستخلص إذ كان تأثير المستخلص الكحولي أعلى من المستخلص المائي . وتدرج تأثير المستخلص الواحد بتدرج تراكيزه المستخدمة فقد انخفضت شدة التأثير بانخفاض تركيز المستخلص المستخدم . كما تباينت شدة تأثير المستخلص الواحد باختلاف نوع الكائن ألمجهري.

الكلمات المفتاحية : مستخلصات نباتية ، نباتات طبية ، أحياء مجهرية ، الجبن المحلي الطري.

المقدمة:

يعد الجبن من أكثر منتجات الألبان انتشارا واستهلاكا في العراق إلا انه من الأغذية الأكثر ملائمة لنشاط وتكاثر العديد من الجراثيم الممرضة (سواء البكتيريا أو الخمائر والاعفان) مما يجعله وسيلة لنقل الكثير من الأمراض ومسبب رئيسي لكثير من حالات التسمم الغذائي (2 , 1). أن نوعية الجبن المنتج محلياً

وقيمته الغذائية ومدى صلاحيته للاستهلاك البشري لا تزال اقل بكثير من الحدود المطلوبة لحماية الصحة العامة مما يسترعي انتباه المستهلكين و اهتمام المسئولين عن الصحة العامة على حد سواء. ونظرا لكثرة الأخطار والآثار الجانبية المترتبة على كثرة استخدام الأدوية والمواد الحافظة فقد أخذت المؤتمرات الطبية والصيدلانية تنادي بضرورة الحد من تداول هذه المواد والعوادة إلى المواد الطبيعية لتصبح مصدراً لصناعة العقاقير وخاصة بعد أن ثبت استخدام العديد من النباتات الطبية وبنجاح كعلاج لمعظم الأمراض المستعصية لتصبح مصدرا لصناعة العقاقير (3) ، ومن جانب آخر تم التعرف على الكثير من النباتات التي تتميز بقدرتها لحفظ الأغذية أو لتحسين مذاقها ونكهتها. أن الدراسات الحديثة قد أوضحت أن هناك نباتات لها القابلية على قتل وتثبيط نمو الكثير من الأحياء المجهرية الممرضة التي تصيب الإنسان (4) ، وتتلف الغذاء علما أن استخدامها يمكن أن يكون بشكل آمن وبدون حدوث آثار جانبية ضارة (5). وعلى الرغم من كثرة النباتات الطبية ، البرية منها والمزروعة ، في بلدنا فان تنميتها ودراستها والإفادة منها لم تصل إلى مستوى الطموح (6) ، كما أن الدراسات والبحوث العلمية قد اقتصرت على أعداد قليلة من هذه الثروة العظيمة (7). و تزايد مؤخراً الاهتمام باستعمال النباتات كمواد حافظة طبيعية للأغذية من خلال البحوث الخاصة بهذا الجانب (8) وبدافع ما تسببه المواد الكيميائية الحافظة من أعراض جانبية على المستهلكين إذ آن بعضها يتأكسد بالتعرض للهواء مسببا طعماً غير مستساغ، والبعض الآخر سبب حالات مرضية كتضخيم الكبد وزيادة فعالية أنزيماته. واستنادا إلى كل ما تقدم ، فأن الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على المحتوى العددي للأحياء المجهرية في الجبن الطري المصنع محلياً في مدينة الديوانية وعزلها وتشخيصها ، إضافة إلى دراسة تأثير مستخلصات بعض النباتات الطبية المثبط لنمو الأحياء المجهرية المعزولة من الجبن.

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات :

جمعت عينات الجبن الطري المحلي من الباعة المحليين في أسواق مدينة الديوانية وبواقع 20 عينة شهرياً فبلغ إجمالي عدد العينات 160 عينه. امتدت الدراسة للفترة الواقعة بين شهر تشرين الثاني 2011 ولغاية شهر حزيران 2012 نقلت العينات إلى المختبر بواسطة صندوق فليني مبرد واستغرقت عملية جمع ونقل العينات إلى المختبر 2 - 3 ساعات ، أجريت الفحوصات في اليوم ذاته.

تم إعداد العينات لإجراء الفحوصات المختبرية عليها وفق ما ورد في APHA (9)، وذلك بتحويل عينة الجبن إلى مستحلب. تم اخذ 10 غم وأضيف إليها 90 مل محلول دارئ سترات الصوديوم المعقم ومزج جيدا باستخدام الخلاط الكهربائي لمدة 5 دقائق وبسرعة عالية ثم أكمل الحجم إلى 100مل ، ترك الخليط لمدة 15 دقيقة لكي تستعيد الأحياء المجهرية حيويتها مع الاستمرار بالتحريك البطيء لضمان عمليه التجانس، اعتبر هذا الخليط كمحلول أساسي (Stock solution) لتحضير التخافيف المطلوبة لإجراء الفحوصات المختبرية .

استخدام الأوساط الزرعية الانتخابية:

لكل مجموعة من الإحياء ألمجهريه (البكتريا أو الخمائر والأعفان) وسط زرعي انتخابي خاص بها يظهرها بصفات شكلية تميزها عن غيرها وفي نفس الوقت يثبط نمو المجاميع الأخرى ، واستخدمت هذه الأوساط وفق ما ورد في (10) .

حساب أعداد الأحياء ألمجهريه :

استخدمت طريقة صب الأطباق Pour plate لعد المستعمرات إذ تم نقل 1 مل من تخفيف العينة المستخدم كلقاح إلى طبق بتري معقم ثم صب عليه الوسط الخاص بنوع الأحياء المجهرية شرط أن تكون حرارته بين 45 – 50 مْ ، حرك الطبق حركة رحوية لضمان التجانس وترك ليتصلب ثم حضنت الأطباق عند درجة الحرارة المناسبة والمدة المطلوبة الخاصة بالكائن ألمجهري وبمعدل ثلاث مكررات لكل تخفيف ، حسبت أعداد المستعمرات النامية باستخدام جهاز عداد المستعمرات واستخراج العدد الكلي للإحياء المجهرية الملوثة للعينات. لحساب أعداد العنقوديات الذهبية ، ولدراسة احتمال تواجد السالمونيلا استخدمت طريقة النشر spreading ، فبعد تصلب الوسط في الأطباق نشر على سطحه 0.1 مل من التخفيف المستخدم بوساطة ناقل زجاجي معقم ، وبعد انتهاء فترة الحضن حسبت أعداد المستعمرات النامية على سطح الوسط باستخدام جهاز عداد المستعمرات. واختيرت الأطباق التي تراوح عدد مستعمراتها بين 30-300 مستعمرة لحساب أعداد خلايا الأحياء المجهرية في الغرام الواحد من الجبن .

الفحص المجهري المباشر:

حضرت مسحات من مستعمرات الإحياء المجهرية ثم ثبتت وصبغت وفحصت تحت المجهر لتحديد صفات الخلايا (الشكل ، الحجم ، الإبعاد ، نوع ترتيب الخلايا وتجمعاتها ، وجود الاسواط ، الاستجابة لصبغة غرام ، وجود الابواغ ، شكل الخيوط الفطرية ، شكل الكونيدات وخلايا الخميرة).

درست الصفات المظهرية المختلفة بالاعتماد على عدد من المراجع المتخصصة في الأحياء المجهرية (10 , 11) .

جمع العينات النباتية:

جمعت بذور الحلبة *Trigonella foenum-graceum* L. ، الحبة الحلوة *Foeniculum vulgare* mill وثمار اليانسون *Pimpinella anisum* L. من محلات بيع الإعشاب الطبية في مدينة الديوانية بينما جمعت أوراق النعناع البستاني *Mentha piperita* L وإزهار الورد الجوري *Rosa damascena* mill وإزهار الياسمين الأبيض *Jasminum grandiflorum* L. من الحدائق المنزلية والمشاتل في المدينة.

تحضير المستخلصات النباتية:

1- تحضير المستخلص المائي:

اعتمدت طريقة (7) لتحضير المستخلصات المائية ، تم تجفيف الجزء النباتي المدروس وطحنه ، ثم أخذ 10 غم من المسحوق الجاف ومزج جيداً مع 20 مل ماء مقطر معقم في دورق زجاجي حجم 100 مل بواسطة المازج المغناطيسي. ترك المحلول الناتج لمدة 30 دقيقة ليستقر ثم رشح باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي للتخلص من العوالق الكبيرة . طرد مركزيا بسرعة 3000 دورة / الدقيقة ولمدة 10 دقائق ، رشح المستخلص باستخدام قمع بخنر وورق ترشيح للحصول على مستخلص رائق ، ثم جفف المستخلص بوساطة جهاز المبخر الدوار عند درجة حرارة 40 مْ لحين الاستعمال.

2- تحضير مستخلص الكحول الاثيلي 95 % :

حضر المستخلص حسب طريقة (12) ، وضع 5 غم من مسحوق الجزء النباتي الجاف في الوعاء الورقي الأنبوبي (Thumble) الموضوع في جهاز الاستخلاص المستمر الحاوي على 100 مل كحول أثيلي 95 % وتمت عملية الاستخلاص بحرارة لا تتجاوز 40 مْ لمدة 24 ساعة . رشح المستخلص الناتج بوساطة قمع بخنر وورق الترشيح العادي ثم جفف المستخلص النباتي بوساطة جهاز المبخر الدوار بحرارة لا تتجاوز 40 مْ للحصول على المستخلص الجاف والذي حفظ عند درجة حرارة منخفضة (- 20 مْ) لحين الاستعمال .

تعقيم المستخلصات النباتية وتحضير التخافيف :

اعتمدت طريقة (12) في تحضير المحلول الأساسي Stock solution وتعقيمه. تم أخذ 1 غم من مسحوق المستخلص النباتي الجاف وأذيب في 5 مل ماء مقطر معقم فأصبح محلول خزين بتركيز 200 ملغم / مل. عقـــم المحلول بالترشيح باستخدام المرشحة الغشائية (0.4 ميكرون) للتخلص من الملوثات الجرثومية الموجودة فيه والحصول على محلول خزين معقم . استخدم هذا المحلول كمصدر للتخافيف (50 ، 100 ، 150 ، 200) ملغم / مل.

تحضير العالق البكتيري :

حضر وعقم وسط المرق المغذي في أنابيب اختبار بمقدار 5 مل لكل أنبوبة ثم لقح بـ 3 مستعمرة بكتيرية من العزلة المحفوظة . حضنت الأنابيب الملقحة لمدة 18 ساعة عند درجة حرارة 37 مْ . خفف العالق البكتيري بوساطة محلول الملح الفسلجي وبالمقارنة مع عكرة أنبوبة ماكفرلاند التي تحوي محلول ثابت العكرة القياسي للحصول على عدد تقريبي لخلايا البكتريا من العالق المخفف 1.5×10^{8} خلية / مل . حفظ العالق عند درجة حرارة 4 مْ لحين الاستعمال .

تحضير اللقاح الفطري :

حضر اللقاح الفطري وذلك بقشط جزء من المستعمرة الفطرية النامية على الوسط ألزرعي PDA بوساطة ابره معقمة. ولقح بها محلول الملح الفسلجي (25%) الموزع في أنابيب اختبار بحجم 5 مل في كل أنبوبة. رج الخليط جيدا وحضر منه محلول قياسي يحوي على 10 بوغ / مل من الفطر المطلوب. إذ تم حساب عدد الابواغ باستخدام شريحة حساب كريات الدم الحمراء. حفظ اللقاح الفطري عند درجة حرارة 4 مْ لحين الاستعمال.

تأثير المستخلصات النباتية على نمو الإحياء المجهرية :

أتبعت طريقة الانتشار من الأقراص المشبعة بالمستخلصات النباتية وفق ما ذكره (12).

تحضير الأقراص المشبعة بالمستخلصات :

حضر عدد من الأقراص بقطر 6.5 ملم باستخدام ورق ترشيح من نوع Whatman No.3 وبعد أن تم تأشير الأقراص برموز تشير إلى نوع المستخلص النباتي الذي ستشبع به ثم قسمت إلى مجاميع من 10 أقراص لكل مجموعة ، وضعت كل مجموعة في قنينة زجاجية محكمة الغلق (Vial) وعقمت بالموصدة بشرط المحافظة على الأقراص بصورة جافة . بعدها أضيف 0.1 مل من التركيز الأول إلى احد القناني الحاوية على 10 أقراص معقمة تركت لمدة 15 دقيقة لإتمام تشرب الأقراص بالمستخلص . كررت نفس العملية مع بقية تراكيز المستخلصات النباتية.

قياس تأثير المستخلصات النباتية على نمو الأحياء المجهرية :

1. البكتيريا :

تم نقل (0.1) مل من العالق البكتيري لأحد العزلات إلى وسط أكار مولر هنتون ونشر على سطح الطبق باستخدام مسحة قطنية معقمة وبمعدل ثلاث مكررات لكل عزلة . تركت الإطباق الملقحة بوضع مستوي لمدة 30 دقيقة لضمان التشرب الكامل للعالق البكتيري في الوسط. نقلت أربعة أقراص كل قرص مشبع بأحد التراكيز الأربعة لكل واحد من المستخلصات النباتية وثبتت الأقراص الأربعة بوساطة ملقط معقم على سطح الوسط الملقح. أصبح كل طبق ملقحاً بأحد العزلات البكتيرية ومثبتاً علية أربعة أقراص مشبعة بالتراكيز الأربعة لأحد المستخلصات . وهكذا مع بقية المستخلصات النباتية وفي نفس الوقت ثبتت أقراص السيطرة غير المعاملة بالمستخلصات على طبق ملقح بنفس العزلة البكتيرية المدروسة . حضنت

الإطباق عند درجة حرارة 37 مْ لمدة 18 ساعة بعدها تم قياس قطر منطقة التثبيط بالملم بوساطة المسطرة،

2 .الاعفان :

تم نقل 0.1 مل من اللقاح الفطري إلى وسط أكار السابرويد دكستروز ونشر على سطح الطبق بوساطة مسحة قطنية معقمة وبمعدل ثلاث مكررات لكل عزلة. تركت الإطباق بوضع مستوي لمدة ساعة واحدة لإتمام التشرب. نقلت أربعة أقراص مشبعة بأربعة تراكيز لأحد المستخلصات النباتية وثبتت بوساطة ملقط معقم على سطح الوسط الملقح . فأصبح كل طبق ملقحاً بأحد العزلات ومثبتاً علية 4 أقراص مشبعة بالتراكيز الأربعة لأحد المستخلصات وهكذا مع بقية المستخلصات على سطح طبق ملقح بنفس العزلة أعلاه كررت العملية مع بقية عزلات الفطريات المدروسة وحضنت الإطباق عند درجة حرارة 25 مْ مدة 3 أيام بعدها تم قياس قطر منطقة التثبيط بالملم بوساطة المسطرة.

النتائج والمناقشة

يتضح من جدول 1 أن الأعداد الكلية للبكتيريا الهوائية في عينات الجبن الطري المحلي بلغت حدها الأدنى 3.9×10^8 خلية / غم لشهر كانون الثاني وارتفعت لتصل 7.2×10^8 خلية / غم لشهر حزيران وبمعدل 5.3×10^8 خلية / غم. وتعتبر هذه النتائج مرتفعة مقارنة بنتائج نجم وجماعته (13) ، إذ بلغ معدل أعدادها 3.9×10^6 خلية / غم في عينات الجبن المنتج من قبل الأهالي في حين بدت منخفضة قياساً بما توصل إليه كريم (14) إذ كان معدل إعداد البكتيريا 15.5×10^9 خلية / غم في عينات جبن الأرياف المحلي ، أما الأعداد الكلية لبكتيريا القولون فبلغت حدها الأدنى 3.1×10^6 خلية / غم لشهر كانون الثاني وارتفعت لتصل إلى 5.9×10^6 خلية / غم لشهر حزيران وبمعدل 4.4×10^6 خلية / غم ، بينما بلغت أعداد بكتيريا القولون البرازية حدها الأدنى 1.2×10^5 خلية / غم لشهر كانون الثاني وارتفعت لتصل $4.0 \times$ خلية / غم 10^5 لشهر حزيران وبمعدل 2.3×10^5 خلية / غم ، وهذه الأعداد اقل مما توصل إليه الشريفي وجماعته (15) إذ بلغ معدل أعداد بكتيريا القولون في عينات الجبن الطري 6.2×10^6 خلية / غم ، في حين تعتبر مرتفعة مقارنة مع نتائج كريم (14) إذ بلغ معدل أعدادها 26.5×10^4 خلية / غم ، كما تعتبر أعداد البكتيريا البرازية مرتفعه قياساً بما وجده نجم وجماعته (13) إذ كان معدل أعدادها 32.5×10^2 خلية / غم . أن مجرد وجود بكتيريا القولون البرازية في الجبن يعد مؤشراً للتلوث البرازي المباشر أو غير المباشر ، كما أن هذا الارتفاع في أعداد بكتيريا القولون والقولون البرازية في عينات الجبن الطري المحلي يعود إلى عدم كفاءة المعاملة الحرارية للحليب الخام الحاوي على أعداد كبيرة من البكتيريا فضلاً عن عدم مراعاة القواعد الصحية إثناء عملية التصنيع.

ويتبين من الجدول نفسه أن أعداد المكورات المسبحية في عينات الجبن الطري المحلي قد بلغت حدها الأدنى 4.0×10^6 خلية / غم ، لشهر كانون الثاني وارتفعت لتصل 7.2×10^6 خلية / غم لشهر حزيران وبمعدل 5.08×10^6 خلية / غم ، بينما بلغت أعداد المسبحيات البرازية حدها الأدنى 1.0×10^5 خلية / غم لشهر كانون الثاني وارتفعت لتصل 4.0×10^5 خلية / غم لشهر حزيران وبمعدل 2.3×10^5 خلية / غم. أما بالنسبة لأعداد العنقوديات الذهبية في عينات الجبن الطري المحلي فتراوحت ما بين 9.0×10^6 - 12.7×10^6 خلية / غم . أن وجودها بهذه المعدلات المرتفعة يعد أمراً خطيراً لما لها من صلة بحالات التسمم الغذائي (16) ، وأن تواجدها في الفم والأنف وقد يسهل عملية التلوث من خلال العطس أو السعال خلال مراحل التصنيع. ويتضح من نتائج عزل البكتيريا المحبة للبرودة من عينات الجبن الطري المحلي أن أعدادها تراوحت ما بين 11.9×10^6 - 15.2×10^6 خلية / غم ، وهذه الأعداد مقاربة للنتائج التي حصل عليها الجبوري (17).

أن وجود هذه البكتريا في الحليب بمعدل 1.0 × 10^2 خلية / غم يكفي لإعطاء جبن ذي نوعية رديئة بالرغم من استخدام البسترة لأنها بهذا العدد قادرة على إنتاج الأنزيمات المحللة للدهون والبروتينات والتي تعتبر مقاومة البسترة. أما أعداد البكتيريا المحبة للحرارة في عينات الجبن الطري المحلي فتراوحت ما بين 14.7× 10^6 - 17.4× 10^6 خلية / غم.

ويلاحظ أن أعداد البكتيريا المحللة للبروتين والبكتيريا المحللة للدهون في عينات الجبن الطري المحلي تراوحت ما بين 2.1× 10^6 - 5. 0 × 10^6 و 1.8×10^5 – 3.9×10^5 خلية / غم على التوالي ، وتعد هذه النتائج لكلا النوعين مرتفعه بالمقارنة مع نتائج كريم (15) إذ تراوحت أعدادها في عينات جبن الأرياف الطري ما بين 2.8×10^5 و 4.7×10^3 خلية / غم على التوالي.

وبخصوص أعداد البكتيريا المكونة للابواغ في عينات الجبن الطري المحلي فتراوحت أعدادها ما بين 3.0×10^5 و 5.0×10^5 خلية / غم . أما أعداد الخمائر والاعفان فتراوحت أعدادها ما بين 3.9×10^4 و 6.6×10^4 خلية / غم.

أن وجود هذه الأنواع المختلفة من الأحياء المجهرية في عينات الجبن الطري المصنع محلياً وبهذه الأعداد المرتفعة يعد أمراً خطيراً لما لها صلة بحالات التسمم الغذائي. في حين يفسر ارتفاع أعدادها على أساس استخدام الحليب الخام الحاوي على أعداد كبيرة من الأحياء المجهرية في تصنيعه وبدون تعريضه لمعاملة حرارية كافية لقتلها وذلك إما لجهل منتجي الاجبان بأهميتها الصحية أو لاعتقادهم أنها تؤثر سلبيا على عملية التجبن فضلا عن استخدام طرق التصنيع البدائية وتحت ظروف غير صحية وغير مسيطر عليها وقد يلجا بعض منتجي الحليب إلى إضافة المضادات الحياتية إليه بهدف تجنب تلفه السريع مما يسيء إلى جودته (14).

ويبين جدول 2 نتائج الفحوصات الكيموحيوية لعينات الجبن وأعداد عزلات مجاميع الأحياء المجهرية والنسب المئوية لتواجدها ، وحققت مجموعة البكتيريا المكونة للابواغ أعلى نسبة 18.61 % والتي شملت البكتريا التي تعود للجنس .*Bacillus* spp ، تلتها المجاميع الأخرى إذ أعطت مجموعة الخمائر النسبة المئوية الأقل 2.0 % وشملت الخميرة *Candida albicans* . ويعزى ارتفاع أعدا البكتيريا المكونة للابواغ في عينات الجبن الطري المحلي إلى استخدام حليب خام يحتوي على أعداد كبيرة من خلايا هذه البكتيريا أو أبواغها المعروفة بمقاومتها لحرارة البسترة أو إثناء مراحل التصنيع.

جدول 3 يظهر نتائج تأثير الظروف المناخية على أنواع الأحياء المجهرية وأعدادها في عينات الجبن ومعدلاتها خلال الأشهر الباردة والحارة ، وبينت أن معدلات جميع الأحياء المجهرية قد ارتفعت في أشهر الصيف وانخفضت في أشهر الشتاء ، مما يؤكد أن للظروف المناخية تأثيراً على أعدادها ، ويمكن تفسير وجود هذه الفروقات على أساس أن للظروف المناخية وتباين درجات حرارة الجو تأثيرا كبيرا على المحتوى البكتيري للجبن إذ تكون حرارة الجو خلال أشهر الصيف أكثر ملائمة لتكاثر البكتيريا السريع لاسيما أذا أصبحت درجة حرارة الجو قريبة من الحرارة المثلى لها. وهذه النتيجة لا تتفق مع نتائج كريم (14) التي لم تظهر فروقات خلال مواسم السنة بين أعداد الأحياء المجهرية في عينات جبن الأرياف الطري.

أظهرت نتائج اختبارات تأثير المستخلصات النباتية أن جميع المستخلصات بنوعيها الكحولي والمائي تمتلك قابلية تثبيط جيدة لنمو الأحياء المجهرية (جدول 4) ، وتباينت المستخلصات النباتية بنوعيها الكحولي والمائي للنبات الواحد في درجة تأثيرها تبعاً لنوع المذيب المستخدم في تحضير المستخلص (كحول اثيلي أو ماء) ، إذ بينت النتائج أن تأثير المستخلص الكحولي اكبر من تأثير المستخلص المائي هذا التباين يعود إلى نوع المستخلص وطريقة الاستخلاص وقطبية المذيب المستخدم . فبعض المجاميع الفعالة تذوب في الكحول ولا تذوب في الماء ،كما أوضحت النتائج وجود اختلاف في درجة تأثير نفس المستخلص النباتي باختلاف نوع الكائن ألمجهري المدروس ، وهذا يتفق مع ما ذكره الذهب (17) حول وجود تباين في تأثير نفس المستخلص النباتي على مجاميع مختلفة من البكتيريا ناتج عن وجود اختلافات بين هذه البكتيريا من حيث

التكوين الخلوي والعوامل الوراثية وطبيعة الهدف الذي يؤثر فيه المستخلص.كما توصل النعمان (18) إلى أن تأثير التثبيطي للمستخلصات النباتية ناتج عن تأثير بعض المكونات الفعالة للنبات على الأحماض النووية للكائن المجهري المدروس والبروتينات الكلية والبروتينات المرتبطة بالجدار والبروتينات الداخلة في تركيب غشاء الخلية.

ويتضح من النتائج أن المستخلص الكحولي لبذور الحلبة اظهر تثبيطاً واضحاً لنمو بكتيريا *P. vulgaris* يليها *S. aureus* ثم *Bacillus* sp. وثبط بدرجة اقل نمو بكتيريا *P. fluorescens* ، *Salmanella* spp. في حين كان تأثيره ضعيفاً ضد البكتيريا *K. pneumoniae* و *E. coil* ، كما أظهر المستخلص المائي لبذور الحلبة تأثيراً مثبطاً لنمو بكتيريا *P. vulgaris* . ويعتقد أن الفعالية التثبيطية لنمو الأحياء المجهرية التي تملكها بذور الحلبة ناتجة عن وجود مركب Trigonellin وحامض Nicotinicv acid ومركب Coumarine ومعظمها مركبات قلوية (19). وأظهر كل من المستخلص الكحولي والمستخلص المائي لبذور الحبة الحلوة تأثيراً مثبطاً واضحاً لنمو *K. pneumoniae* يليها *P. vulgaris* ثم *P. flourescens* وبدرجة اقل ضد بكتيريا *Bacillus* sp. وبكتيريا *E. coli* ثم الفطر *Penicillium* sp. ، في حين كان تأثيرها ضعيفاً ضد البكتيريا *S. faecalis* و *S. aureus* . أما المستخلص الكحولي لأوراق النعناع البستاني اظهر تأثيرا مثبطا واضحا لنمو بكتيريا *S. aureus* يليها *Bacillus* sp. و *K. pneumoniae* و *P. flouescens* وثبط بدرجة اقل نمو الفطر *Penicillium* و *Salmonella* spp. ثم بكتيريا *S. facecalis* ، في حين كان اضعف تأثيرا له ضد بكتيريا *E. coli*. وأظهر المستخلص المائي لأوراق النعناع البستاني تأثيراً مثبطاً لنمو بكتيريا *S. aureus* يليها *Bacillus* sp. ، في حين كان تأثيره ضعيفا ضد بكتيريا *S. faecalis* . وقد عزا المدرس (20) التأثير المثبط لنمو البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة غرام من قبل مستخلص أوراق النعناع لأنها تحتوي على الزيوت الطيارة الحاوية على مادة Menthol الفعالة ضد الأحياء المجهرية. وفيما يخص مستخلصات الورد ألجوري فان المستخلص الكحولي اظهر تأثيرا مثبطاً واضحا لنمو بكتيريا *S. aureus* ، بكتيريا *K. pneumoniae* ثم بكتيريا *S. faecalis* و الفطر *Penicillium* sp. و ثبط بدرجة اقل نمو بكتيريا *Salmonell* spp. وبكتيريا *P. vulgaris* ثم *Bacillus* sp.، في حين كان تأثيره أضعف ضد بكتيريا *E. coli* ، وأظهر المستخلص المائي أيضا تأثيراً مثبطاً لغالبية الأحياء المجهرية المدروسة. ووجد الشحات (21) أن أزهار الورد الجوري تحتوي على مادة Phlorizin المضادة للأحياء المجهرية ومثبطة لنمو البكتيريا.

ويتضح من الجدول نفسه أن المستخلص الكحولي والمائي لأزهار الياسمين الأبيض ثبط وبشكل واضح نمو بكتيريا *K. pneumoniae* ; *S.aureus* يليها الفطر *Penicillium* sp. ثم بكتيريا *Salmonella* spp. ، وبدرجة اقل ثبطاً نمو بكتيريا *P. vulgaris* وكان تأثيرها المثبط اضعف ضد نمو بكتيريا *S. faecalis* و *Bacillus* sp. ،علماً بأن مستخلص أزهار الياسمين اظهر فعالية تثبيطية عالية لنمو احد أنواع الفطريات الممرضة للنبات كما أكد أن احتواء الأزهار على القلويدات المتمثلة بمادة Jasminine ومركبات Indol إضافة إلى احتواءها على مادتي Jasmonic acid و Jasmonic methl ester جعلها قادرة على تثبيط نمو الأحياء المجهرية وبخاصة الفطريات.

الاستنتاجات:

دلت نتائج البحث على وجود عدة مجاميع من البكتيريا إضافة إلى الخمائر والأعفان في عينات الجبن الطري المصنع محلياً في مدينة الديوانية مع ارتفاع أعداد الأحياء المجهرية ، كما أشارت النتائج إلى تنوع هذه الأحياء التي تضمنت الممرضة للإنسان والتي تسبب التسمم الغذائي ، فضلاً عن التي تسبب تلف الأغذية. كما أظهرت

بعض المستخلصات النباتية تأثيراً مثبطاً جيدا لنمو الأحياء المجهرية المعزولة من عينات الجبن الطري المحلي ، إذ كانت المستخلصات الكحولية أكثر تأثيراً من المائية ، وهذا يشجع على استخدام المستخلصات النباتية في عمليات تصنيع الجبن المحلي للحد من التلوث بالأحياء المجهرية الممرضة.

المصادر:

1. Badawi Skh, Al-Badrany HS, Hasan GhM. Using of essential oils extracted from some spices to extend the shelf life of soft white cheese. Mesopotamia J. Agri. 2009;37:125-130.
2. Al-Salman HK. Antibacterial and antifungal activity of volatile oils of some medicinal plants. Iraqi J Desert Studies. 2008;1:91-103.
3. Shareef ,A.Y., Al-Chalabi, K. A. (2001). Effect of some medicinal plant extracts on the growth of some gram +ve and gram –ve bacteria. Rafidain J. Sci. 12:37-46.
4. Umamaheswari, M. , . Asokkumar, K., Rathidevi, R., Sivashanmugam, A.T., and Ravi, T.K. (2007). Antiulcer and *in vitro* antioxidant activities of *Jasminum grandiflorum* L. J. Ethnopharmacology. 110 (3): 464 – 470.
5. Mashhadian NV, Rakhshandeh H. Antibacterial and antifungal effects of *Nigella sativa* extracts against *S. aureus*, *P. aeroginosa* and *C. albicans*. Pak J Med Sci 2005; 21: 47-52.
6. Abdul-Rahman , G.Y. (1995) . Effect of some medicinal plants and chemicals on the growth of pathogenic bacteria . J . Vet. Sci. 8: 2 - 9.
7. Hernandes , Z. M., Lopez ,R .A., Darias, R. M. and Arias, A. (1994). Antimicrobial activity of visnea Mocarera leaf extraots. J. Ethnopharacology . 41: 102 – 109 .
8. Alsawaf, S. D. and Alnaemi, H. S. (2010). Effect of *Nigella sativa* (seed and oil) on the bacteriological quality of soft white cheese. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 25, No. 1, 21-27.
9. APHA (1992). American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examinations of foods. 2nd ed. APHA, Washington, DC, USA.
10. Koneman, E.W., Allen S.D., Janda, W.M., Shreckenberger, P.C, Winn W.C. (1997). Color atlas and text book of diagnostic microbiology. 5th ed. J. B. Lippincott-Raben Publisher, Philadelphia.
11. Forbes, B.A. , Saham , D.F. and Weissfted, A.S.(1998). Diagnostic microbiology. 10th ed . Bailey and Scots, Mosby Comp. Louis, Baltimore, Philadelphia, Toronto.
12. Saxena, G., Farmer, S., Hancoe , R. and Towers, G.(1995). Antimicrobial component from *Alnus rubra*. Int. J. Pharamacongnosy. 42: 33-36.
13. نجم ، هادي ، علي ، ساجدة عيسى وجاسم ، أمل حميد (1995) . تأثير بادئ الجبن والجبن المختلط على بعض أنواع الجراثيم المرضية في الجبن الطري . مجلة الطبيب البيطري . المجلد (4,5) ، العدد 1.
14. كريم ، بهاء خضير (2001). عزل وتشخيص بعض أنواع البكتيريا المسئولة عن نكهة جبن الأرياف العراقي واستخدامها كبادئات . رسالة ماجستير – كلية الزراعة – جامعة بغداد.

15. ألشريفي ، حسن رحيم ، ألغزي ، كاظميه منصور والسراجي علي فليح (1995) . الكشف عن وجود بعض البكتريا المعوية والبوغية وأهميتها في الجبن الأبيض الطري المحلي . مجلة البصرة للعلوم الزراعية. المجلد 1، العدد 8.

16. الشمري ، حنان عبدالله علي (2000). الكشف عن السموم المعوية للبكتريا المرضية *S. aureus* في الأجبان الطرية باستخدام بعض الطرق المناعية. رسالة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد.

17. الذهب ، أزهار عمران لطيف (1998) . الفعالية التضادية لمستخلصات نباتية عراقية في بعض البكتريا الممرضة . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة بابل.

18. النعمان ، أديبة يونس شريف (1998) . التأثير الجزئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وأيض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة غرام . أطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل .

19. سرحان، عبد الرضا طه (1997). تأثير مستخلصات البذور على أثنين من الفطريات الممرضة للنبات. مجلة القادسية . المجلد (3) ، العدد (3).

20. لمدرس ، مصعب فيصل عمر (1999) . فصل وتشخيص المستخلصات العضوية لأوراق نبات النعناع البري ودراسة خواصها البايوكيميائية.رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية .

21. الشحات ، نصر أبو زيد (1988). النباتات العطرية ومنتجاتها الزراعية والدوائية. الدار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة ، جمهورية مصر العربية.

جدول (1). الأحياء المجهرية المعزولة من عينات الجبن الطري المحلي المأخوذة من الباعة المحليين في أسواق مدينة الديوانية.

الأحياء المجهرية المعزولة	خلية / غم	أشهر البحث								المدى	المعدل
		ت٢	ك١	ك٢	شباط	آذار	نيسان	أيار	حزيران		
العدد الكلي للبكتيريا	Total Count Of Bacteria x 10^8	٥,٠	٤,١	٣,٩	٤,٣	٥,٦	٦,٠	٦,٦	٧,٢	٧,٢-٣,٩	٥,٣
بكتيريا القولون	Coliform Bacteria x 10^6	٤,٠	٣,٨	٣,١	٣,٦	٤,١	٥,٢	٥,٦	٥,٩	٥,٦-٣,١	٤,٤
بكتيريا القولون البرازية	Fecal Coliform Bacteria x 10^5	٢,٠	١,٨	١,٢	١,٦	١,٩	٢,٣	٣,٣	٤,٠	٤,٠-١,٢	٢,٣
المكورات المسبحية	Streptococci x 10^6	٤,٦	٤,١	٤,٠	٤,٣	٤,٩	٥,٠	٦,٥	٧,٢	٧,٢-٤,٠	٥,٠٨
المسبحيات البرازية	Fecal Streptococci x 10^6	١,٥	١,١	١,٠	١,٢	٢,٧	٣,١	٣,٨	٤,٠	٤,٠-١,٠	٢,٣
العنقوديات الذهبية	Staphylococcus aureus x 10^6	١١,٠	٩,٨	٩,٠	٩,٧	١٠,٦	١١,٥	١٢,١	١٢,٧	١٢,٧-٩,٠	١٠,٨
البكتيريا المحبة للبرد	Psychrotrophic Bacteria x 10^6	١٣,٠	١٢,٢	١١,٩	١٢,٦	١٣,٣	١٤,١	١٤,٩	١٥,٢	١١,٩- ١٥,٢	١٣,٤
البكتيريا المحبة للحرارة	Thermophilic Bacteria x 10^6	١٦,٠	١٥,٦	١٤,٧	١٥,١	١٥,٩	١٦,٤	١٦,٩	١٧,٤	١٤,٤- ١٧,٤	١٦
البكتيريا المحللة للبروتين	Proteolytic Bacteria x 10^6	٣,٠	٢,٨	٢,١	٢,٧	٣,٣	٣,٩	٤,٢	٥,٠	٥,٠-٢,١	٣,٣٨
البكتيريا المحللة للدهون	Lipolytic Bacteria x 10^7	٢,٢	٢,٠	١,٨	٢,٣	٢,٩	٣,١	٣,٧	٣,٩	٣,٩-١,٨	٢,٧
البكتيريا المكونة للأبواغ	Spore forming Bacteria x 10^6	٣,٦	٣,١	٣,٠	٣,٤	٤,٠	٤,٤	٤,٩	٥,٠	٥,٠-٣,٠	٣,٩
الأعفان والخمائر	Molds & yeasts x 10^4	٥,٢	٤,٨	٣,٩	٤,٣	٥,١	٥,٦	٦,١	٦,٦	٦,٦ -٣,٩	٥,٢
بكتيريا السالمونيلا	salmonella	+	-	-	-	+	+	+	+		

(+) فحص تواجد سالمونيلا موجب (-) فحص تواجد سالمونيلا سالب

جدول (2). النسب المئوية لعزلات مجاميع الأحياء المجهرية المعزولة من نماذج الجبن.

النسبة المئوية (%)	عدد العزلات	الأحياء المجهرية Micro organisms
18.61	148	البكتيريا المكونة للسبورات spore forming bacteria
14.47	115	بكتيريا القولون القولون البرازية coliform & fecal coliform
14.34	114	الاعفان molds
13.96	111	البكتيريا المحللة للبروتين proteolytic bacteria.
8.05	64	المكورات المسبحية والمسبحات البرازية streptococci & fecal streptococci
7.42	59	البكتيريا المحبة للحرارة thermophilic bacteria
6.67	53	البكتيريا المحبة للبرودة psychrotrophic bacteria
5.41	43	البكتيريا المحللة للدهون lipolytic bacteria.
4.53	36	العنقوديات الذهبية staphylococcus aureus
4.53	36	السالمونيلا salmonella
2.01	16	الخمائر yeasts
100.0	795	المجمـــــــــــــــــوع

جدول (3). الأحياء المجهرية المعزولة من عينات الجبن المحلي المأخوذة من الباعة المحليين في أسواق مدينة الديوانية وعلاقتها ببعض أشهر الصيف والشتاء.

معدلات الأعداد (خلية/غم) / الأحياء المجهرية	أشهر الشتاء	أشهر الصيف
العدد الكلي للبكتيريا	10^{8} x 4.33	10^{8} x 6.35
العدد الكلي لبكتيريا القولون	10^{6}x 3.63	10^{6}x 5.2
بكتيريا القولون البرازية	10^{5}x 1.65	10^{5}x 2.88
المكورات المسبحية	10^{6}x 4.25	10^{6}x 5.9
المسبحيات البرازية	10^{5}x 1.2	10^{5}x 3.4
العنقوديات الذهبية	10^{6}x 9.88	10^{6}x 11.73
البكتيريا المحبة للبرودة	10^{6}x 2.43	10^{6}x 14.38
البكتيريا المحبة للحرارة	10^{6}x 15.4	10^{6}x 16.7
البكتيريا المحللة للبروتين	10^{6}x 2.65	10^{6}x 4.1
البكتيريا المحللة للدهون	10^{7}x 2.08	10^{7}x 3.4
البكتيريا المكونة للأبواغ	10^{6}x 3.28	10^{6}x 4.58
الأعفان والخمائر	10^{4}x 4.6	10^{4}x 4.85
بكتيريا السالمونيلا (نسبة تلوث العينات %)	12.5	50.0

جدول (4). تأثير مستخلصات عدد من النباتية الطبية على نمو الأحياء المجهرية المعزولة من عينات الجبن الطري المحلي.

نوع النبات	نوع المستخلص	التركيز (ملغم / مل)	أنواع الأحياء المجهرية وأقطار مناطق التثبيط (ملم)								
			Staph. aureus	*K. pneumoniae*	*Pse. flourescens*	*p. vulgaris*	*Strepto. faecalis*	*Bacillus sp.*	*Salmonella spp.*	*E. coli*	*Asp. niger*	*Penicillium sp.*
الحلبة	الكحولي	50	13	7	12	16	…	8	11	7	…	…
		100	20	10	16	20	…	17	17	10	…	…
		150	22	11	18	28	…	22	19	13	…	…
		200	27	16	22	35	…	25	22	15	…	…
	المائي	50	…	…	7	15	…	7	…	…	…	…
		100	7	…	10	23	…	13	8	…	…	…
		150	10	7	14	27	…	18	12	…	…	…
		200	15	11	18	30	…	20	16	…	…	…
الحبة الحلوة	الكحولي	50	…	20	…	7	...	...	…	...	…	11
		100	…	25	13	10	...	9	…	9	…	15
		150	7	27	17	15	9	12	…	18	…	17
		200	10	35	30	30	17	25	…	24	…	22
	المائي	50	…	13	…	…	…	…	…	...	…	...
		100	…	20	12	12	…	…	…	8	…	7
		150	…	22	19	19	…	12	…	16	…	10
		200	…	31	22	24	…	21	…	20	…	18
النعناع البستاني	الكحولي	50	21	17	…	…	… 10 14 22	17	8	...	…	13
		100	26	22	19	…		22	15	8	…	18
		150	30	27	21	…		25	21	12	…	22
		200	35	30	27	…		30	25	17	…	25
	المائي	50	16	11	…	…	...	8	...	…	…	...
		100	21	18	9	…	...	16	9	…	…	7
		150	28	20	16	…	10	21	14	…	…	15
		200	30	25	21	…	19	26	20	…	…	21

نوع النبات	نوع المستخلص	التركيز (ملغم / مل)	أنواع الأحياء المجهرية وأقطار مناطق التثبيط (ملم)								
			Staph. aureus	*K. pneumoniae*	*Pse. flourescens*	*p. vulgaris*	*Strepto. faecalis*	*Bacillus sp.*	*Salmonella spp.*	*E. coli*	*Asp. niger*	*Penicillium sp.*
الينسون	الكحولي	50	20	18	20	10	...	16	25	10	...	18
		100	26	21	25	14	7	20	28	16	...	22
		150	30	25	27	17	10	25	30	18	...	27
		200	32	30	32	25	15	35	35	25	...	32
	المائي	50	12	7	10	7	...	10	16	8	...	10
		100	17	13	17	10	...	16	20	11	...	17
		150	20	18	22	13	...	20	23	16	...	22
		200	26	22	28	22	...	29	30	21	...	25
الورد ألجوري	الكحولي	50	24	25	...	10	12	18	15	...	...	17
		100	26	26	...	15	18	20	21	8	...	22
		150	29	28	...	20	21	22	25	12	...	25
		200	31	29	...	27	28	26	27	14	...	30
	المائي	50	17	8	...	9	...	10	9	...	...	11
		100	20	13	...	12	8	14	11	...	...	18
		150	24	17	...	18	13	17	16	...	...	20
		200	28	20	...	21	19	20	21	...	...	26
الياسمين الأبيض	الكحولي	50	25	27	...	17	...	...	19	...	...	17
		100	27	30	...	20	13	15	21	...	...	21
		150	32	32	...	22	19	19	25	...	...	25
		200	37	37	...	28	22	22	29	...	...	32
	المائي	50	24	23	...	9	...	...	14	...	...	17
		100	28	25	...	14	7	...	19	...	...	20
		150	30	30	...	19	14	11	21	...	...	25
		200	34	32	...	24	18	17	26	...	...	29

View publication stats