

دراسة الفعالية ضد بكتيرية لمستخلص الكركم المائي والكحولي حيال
عزلات بكتيرية ممرضة معزولة من الأغذية المقدمة في بعض مطاعم
مدينة بغداد

علياء رزوقي حسين

قسم علوم الحياة- كلية العلوم/ جامعة بغداد

الخلاصة

أجري هذا البحث لدراسة تأثير المستخلص المائي والكحولي لبهار او تابل الكركم ضد 5 عزلات بكتيرية معزولة من 50 عينة غذائية مأخوذة عشوائيا من بعض المطاعم المنتشرة في مجمع الجادرية ببغداد حيث تم عزل البكتريا التالية:
Staphyococcus aureus و *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* و *Shigella sp.* و *Salmonella typhi*
أظهرت النتائج قدرة المستخلص الايثانولي للكركم في التأثير على نمو بكتريا *S. aureus* و *B. Subtilis* و بدرجة اقل في نمو بكتريا *E. coli* و *Shigella sp* اما المستخلص المائي للكركم فقد كان ذو تأثير فعال في نمو كل من بكتريا *E. coli* و *Shigella sp* وبنسبة اقل من نمو بكتريا *S. typhi*.

الكلمات المفتاحية: الفعالية ضد بكتيرية، مستخلصات الكركم المائي والكحولي، بكتريا ممرضة، أغذية محلية.

**Study of antibacterial activity of turmeric extracts
(aqueous and ethanolic) against pathogenic bacterial
isolates from local foods that available in
Baghdad city restaurants**

**Alyaa R. Hussein
Biology department- college of Science
University of Baghdad**

Abstract

This research was conducted to study the effect of aqueous & ethanolic extracts of turmeric spice against five bacterial isolates which isolated randomly from 50 fifty different food samples from restaurants. Isolated bacteria were (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. typhi* and *Shigella* sp..) The results showed that the ethanolic turmeric extracts can effect on growth of *S. aureus* & *B. subtilis* more than on growth of *E. coli* & *Shigella* sp., while the equeous turmeric extract can effect on growth of *E. coli* & *Shigella* sp. more than on growth of *salmonella typhi*.

Key words: antibacterial activity, turmeric aqueous and alcoholic extracts, pathogenic bacteria, local food.

المقدمة

يستعمل الكركم *Curcuma longa* كبهار او تايل وكما مادة حافظة للاغذية ومادة ملونة في الهند والصين وجنوب شرق آسيا ويستخدم في الطب التقليدي كعلاج منزلي للعديد من الامراض بضمنها الاضطراب الصفراوي والسعال وداء البول السكري والاضطراب الكبدي والروماتيزم والجيوب الانفية (4) ويكون *Curcuma* (*diferuloylmethane*) المكون الاصفر الفعال حيويًا للكركم وله طيف واسع من الفعاليات كمضاد للالتهاب والاكسدة والسرطان والطفرة والتجلط والسكري والبكتريا والفطريات فضلا عن الفايروسات والابتنائيات (1؛ 4)، بسبب تطور مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية المستخدمة وزيادة استخدام الطب التقليدي او الشعبي أدى بالباحثين الى ايجاد طرق اخرى مثل استعمال المركبات النباتية للقضاء على البكتريا الممرضة مثل السالمونيلا *Salmonella sp.* والالتان تعدان من المسببات الرئيسية لامراض الانسان التي تنتقل من خلال الاغذية لذا كانت الحاجة ملحة لايجاد بدائل طبيعية في السيطرة على البكتريا الممرضة الخطرة التي تنتقل من خلال الاغذية المحلية لان العقاقير المصنعة كيميائياً تكون لها تأثيرات جانبية في حين ان البدائل الطبيعية مثل (التوابل والاعشاب) لا توجد فيها تلك المضار الجانبية كما ان العديد من انواع البكتريا المرضية امتلكت صفة المقاومة للعديد من المضادات الحيوية (10؛ 11) مثل امتلاك بكتريا المكورات العنقودية صفة المقاومة للبنسلينات، وفي السنوات الاخيرة ركزت مؤسسات سلامة الاغذية على الممرضات مثل السالمونيلا *Salmonella sp.* وكذلك الشكيلا *Shigella* بسبب ازدياد حالات التسمم بهذه الانواع من البكتريا الممرضة التي تنتقل عن طريق الغذاء مثل الشوكولاتة والمايونيز والفواكه الطازجة والخضراوات ومنتجات الالبان وكذلك منتجات اللحوم المتخمرة وشراب الفواكه والاييس كريم والبسكويت المحشو (8؛ 15؛ 16؛ 17)، لذا تولدت الحاجة الى البحث عن انواع جديدة من المواد الطبيعية المضادة للميكروبات للسيطرة على الممرضات المنقولة بالاغذية وكانت التوابل إحدى هذه المواد والتي تم استخدامها منذ قرون عديدة لحفظ الاغذية (5)، لذا فقد هدف هذا البحث الى دراسة الفعالية ضد بكتيرية لمستخلص الكركم (المائي والكحولي) حيال بعض انواع البكتريا الممرضة المعزولة من الاغذية المقدمة في بعض مطاعم مدينة بغداد وفي مجمع الجادرية تحديداً.

المواد وطرق العمل

العينات الغذائية:

جمعت 50 عينة غذائية مختلفة من داخل المطاعم المنتشرة في بغداد شملت سندويشات الهمبركر واللحم بعجين والبيتزا وكباب اللحم وكباب الدجاج وعرايس اللحم وشاورما الدجاج وعينات اخرى. تم وزن 10غم من العينة الغذائية ثم وضعت في جفنة خزفية معقمة واضيف لها 90 مللتر من ماء البيتون (0.1%) المعقم وتم تجنيسها باستخدام الخلاط الكهربائي في ظروف معقمة ثم عملت منها تخافيف عدة باستعمال ماء البيتون (0.1%) المعقم. وتم نقل مقدار 0.1 مللتر من التخفيف الملائم الى كل من الوسط الغذائي:

Nutrient agar و MacConkey agar و Salmonella Shigella agar و Mannitol salt agar فضلا عن الوسط Muller- Hinton agar المستعمل لدراسة تأثير المستخلصات في حين تم استعمال الوسط Nutrient broth لتنشيط العزلات. تم تحضير الاوساط الزرعية وفقا لتعليمات الشركة المجهزة وعدل الاس الهيدروجيني لها ثم عقرت بجهاز الموصدة عند درجة حرارة 121م وتحت ضغط مقداره 15 باوند/انج² لمدة 15 دقيقة.

المستخلصات النباتية للكرم:

المستخلص المائي الساخن:

حضر بوزن 50 غم من مسحوق الكرم الجاف واضيف اليه 500 مللتر من الماء المقطر المغلي مع التحريك المستمر وترك في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 35م لمدة 24 ساعة ثم رشح أولاً باستخدام طبقات عدة من الشاش الطبي ثم باستخدام ورق ترشيع من نوع Whatmam No.1 واخذ الراشح وبخر بجهاز المبخر الدوار وبدرجة حرارة لا تتجاوز 40 م لحين الحصول على سائل كثيف ثم جفف بعدها السائل في حاضنة بدرجة حرارة 35-40 م لمدة 2-3 ايام حتى تكون المسحوق المجفف الذي جمع في قناني زجاجية نظيفة ومعقمة وحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة 4م وفقا لما ورد في(13) مع اجراء بعض التحوير.

المستخلص الكحولي (الايثانولي) البارد:

اتبعت خطوات تحضير المستخلص المائي الحار نفسها عدا استخدام 250 مللتر من الكحول الايثيلي بتركيز 75% بدلاً من الماء المقطر وفقاً لما ورد في (2).

تحضير التخافيف:

حضرت محاليل الخزين Stock solution للمستخلصات المائية والكحولية وعقمت باستخدام اغشية الترشيح، ثم حضرت التخافيف للمستخلصات المائية والكحولية من المحلول الخزين بنسبة حجم/ حجم. المستخلصات المائية كانت بتركيز 100، 125، 150، 175 ملغم/ مللتر والمستخلصات الكحولية كانت بتركيز 10، 20، 30، 40 ملغم/مللتر.

تحديد الفعالية ضد بكتيرية:

استخدمت طريقة الانتشار من القرص لدراسة الفعالية ضد بكتيرية للمستخلص المائي والكحولي لنبات الكركم(3)، ونظمت كثافة البكتريا المعزولة من الاغذية بحيث تكون مساوية لانابيب مكفرلاند (0,5) 1.5 * 10⁸ وحدة تكوين مستعمرة/ مللتر باضافة ماء مقطر معقم وقد تم استخدام dimethylsulfoxide DMSO كسيطرة سالبة Negative control واستخدمت اقراص التتراسايكلين بتركيز 30µg كسيطرة موجبة positive control.

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الزرع البكتيري لعينات الاغذية المختلفة وجود خمسة انواع من البكتريا وينسب مختلفة نوعين منها موجبة لصبغة غرام S. aureus و B. subtilis بنسبة 14% لكل منهما وثلاث انواع سالبة لصبغة غرام Salmonella و Shigella و E. coli بنسبة 14 و 16 و 18% على التوالي (الجدول 1)، وتم اختيار عذلة واحدة من كل من البكتريا التي تم عزلها من هذه الاغذية لدراسة تأثير المستخلصات المائية والكحولية للكركم في نمو كل منها.

جدول (1): عينات الاغذية المحلية المختلفة وتلوثها بالبكتريا الخطرة.

G-Ve			G+Ve		عدد العينات	المادة الغذائية
<i>E. coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Salmonella</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>		
1	2	2	1	3	10	همبركر
2	-	-	3	2	10	لحم بعجين
2	3	2	-	1	10	بيتزا
2	2	1	2	1	10	كباب لحم
2	1	2	1	-	10	شاورما دجاج كباب دجاج وعرايس لحم
9	8	7	7	7	50	مجموع العزلات
18	16	14	14	14		النسبة المئوية %

اظهرت نتائج اختبار فعالية المستخلصات المائية والكحولية للكرم كعامل مضاد للبكتريا على ان كل من البكتريا السالبة لصبغة غرام والموجبة لصبغة غرام كانت متأثرة بالمستخلصات المستخدمة سواء كانت مائية او كحولية (الجدول، 2).

جدول (2): نتائج التأثير التثبيطي وأقطار مناطق التثبيط بالـ (ملمتر) (ملم) لمستخلص الكرم الايثانولي (كحولي) والمائي والتراكيز المستخدمة ضد 5 عزلات بكتيرية ممرضة.

البكتريا الممرضة	اقطار مناطق التثبيط ملم				تراكيز المستخلص المائي للكرم			
	تراكيز المستخلص الايثانولي للكرم ملغم/مللتر				ملغم/مللتر			
	10	20	30	40	100	125	150	175
<i>S. aureus</i>	0*	13	22	25	0	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	0	12	20	23	0	0	0	0
<i>Salmonella typhi</i>	0	0	0	0	8	9	10	11
<i>E. coli</i>	0	8	9	10	9	12	14	20
<i>Shigella</i>	9	10	11	12	9	11	16	22

*الصفير (0) يشير الى عدم وجود مناطق تثبيط حول القرص والذي يشبه السيطرة السالبة.

يلاحظ من النتائج المستحصل عليها ان بكتريا *S. aureus* و *B. subtilis* وهما بكتريا موجبة لصبغة كرام كانت حساسة لتأثير مستخلص الكركم الكحولي (الايثانولي) في حين كانتا مقاومتين لتأثير المستخلص المائي للكركم بغض النظر عن التركيز المستخدم وهذا يتفق مع ما توصل اليه (14) حيث اظهرت نتائجها تأثيراً واضحاً للمستخلص الايثانولي ضد بكتريا *S. aureus* و *B. subtilis* في حين لم يظهر نفس المستخلص فعالية مضادة لكل من بكتريا *S. typhi* و *E. coli* و *Sh. sonnei* ، كما اظهرت نتائج (19) بأن بكتريا *S. aureus* كانت حساسة لمستخلصات الكركم بالهكسان والاسيتون والايثانول في حين لم يظهر المستخلص المائي للكركم اي فعالية ضد مايكروبية ضد بكتريا *S. aureus* و *E. coli 0157iH7* و *S. enteritidis* و *S. typhimurium* و *S. thompson*. في حين وجد (21) بأن المستخلص المائي كان فعالاً بشكل قوي ضد عزلات *S. aureus* وباقطار مناطق تثبيط تراوحت بين (25-30 ملمتر).

بينت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود تأثير للمستخلص الكحولي (الايثانولي) للكركم حيال البكتريا السالبة لصبغة غرام قيد الدراسة، اذ لم يكن له اي تأثير ضد بكتريا السالمونيلا بصرف النظر عن التركيز المستخدم، اما بالنسبة لتأثير نفس المستخلص حيال بكتريا *E. coli* و *Shigella sp.* فقد كان له تأثير ملاحظ الا انه اقل نوعاً ما مقارنة بتأثير نفس المستخلص حيال البكتريا الموجبة لصبغة غرام وهذه النتائج لا تتفق نوعاً ما مع ما وجدته (21) حيث كان للمستخلص الايثانولي فعل مضاد وقوي حيال عزلات ال *E. coli* المستخدمة في الدراسة الا ان نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع (18)، اذ ان المستخلص الايثانولي للكركم لم يؤثر في جميع الانماط المصلية للسالمونيلا المستخدمة كما ان نفس المستخلص لم يؤثر في نمو بكتريا *E. coli*.

وفيما يتعلق بتأثير المستخلص المائي للكركم ضد البكتريا السالبة لصبغة غرام المستخدمة في الدراسة الحالية فقد كان تأثيره واضحاً في تثبيط نمو بكتريا *E. coli* وال *sp. Shigella* في حين كان لنفس المستخلص تأثير اقل في نمو بكتريا *Salmonella* وهذا ما اتفق مع (20) الذي وجد بأن لمستخلص الكركم المائي تأثير حيال بكتريا *E. coli* بقطر منطقة تثبيط 7 ملمتر وحيال بكتريا *B. subtilis* بقطر منطقة تثبيط تتراوح بين (8-10 ملمتر).

مما تقدم يمكن القول بأن المستخلص الكحولي (الايثانولي) للكركم كان تأثيره على البكتريا الموجبة لصبغة غرام اكثر من تأثيره في نمو البكتريا السالبة لصبغة كرام وهذه

النتيجة تتفق مع ما توصل اليه (22) حيث ان الـ *Curcumin* (وهو مادة اساسية في الكركم الجاف) كان فعال ضد الـ *S. aureus* والـ *S. epidermidis* بينما نفس المادة لم يكن لها فعالية ضد بكتيرية حيال بكتريا *P. aeruginosa* والـ *E. coli* (واوضح (12) بأن المستخلص الايثانولي للكركم كان فعالاً في استخلاص المواد المضادة للمايكروبات الفعالة مقارنة مع الماء والهكسان، كما ان نتائج (14) اوضحت بأن مستخلص الكركم الايثانولي له فعالية في تثبيط بعض البكتريا الممرضة المعزولة من الروبيان والدواجن وبدرجة كبيرة مقارنة مع الـ *Curcuminoids* (وهو من مكونات الكركم والذي يشمل *bisdemethoxycurcumin* و *demethoxycurcumin* و *diferuloyl methane* ومستخلص الكركم بالهكسان، وأوضح (6) بان الخصائص المضادة للمايكروبات في الكركم تعزى الى وجود زيوت اساسية وقلويدات وحامض *Veleric*، اما الفعل المضاد للمايكروبات للمستخلص المائي فانه يعزى الى وجود الثايوسيانايت والنترات والكلوريدات والكبريتات (9).

كما ان المستخلص الايثانولي للاعشاب او التوابل يكون افضل لان الايثانول هو مذيب عضوي ويذيب الكثير من المركبات العضوية مما يؤدي الى تحرر كميات كبيرة من المكونات الفعالة ضد ميكروبية (7).

ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها نستنتج بأن مستخلصات الكركم سواء كانت مائية او كحولية (ايثانولية) يمكن ان تستخدم كمصدر طبيعي مضاد للبكتريا، والذي يمكن إضافته إلى المنتجات الغذائية بدلاً من المواد الحافظة الكيميائية.

المصادر

1. AKRAM, M.; Uddin, S. H.; Ahmed, A.; Usmanghani, K.; Hannan, A.; Mohivddin, E.; Asif, M. (2010). *Curcuma longa* and Curcumin: A Review Article. ROM. J. Biol. Plant Biol. 55(2): 65-70.
2. Anessing, C. and Peroz, C. (1993) Screening of plants used in Argentin folk medicine for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol. 39(2): 119-128.
3. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C. and Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. J. Clin. Path. 45:493-496.
4. Chattopadhyay, I.; Biswas, K.; Bandyopadhyay, U. and Banerjee, R. K. (2004). Turmeric and Curcumin: Biological actions and medicinal applications. Curr. Sci. 87(1): 44-53.
5. Chattopadhyay, R. R. and Bhattacharyya, S. K. (2007). Herbal spices as alternative antimicrobial food preservatives: An update. Pharmacog. Rev. 1: 239-247.
6. Cikrick, S.; Mozioglu, E. and Yilmaz, H. (2008). Biological activity of curcuminoids isolated from *Curcuma longa*. Rec. Nat. Prod. 2: 19-24.
7. Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbial. Rev. 12: 564-582.
8. D Aoust, J. Y. (1997). *Salmonella* species. In: Doyle. M.P., Beuchat, L.L. and Montville, T. J., Eds. Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. Washington. D. C., ASM Press pp: 129-158.
9. Darout, I.; Cristy, A.; Skaug, N. and Egeberg, P. (2000). Identification and quantification of some potential antimicrobial anionic components in miswak extract. Ind. J. Phar. 32: 11-14.
10. Donneberg, M. S. (2005). Enterobacteriaceae In: mandell, Douglas and Bennetts. Principle and practice of infectious disease, 6th ed., Mandell Gl. Bennell Je, Dolin (editors) Churchill Living stone.
11. Williams, I. and Wilkins, K. (2006). Gram positive-cocci, part (1): *Staphylococci* and related gram-positive cocci. In kinsmans color Atlas and text book of Diagnostic microbiology. 6th ed., 623-710.
12. Gur, S.; Balik, D. T. and Gur, N. (2006). Antimicrobial activity and some fatty acids of turmeric, ginger root and linseed used in

- the treatment of infectious disease. World J. Agri. Sci. 2(4): 439-442.
13. Harbone, J. B. (1984). Phytochemical methods 2nd ed., Chapman and Hull.
 14. Lawhavinit, O.; kongkathip, N. and kongkathip, B. (2010). Antimicrobial activity of curcuminoids from *Curcuma longa* L. on pathogenic bacteria of shrimp and chicken. Kasetsart. J. Nat. Sci. 44(3): 364-371.
 15. Moore, J. E. (2004). Gastrointestinal outbreaks Associated with fermented meats. Meat Science. 67: 565-568.
 16. Nanasombat, S. (1996). Comparison of Rambach Agar, MSRV medium and other Differential media for detection of *Salmonella* in High a_w foods and low a_w foods. Research Report. Faculty of science, KMITL, Bangkok.
 17. Nanasombat, S.; Prasertsin, V.; Graisin, K.; Shain, H. and Thanaboripat, D. (2002). Efficacy of New Enzyme- Linked Immunosorbent Assay for Rapid detection of *Salmonella* in foods. Government pharmaceutical organization Report, Bangkok.
 18. Nanasombat, S. and Lohasupthawee, P. (2005). Antibacterial activity of crud ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonellae* and other *Enterobacteria*. KMITL Sci. Tech. J. 5(3): 527-538.
 19. Nkambule, T. P. (2008). Antimicrobial properties of selected Asian herbs. MSC. Thesis.
 20. Pranay, J.; Banasal, D. and Bhasin, P. (2009). Antibacterial activity of aqueous plant extracts against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. Drug Invention Today. 2 (4): 220-222.
 21. Pundir, R. K. and Jain, P. (2010). Comparative studies on the antimicrobial activity of Black pepper (*Piper nigrum*) and Turmeric (*Curcuma longa*) Extracts. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. 1(2): 492-501.
 22. Tajbakhsh, S.; Mohammadi, K.; Deilami, I.; Zandi, K.; Fouladvand, M.; Ramedani, E. and Asayesh, G. (2008). Antibacterial activity of indium curcumin and indium diacetyl curcumin. African Journal of Biotechnology. 7 (21): 3832-3835.