تقييم الفعالية البيولوجية للمستخلصات المختلفة من نبات الخزامى السورية البرية على بعض العوامل الممرضة المعزولة من اللحوم الحمراء المحلية

زينب حسان الحلواني[*] د. عدنان علي نظام[**]

د. عهد أبو يونس[***]

الملخص

تستأثر المستخلصات النباتية بأهمية متزايدة كمضافات مهمة في صناعة المواد الغذائية بسبب مقدرتها المضادة للجراثيم في منتجات اللحوم الجاهزة للطعام، فهي مرشحة ممتازة لتحل محل الجزيئات الصنعية ذات التأثير السام والمسرطن عموماً، وكان الاستخراج الفعال لهذه الجزيئات المضادة للجراثيم من مصادرها الطبيعية إلى جانب تحديد نشاطها في المنتجات التجارية يمثّل تحدِّياً كبيراً للباحثين والمساهمين في التصنيع الغذائي. ولهذا كان هدف هذا البحث تسليط الضوء على تطبيق المستخلصات النباتية لتحسين مدة الصلاحية والخصائص الغذائية والصحية لمنتجات اللحوم الحمراء.

أظهرت النتائج فعالية المستخلصات المائية والإيتانولية والكلوروفورمية لنبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية على الجراثيم المعزولة من اللحوم، حيث

* طالبة دكتوراه ، قسم علم الحياة النباتية (أحياء دقيقة) – كلية العلوم – جامعة دمشق.

** أستاذ في قسم علم الحياة النباتية – كلية العلوم – جامعة دمشق،.

*** أستاذ مساعد في قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة – جامعة دمشق.

أبدت الخلاصة المائية لنبات الخزامى بتركيز 1% نتائج إيجابية على جراثيم الإشريكية القولونية *E.coli* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* والكلبسيلة *Klebsiella* والشيغلة *Shigella* والسلمونيلة *Salmonella* والعنقوديات الذهبية *Staphylococcus aureus* المعزولة من اللحوم الحمراء تراوحت بين 11 و15 مم، وأظهرت الكلبسيلة *Klebsiella* حساسية عالية تجاه الخلاصة المائية مقارنة بالأنواع الجرثومية الأخرى حيث بلغ قطر هالة التثبيط 15مم، وأبدت الليستيرية *Listeria* مقاومة للمستخلص المائي للخزامى بالتركيزين 0.5 و0.25%، وبلغ قطر هالة التثبيط للمستخلص الإيتانولي تركيز 1% لجراثيم الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* 18 مم، وأظهرت جراثيم الشيغلة *Shigella* وخمائر المبيضات البيض *Candida albicans* مقاومة كبيرة لتأثير جميع التراكيز المستعملة للمستخلص الإيتانولي للخزامى السورية البرية، كما بلغ قطر هالة التثبيط للمستخلص الكلوروفورمي بتركيز 1% لجراثيم الإشريكية القولونية *E.coli* 14 مم، ولوحظ بعد الخزن المجمّد بالمستخلص المائي للخزامى بتركيز 1% انخفاض حادّ بعدد الجراثيم بعد 48 ساعة من الحفظ عند درجة حرارة (−4)م° إذ انخفضت الكثافة الجرثومية على سطح شرائح اللحم الحمراء على نحو يتناسب مع طول فترة التجميد.

الكلمات المفتاحية: الخزامى السورية، المستخلصات النباتية، اللحوم الحمراء، الجراثيم.

Evaluation of the Bioactivities of Plant Extractions from *Lavandula stoechas* on some Pathogenic Microorganisms isolated from local fresh Red meat

Zeinab Al-Helwany* **Dr. Adnan Ali - Nizam****

Dr. Ahd Abo yones***

Abstract

Plant extracts have become increasingly important additives in the food industry because of their antimicrobial activity in processed meat products due to their natural origin. They are an excellent candidate to replace synthetic molecules which are generally considered to have toxic and carcinogenic effects. The effective extraction of these antioxidant molecules from their natural sources As well as identifying their activity in commercial products is a major challenge for researchers and contributors to the Food processing.

The aim of this research was to highlight the application of plant extracts to improve shelf life and nutritional and health characteristics of red meat products.

* Prof. Dr. at Department of Plant Biology, Faculty of Science, University of Damascus.

** Ph.D. student, Department of Plant Biology (microbiology) - Faculty of Science - University of Damascus.

*** Associate Prof. at Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, University of Damascus.

The results showed the activities of the aqueous, ethanol and chloroformic extracts of *Lavandula stoechas* on wild bacteria isolated from the meat. The aqueous extract of *Lavandula stoechas* plant with a concentration of 1% showed positive results on *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiell*a ,*Shigella* , *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* Isolated red meat ranged between 11 and 15 mm, *Klebsiella* showed a high sensitivity to the aqueous extract compared to other bacterial species, as the diameter of the inhibition aura was 15 mm, *Listeria* showed resistance to the *Lavandula stoechas* extract in concentrations of 0.5 and 0.25%, and the diameter of the inhibitory aura of ethanol extract was 1% concentration of *Pseudomonas aeruginosa* 18 mm, *Shigella* and *Candida albicans* showed significant resistance to the effect of all the concentrations used for the ethanol extract of the *Syrian lavandula stoechas* , and the diameter of the inhibitory aura of the chloroforme extract at a concentration of 1% of the *E. coli* was 14 mm.
After a frozen storage with a *Lavandula stoechas* water extract at a concentration of 1%, a sharp decrease in the number of bacteria was observed after 48 hours of storage at -4 °C, as the bacterial density on the surface of the red steaks decreased in proportion to the length of the freezing period.

Keywords: Syrian *Lavandula stoechas*, Plant extracts, red meat, pathogenic microbes.

المقدمة:

يُعدّ التسمُّم الغذائي أحد أكثر مسببات المرض والموت في البلدان النامية (Doughari and Pukuma 2007; Pirbalouti *et al*., 2010, Sapkota *et al.*, 2012)، ويمكن أن يعود ذلك للتلوث بالجراثيم سلبية الغرام، مثل: السَّلمونيلّة التيفيّة *Salmonella typhi*، والإشريكيّة القولونيّة *Escherichia coli*، والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* (Solomakos *et al*., 2008, Pandey and Singh, 2011)، والجراثيم إيجابية الغرام، مثل: المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، والعصوية الشمعية *Bacillus cereus*.

يمكن استعمال المواد الكيميائية الحافظة لمنع حدوث فساد المواد الغذائية وحفظ تخزينها (Yamamura *et al*., 2000)، ويتطلّب التحكُّم في العوامل الممرضة المنقولة بالأغذية استعمال تقنيات حفظ عديدة عند تصنيع المنتجات الغذائية وتخزينها؛ لذلك هناك حاجة متزايدة لمواد حافظة نشطة يمكنها إطالة العمر الافتراضي للمنتَج الغذائي بتثبيط النمو الجرثومي دون استخدام الملح والسكر التي يميل المستهلك نحو تفضيل النسب المنخفضة منها (Zink, 1997)، إلى جانب الدور السلبي للإضافات الغذائية الصنعية وظهور تأثيراتها الجانبية السلبية في الصحة ما دفع إلى تطوير بدائل طبيعية واستعمال المستخلصات والزيوت النباتية والزيوت كعوامل مضادة للجراثيم والتي هي أكثر أماناً ونشاطاً (لايقة وآخرون، 2015، Bialonska *et al*., 2010, Tajkarimi *et al*., 2010; Hussain *et al*., 2018)، فللزيوت الأساسية أو مكوناتها خواص مضادة للجراثيم (Oussalah *et al*., 2007) وللطفيليات (George *et al*., 2009) وللفيروسات (Astani *et al*., 2011) وللفطريات (Silva *et al*., 2011; Tserennadmid *et al*., 2011) ومضادة للأكسدة (Brenes and Roura, 2010)، مع ذلك فاستعمال الزيوت والمستخلصات النباتية

كمواد حافظة للأغذية يتطلّب معرفة التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibition Concentration MIC لها.

تتعرّض منتَجات اللحوم للأكسدة لاسيما عند التخزين، ويسهّل الفرم تفاعل المؤكسدات مع الحموض الدهنية غير المشبعة وتكوين الجذور الحرة (Ibrahim *et al*., 2010; Yogesh and Ali, 2014)، وهو ما يترك أثراً سيئاً في اللون والنكهة والملمس وجودة الأغذية (Ripoll *et al*., 2011; Trefan *et al*., 2011; Vaithiyanathan *et al*., 2011)، ولحسْن الحظ فإن تطبيق مضادات الأكسدة يمنع أكسدة الدهون (Martinez-Tome *et al*., 2001)، وتستأثر النباتات بأهمية كبيرة كمضافات طبيعية (Lindberg and Bertelsen, 1995; Zheng and Wang, 2001).

تأتي المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية في مقدمة مسببات الأخماج الأكثر انتشاراً (Layqa *et al*., 2015; Ali Nizam and Hussain 2016)، فالذهبيّة تسبّب الإصابات الجلدية والتسمم الغذائي والالتهابات الحادة في الدم، والقولونية تسبب التهابات المسالك البولية والأمعاء والقولون، ووفقاً لبيانات معهد Broad (2010) كانت القولونية مسؤولة عن 17.3%، وكانت الذهبية مسؤولة عن 18.8% من الإصابات السريرية التي تتطلب دخول المستشفى (Tiemersma *et al*., 2004).

مبررات البحث وأهدافه:

بسبب انتشار عدد كبير من هذه النباتات في البيئة السورية، ولما كانت الأحياء الدقيقة عوامل تُتلِف الأغذية ومُمرِضات تنتقل بالغذاء ولذا كانت البدائل الطبيعية مسألة مهمة، ومنها المستخلصات النباتية والزيوت الأساسية بما تمتلكه من خصائص ومكوّنات، وإن دراسة تأثير الخزامى، كمواد حافظة للحوم ومنع فسادها بالأحياء الدقيقة أو نقلها للعوامل الممرضة وإطالة مدة حفظها، تستأثر بأهمية كبيرة، **لذلك هدف هذا البحث** إلى تحديد الفعالية المضادة للمستخلصات المائية والإيتانولية والكلوروفورمية لنبات الخزامى السورية البرية على بعض الجراثيم المعزولة من اللحوم

الحمراء وحفظها بوصفها مواد فعالة حيوياً ويمكن أن تكون بديلة للصادات الحيوية والمواد الكيميائية الصنعية.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods:

1. العينات النباتية Plant Materials:

جُمعت عينات الخزامى السورية البرية المختارة لتنفيذ البحث من قرية قسمين في منطقة النهر الكبير الشمالي أسفل بحيرة 16 تشرين، غربي مجرى النهر على ارتفاع نحو 100 – 170م عن سطح البحر، على بعد 20كم شمال شرقي اللاذقية وشمالي طريق حلب، ونُقلت العينات إلى المختبر وغُسلت بالماء المقطّر المعقّم، ثم جُفّفتْ على أوراق ترشيح بدرجة حرارة المختبر 25م°.

ينتمي نبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية (الشكل 1) إلى الفصيلة الشفوية Lamiaceae، وهو نبات عشبي ينتشر في مناطق البحر المتوسط والبحر الأسود، على المنحدرات المشمسة ويفضّل الترب السيليسية، لا ينمو في الظل، ويتحمّل الجفاف نسبياً، جنبة صغيرة طولها 30 – 50 سم كثيرة التفرّع، تجتمع الأزهار في دوّارات، التويج أرجواني، الإزهار من شباط إلى أيار (أكساد، 2012).

الشكل (1) النبات المختار للدراسة في البحث: الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية

2. تحضير المستخلصات النباتية Preparation of Plant Extracts:

المستخلصات المائية aqueous extracts:

وُضعت كمية من الأوراق المجفّفة سابقاً في الحاضنة مدة ساعتين بدرجة حرارة 37م° للتخلص من أي رطوبة في العينة لسهولة طحن الأوراق (Blazekovic *et al.*, 2011). طُحنت الأوراق الجافة وأُخذت كمية 25 غ من المسحوق ونُقعت في حوجلة سعة 500 مل بإضافة 250 مل من الماء المقطر (Khayyat *et al.*, 2018)، وُضِعت العينات في الرجاج على سرعة 170 دورة/ د في درجة حرارة المختبر 25 م°، بعيداً عن الضوء مدة 48 ساعة (Mahmoudi *et al.*, 2014). رُشِّح المستخلص باستعمال ورق ترشيح واتمان Watman قطر ثقوبه 0.45 µ، وجُفِّف في حاضنة هوائية لا تتجاوز حرارتها 40 م°.

المستخلصات الإيتانولية والكلوروفورمية Ethanol and chlorophormic extracts:

نُقعت كمية 25 غ من المسحوق النباتي في حوجلة سعة 500 مل بإضافة 250 مل من أحد المذيبات العضوية (الإيتانول بتركيز 95% – الكلوروفورم) إليها كل مرة، ووُضِعت في الرجّاج على سرعة 125 دورة/ د في درجة حرارة المختبر 25 °م (Hamad ,*et al*, 2013)، ورُشِّح المستخلص باستعمال ورق ترشيح واتمان قطر ثقوبه 0.1 µ لمدة ساعة ثم جرى استعمال المبخّر الدوار Rotary Evaporator تحت ضغط منخفض للتخلص من المذيب العضوي عند درجة 45 م° (Khayyat, *et al.*, 2018). أُعيدت الخطوات السابقة للمستخلصات المائية والعضوية بواقع ثلاثة مكررات لكل منها، وحُسب مردود المستخلصات الجافة المائية والعضوية وفق العلاقة (Chanthaphon *et al.*, 2008):

$$\text{المردود \%} = \frac{\text{وزن المستخلص الجاف بعد التبخير}}{\text{وزن مسحوق الأوراق الجافة}} \times 100$$

3. عزل الأحياء الدقيقة الممرضة Isolation of Pathogens:

عُزلت الأحياء الدقيقة الممرضة من عينات لحوم من السوق المحلية، واستُعملت مجموعة من الأوساط الصلبة الانتقائية للجراثيم، مثل: وسط إيوزين زرقة المِتلين EMB Agar لتنمية الأمعائيات، وسط شابمان آغار Chapman Agar لتنمية العنقوديات، وسط سيترامايد آغار Cetramide Agar لعزل الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* القادرة على تحرير الأمونيا، وسط دكستروز البطاطا آغار Potato Dextrose Agar PDA لتنمية خمائر المبيضات البيض *Candida albicans*، إضافة إلى وسط الآغار المغذي والمرق المغذي (APHA, 2000). تم تصنيف الجراثيم المعزولة من العينات بعد إجراء الاختبارات الحيوية الكيميائية اللازمة (الأُكسيداز، الكَتالاز، الإندول، أحمر المِتيل، تخمير السِّترات، فوجس بروسكاور، تحرير H_2S) اعتماداً على دليل بيرجي (Garrity *et al*., 2005).

اختُبرت حساسية الجراثيم المعزولة ومقاومتها بطريقة الانتشار القرصي، وحُدّدت الحساسية والمقاومة لبعض الصادات الحيوية بقياس هالات التثبيط على وسط مولر هنتون آغار Mueller Hinton Agar (Barker and Kehoe 1995)، واستُعملت مجموعة من الصادات الحيوية (الجدول 1) مع تحديد تركيزها في الأقراص.

الجدول (1) الصادات الحيوية المستعملة، mcg

Antibiotic	Code	Antibiotic	Code
Ampicillin/ Cioxacillin	APX: 25/5	Cefaclor	CEC: 30
Tobramycin	TOB: 10	Lincomycin	L:2
Erythromycin	E:15	Pipemidic	PI:20

4. **تحضير اللقاح الجرثومي** Preparation of bacterial Inoculum:

أُجريت عملية تنمية الجراثيم المعزولة على وسط الآغار المغذي Nutrient Agar NA وحضنها في الدرجة 37 °م مدة 24 ساعة، ثم أُخذ جزء من مستعمرة بواسطة اللاقحة الجرثومية من كل نوع من الجراثيم، في ظروف عقيمة، إلى أنبوبة اختبار تحتوي 5 مل من المرق المغذي Nutrient Broth، وحُضنت في درجة حرارة 37 °م

مدة 4 ساعات، ثم أُجريت التخفيفات المناسبة لكل نوع من الجراثيم بحيث يكون العدد الكلي للخلايا بحدود 1.5×10^8 خلية/مل والذي يكافئ هذا العدد 0,5McFarland (Anandi and Juan 2009).

5. اختبار فعالية المستخلصات النباتية:

Test Bioactivity of Plant Extraction

حُضّرت المستخلصات المائية والإيتانولية والكلوروفورمية بتركيز 0.25، 0.5، 0.75، 1.0%، وحُضِّر وسط مولر هنتون من إذابة 38 غ منه في لتر من الماء المقطر 100 C̊، ونُقِل 0.5 مل من المعلق الجرثومي وفُرِش فوق وسط الاستزراع بماسحة قطنية، بعد 15 دقيقة وُزِّعت المستخلصات في حفر ضمن الآغار ووُضِع في كل حفرة 80 ميكروليتراً من المستخلص ووُضِعت في البراد مدة ساعتين لانتشار المادة الفعالة، ثم حُضنت في الدرجة 37 °م مدة 24 ساعة، إن ظهور هالات التثبيط inhibition zones دليل على تثبيط النمو الجرثومي، وتُقاس أقطارها بعد انتهاء عملية الحضن بأداة قياس دقيقة أو مسطرة مليمترية، أُجريت التجربة بواقع ثلاثة مكررات (Kelmanson *et al.*, 2000).

6. قياس التركيز المثبط الأصغري Measurement of Minimal Inhibition oncentration MIC :

أُجري تحضير المرق المغذي Nutrient Broth ووضع 5 مل منه في أنابيب اختبار من النوع نفسه والحجم نفسه ثم أضيف 0.1 مل من المعلق الجرثومي McFarland 0,5 المخفّف إلى الأنابيب و1 مل من التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية المستعملة 1.0، 0.75، 0.5، 0.25% ما عدا أنبوبة واحدة عُدَّت كشاهد control، ثم حُضنت الأنابيب في درجة حرارة 37°م مدة 24 ساعة. لوحظ التعكير في كل الأنابيب بالعين المجردة وقُورن بالشاهد، ثم أُجري ضبط المطيافية الضوئية Spectrophotometer عند 100% عن طريق الوسط الغذائي المستعمل Nutrient Broth والخالي من المعلق الجرثومي والمستخلص بعد وضعه في الأنبوبة الخاصة

بالجهاز عند طول موجة 600 نانومتر، ثم قِيس الشاهد وسُجّلت القراءة من الجهاز، وقِيست جميع العينات بعد وضعها في الأنابيب الخاصة بالجهاز المستعمل وقُورنت بالشاهد (Wan ,*et al*,1998).

7. **تحضير أقراص اللحم الأحمر المفروم** Preparation of pieces minced red meat:

أُجريت عملية فرم عينات (10 عينات) اللحم الحمراء، وقُسمت كل عينة إلى معاملتين: الأولى: الشاهد دون إضافة مستخلصات، والأخرى بإضافة المستخلص المائي للخزامى بتركيز 1%. أُجريت عملية تحضير أقراص اللحم ثم وُضعت في أكياس مفرغة من الهواء، وأغلقت الأكياس جيّداً وحُفِظت في البراد بدرجة حرارة 4°م مدة 48 ساعة جرت خلالها متابعة التغييرات الحاصلة على التعداد العام للجراثيم (الموسوي والعذاري 2017).

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

1. **مردود المستخلصات الجافة لنبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية:**

أظهرت النتائج الممثلة بالجدول 2 أن نبات الخزامى يحتوي كمية من المستخلص الصافي تعادل12.25% من المستخلص المائي، وبلغ مردود المستخلص الإيتانولي 12.24% وكان أقل مردوداً للمستخلص الكلوروفورمي إذ بلغ 0.13%، فقد ازداد مردود المستخلص النباتي مع ازدياد قطبية المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص، ويتعلق ذلك بالوزن الجزيئي للمواد التي يمكن أن يستخلصها كل مذيب، وتتباين المذيبات المستعملة لاستخلاص المكونات النباتية الفعالة (Cowan 1999)، إذ يستخلص الكلوروفورم التربينوئيدات والفلافونوئيدات، ويستخلص الإيتانول التانينات والبولي فينولات والبولي أستيلينات والفلافونول والتربينوئيدات والستيرولات والقلويدات، أما الماء فيستخلص الأنتوسيانينات والنشويات والتانينات والصابونينات

والتربينوئيدات وعديدات الببتيد والليستينات، حيث يزداد مردود المستخلص مع ازدياد قطبية المذيب المستعمل (Osadebe and Akabogu 2006).

الجدول (2) مردود المستخلصات النباتية للخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية

مردود المستخلص%	المائي			الإيتانولي			الكلوروفورمي		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	12	13	11.76	14.24	12.24	10.24	0.14	0.13	0.13
المتوسط	0.65 ± 12.25			2.00 ±12.24			0.005 ± 0.13		

2. الأنواع والأجناس الجرثومية المعزولة من اللحوم:

يبين الجدول 3 الأنواع والأجناس الجرثومية الستة التي تم عزلها عند اختبار اللحوم الحمراء ميكروبيولوجياً بالإضافة إلى خمائر المبيضات البيض *Candida albicans* إذ عُزلت من عينات لحوم الأغنام والعِجل المحلية الأجناس والأنواع الآتية: السلمونيلة *Salmonella*، والإشريكية القولونية *Escherichia coli*، والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*، والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*، والكلبسيلة *Klebsiella*، والشيغلة *Shigella*.

الجدول (3) الأجناس الجرثومية المعزولة من اللحوم الحمراء من مناطق مختلفة في حمص

أنواع وأجناس الأحياء الدقيقة المختبرة	عدد العينات الإيجابية في اللحم %	
	لحم غنم	لحم عجل
E. coli	85.71	66.66
Pseudomonas aeruginosa	57.14	33.33
Klebsiella sp.	42.85	16.66
Shigella sp.	28.57	50.00
Salmonella sp.	42.85	33.33
Staphylococcus aureus	14.28	66.66
Candida albicans	28.57	16.66

3. فعالية مستخلصات نبات الخزامى على الأحياء الدقيقة الممرضة:

يبيّن الجدول 4 نتائج دراسة تأثير فعالية المستخلص المائي للخزامى السورية البرية تجاه الجراثيم المعزولة.

الجدول (4) قطر هالة التثبيط للمستخلص المائي لنبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية على الجراثيم المختبرة والمبيضات البيض، (الواحدة مم)

أنواع وأجناس الأحياء الدقيقة المختبرة	متوسط قطر هالة التثبيط باستخدام تراكيز مختلفة، مم			
	0.25	0.5	0.75	1.0
E. coli	0.0 ± 07	± 09 0.0	± 12 1.0	± 14 0.57
Pseudomonas aeruginosa	0.0 ± 06	± 10 1.0	± 11 0.57	± 13 1.0
Klebsiella sp.	–	± 08 1.52	± 12 0.0	± 15 1.52
Shigella sp.	–	± 09 1.0	± 11 0.57	± 12 2.08
Salmonella sp.	1.0 ± 06	± 08 0.57	± 12 0.57	± 14 1.52
Staphylococcus aureus	1.0 ± 07	± 09 0.0	± 12 1.0	± 13 0.0
Listeria sp.	–	–	± 09 1.0	± 11 0.0
Candida albicans	± 07 0.57	± 10 1.0	± 11 0.0	± 14 0.0

أظهر التركيز 1% نتائج إيجابية على جميع الجراثيم المختبرة حيث تراوح قطر هالة التثبيط بين 11 و15 مم، وبدت حساسية الكلبسيلة عالية للمستخلص مقارنة بالأنواع والأجناس الجرثومية الأخرى، وبلغ قطر هالة التثبيط 15 مم بتركيز 1% للمستخلص المائي للخزامى، وأبدت الليستررية مقاومة للمستخلص المائي للخزامى بالتركيزين 0.5 و0.25% وبلغ قطر هالة التثبيط 9 مم في التركيز 0.75%، وهذا ما يتفق مع نتائج

الباحثين (Tabatabaei *et al*., 2014)، وكان تأثير المستخلص المائي لنبات الخزامى جيداً في المبيضات البيض، إذ تراوح بين 7 و14 مم بينما كان تأثير التركيزين 0.5 و0.75% متوسطاً، وبلغ القيمة العظمى (14 مم) بالتركيز 1.0%.

يبيّن الجدول 5 نتائج دراسة النشاط الحيوي للمستخلص الإيتانولي لنبات الخزامى السورية البرية ضد الأحياء الدقيقة.

الجدول (5) قطر هالة التثبيط للمستخلص الإيتانولي لنبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية تجاه الجراثيم المختبرة والمبيضات البيض، (الواحدة مم)

أنواع وأجناس الأحياء الدقيقة المختبرة	متوسط قطر هالة التثبيط باستخدام تراكيز مختلفة			
	0.25	0.5	0.75	1.0
E. coli	± 07 0.0	± 09 1.0	± 10 0.0	0.57 ± 14
Pseudomonas aeruginosa	± 10 1.52	± 12 0.0	± 15 1.0	1.0 ± 18
Klebsiella sp.	± 08 1.0	± 10 1.52	± 12 0.0	± 14 1.52
Shigella sp.	–	–	–	–
Salmonella sp.	± 06 0.0	± 08 0.0	± 12 0.57	± 14 1.52
Staphylococcus aureus	± 07 1.0	± 09 1.0	± 12 1.0	0.0 ± 13
Listeria sp.	–	–	± 09 0.0	0.0 ± 11
Candida albicans	–	–	–	–

أوضحت نتائج الدراسة حساسية الزائفة الزنجارية العالية للمستخلص الإيتانولي مقارنة بالجراثيم الأخرى، إذ بلغ قطر هالة التثبيط 18 مم بالتركيز 1.0%، على خلاف دراسة أخرى أظهرت أن المستخلص الإيتانولي لنوع الخزامى *Lavandula angustifolia* لم يكن له أي تأثير في الزائفة الزنجارية (Al-Hussaini and

(Mahasneh, 2011، بينما أبدت جراثيم الشيغلة وخمائر المبيضات البيض مقاومة ملحوظة لتأثير جميع التراكيز المستعملة للمستخلص الإيتانولي للخزامى السورية البرية، وهذا ما يتفق مع نتائج الباحثين (Bayrak *et al*., 2017).

يبين الجدول 6 نتائج دراسة فعالية المستخلص الكلوروفورمي لنبات الخزامى السورية البرية تجاه الأحياء الدقيقة المختبرة.

الجدول (6) قطر هالة التثبيط للمستخلص الكلوروفورمي لنبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية ضد الجراثيم المختبرة والمبيضات البيض، الواحدة مم

أنواع وأجناس الأحياء الدقيقة المختبرة	متوسط قطر هالة التثبيط باستخدام تراكيز مختلفة			
	0.25	0.5	0.75	1.0
E. coli	± 08 0.0	± 10 1.0	± 12 0.0	± 14 0.57
Pseudomonas aeruginosa	± 07 1.52	± 09 0.0	± 10 1.0	± 13 1.0
Klebsiella sp.	–	± 06 1.52	± 09 0.0	± 11 1.52
Shigella sp.	± 06 1.0	± 08 1.0	± 10 1.52	± 12 0.0
Salmonella sp.	–	± 06 1.0	± 07 0.57	± 08 1.52
Staphylococcus aureus	± 06 0.0	± 08 0.57	± 09 1.0	± 11 0.0
Listeria sp.	± 07 1.0	± 09 0.0	± 10 1.52	± 12 0.0
Candida albicans	± 06 0.0	± 07 1.0	± 09 0.57	± 10 0.0

بدت حساسية جراثيم الإشريكية القولونية عالية للمستخلص الكلوروفورمي مقارنة بالجراثيم الأخرى حيث بلغ قطر هالة التثبيط 14 مم بتأثير التركيز 1.0%.

الجدول (7) نتائج حساسية ومقاومة الأنواع والأجناس الجرثومية المدروسة تجاه الصادات الحيوية، (الواحدة مم)

E	L	PI	TOB	APX	CEC	Abbrev.
15	2	20	10	30	30	Conc.
R	R	6	9	R	R	*E. coli*
R	R	9	13	R	R	*Pseudomonas aeruginosa*
R	R	9	11	R	R	*Klebsiella* sp.
R	R	9	10	R	R	*Shigella* sp.
R	R	8	13	R	R	*Salmonella* sp.
R	R	9	10	R	R	*Staphylococcus aureus*
R	R	20	16	R	R	*Listeria sp.*
R	R	9	10	R	R	*Candida albicans*

E: Erythromycin ,L: Lincomycin, PI: Pipemidic, TOB: Tobramycin, APX: Ampicillin/ Cioxacillin, CEC: Cefaclor.

يبين الجدول 7 نتائج حساسية الجراثيم الممرضة المعزولة وكذلك المبيضات البيض ومقاومتها تجاه الصادات الحيوية المستعملة، ويتضح أن جميع الجراثيم الخاضعة للدراسة مقاومة للأمبيسيلين Ampicillin والسيفاكلور Cefaclor واللينكوميسين Lincomycin والإرثروميسين Erythromycin.

أبدت الليسترية إيجابية الغرام حساسية عالية تجاه التوبراميسين Tobramycin والبيبميديك Pipemidic، إذ بلغت أقطار هالة التثبيط 16 و20 مم على التوالي، وأبدت الزائفة الزنجارية سلبية الغرام حساسية جيدة تجاه هذين الصادّين، إذ بلغت أقطار هالة التثبيط 13 و9 مم على التوالي، كما أبدت المبيضات البيض حساسية تجاه التوبراميسين Tobramycin والبيبميديك Pipemidic إذ بلغت أقطار هالة التثبيط 10 و9 مم على التوالي.

تبيّن نتائج البحث أن أقطار هالة تثبيط المستخلصات المائية والإيتانولية والكلوروفورمية كان أكبر عموماً من أقطار هالة التثبيط للصادات الحيوية المستعملة؛ ما يؤكد أهمية نتائج استعمال نبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية كمادة صادة للأحياء الدقيقة الممرضة.

يبيّن الجدول 8 تأثير الخزن في تعداد الجراثيم الموجود في 1 سم^3 من شرائح اللحم الحمراء المفرومة.

الجدول (8) تأثير مدة التخزين في تغيير تعداد الجراثيم الموجودة في 1 سم3 من شرائح اللحم الحمراء، العدد × 1000

عينات اللحوم الحمراء		وجود الجراثيم، $\times 10^3$						
		قبل الخزن	بعد الخزن					
			ساعة		24 ساعة		48 ساعة	
		العدد	العدد	النسبة %	العدد	النسبة %	العدد	النسبة %
لحم بقر	1	75	70	93.33	60	80.00	51	68.00
	2	43	39	90.69	30	69.76	27	62.79
	3	66	61	92.42	51	77.27	43	65.15
	4	50	46	92.00	39	78.00	29	58.00
	5	65	61	93.84	50	76.92	43	66.15
لحم غنم	6	110	98	89.09	80	72.72	70	63.63
	7	80	76	95.00	69	86.25	50	62.50
	8	53	50	94.00	41	77.35	36	67.92
	9	70	66	94.00	50	71.42	45	64.28
	10	83	77	92.00	60	72.28	49	59.03

يبين الجدول 8 عدد الجراثيم الموجودة على سطح اللحوم الحمراء قبل وبعد الخزن المجمد بالمستخلص المائي للخزامى بتركيز 1%، ويُلحظ الانخفاض الحادّ بعدد الجراثيم بعد 48 ساعة من الحفظ عند درجة حرارة −4°م قد خفض الكثافة الجرثومية على سطح شرائح اللحوم الحمراء على نحو يتناسب مع طول فترة التجميد. ويعود تأثير التجمد في تثبيط النمو الجرثومي إلى دوره في تجمد جزء من الماء المتوافر لنشاط الجراثيم، وبذلك تنخفض قيمة النشاط المائي في المادة الغذائية، وهذا بدوره

يؤدي إلى كبح نشاط الأحياء الدقيقة، ويتفق ذلك ما نتائج الأبحاث العلمية (الطائي، 1986).

ويبيّن الجدول أيضاً تأثير المستخلص المائي لنبات الخزامى بتركيز 1% في خفض نمو الجراثيم الملوثة للحوم الحمراء، ويبدو أن للمستخلص المائي للخزامى فعالية قوية تجاه الجراثيم من خلال التماس المباشر معها لما يمتلكه من مركبات طبية مضادة للجراثيم، وهذا ما يتفق مع الأبحاث إذ أظهرت أن التركيز العالي من الخزامى 1% امتاز بتأثير كابح للتعداد الكلي للجراثيم في اللحوم مقارنة بالتركيز 0.1% الذي بلغ فيه التعداد العام للجراثيم في عينات اللحوم الأربع على الترتيب: 4.7 log cfu/g، 4.2 log cfu/g، 4.8log cfu/g ، 4.6 log cfu/g، وقد بلغ التعداد بالتركيز 1% 3.3 log cfu/g، 3.2 log cfu/g، 3.4 log cfu/g، 3.5 log cfu/g- **colony forming unit**(Latif TASKAYA,et al,2018).

يحتوي الخزامى الفلافونيدات والعفص والصابونين والتربينات والكومارينات والقلويدات والتانينات (Moncef Boufellous,et al,2017)، وله نشاط ضد الجراثيم المسببة للأمراض كما العنقوديات الذهبية *Staphylococcus aureus*، اليرسينية *Yersinia enterocolitica*، الليستيرية *Listeria monocytogenes* والسلمونيلة *Salmonella* (Aydın Duman, 2008; Cherrat *et al*., 2014).

الاستنتاجات Conclusions:

1- ازدياد مردود المستخلص النباتي مع ازدياد قطبية المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص.

2- المستخلصات المائية والإيتانولية والكلوروفورمية لنبات الخزامى هي عوامل مضادة للأحياء الدقيقة.

3- أقطار هالة تثبيط المستخلصات المائية والإيتانولية والكلوروفورمية كان أكبر عموماً من أقطار هالة التثبيط للصادات الحيوية المستعملة.

4- التركيز العالي من الخزامى 1% امتاز بتأثير كابح للتعداد الكلي للجراثيم في اللحوم.

5- إن إضافة المستخلصات المائية لنبات الخزامى إلى اللحوم الحمراء تعطي دعماً لآلية الحفظ المجمد.

6- إن استخدام المستخلصات النباتية يمكن أن تكون طريقة وتقنية صحية في حفظ اللحوم.

7- المستخلصات النباتية تعدّ مغذّيات مفيدة للصحة لما تحتويه من مركبات طبية.

التوصيات Recommendations:

1- استعمال نبات الخزامى السورية *Lavandula stoechas* البرية كمادة صادة للأحياء الدقيقة الممرضة.

2- استخدام نبات الخزامى لتتكيه اللحوم والخضراوات.

3- دمج المستخلصات والزيوت النباتية في نظام التعبئة والتغليف.

4- استخدام البراعم المجففة للخزامى في تطبيقات الطهي.

5- استخدام نبات الخزامى لعلاج الأرق وأمراض القلب والأوعية الدموية.

6- إنتاج عسل عالي الجودة من زهور الخزامى حيث تعطي رحيق وافر.

المراجع References:

1) الاتحاد العربي للصناعات الغذائية (1984). موسوعة الغذاء. المجلد الأول، الغذاء مكوناته وطرق حفظه الأمانة العامة للاتحاد العربي للصناعات الغذائية، بغداد العراق.
2) أكساد (2012). أطلس النباتات الطبية والعطرية في الوطن العربي، دمشق، سورية، 356 – 357.
3) الطائي، منير عبود جاسم، (1986). تكنولوجيا اللحوم والأسماك، جامعة البصرة.
4) لايقة، ميسون؛ علي نظام، عدنان؛ القاضي، عماد (2015). فاعلية مستخلصات أجزاء الآس المزروع تجاه بعض الجراثيم الممرضة. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، المجلد 31 – العدد 1، 377–394.
5) الموسوي، أم البشر حميد جابر، العذاري، رسل علي عدنان (2017). تحضير بعض المستخلصات النباتية ودراسة تأثيرها في المؤشرات الكيميائية لأقراص اللحم المفروم والمخزنة بالتبريد والتجميد 9 (4). 221–241.

1. Al-Hussaini R., Mahasneh A. M., (2011). Antibacterial and Antifungal Activity of Ethanol Extract of Different Parts of Medicinal Plants in Jordan, Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol.4, No.1. p:00-00.
2. Ali Nizam A., Hussain M. (2016). Prevalence, Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus*, CNS and determination of MRSA, MRCNS strains in clinical samples. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol.38, No.1, 167-180.
3. Anandi M., Juan C. (2009). Drug susceptibility testing for *Mycobacterium tuberculosis*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 54:130-133.
4. APHA, AWWA and WEF (2000). Standard Methods for Examination of water and wastewater. 20th edition. American Public Health Association, Inc., Baltimore, M. D. USA.

5. Astani A., Reichling J., Schnitzler P. (2011). Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. *Evidence-based complementary and alternative medicine*.
6. Aydın Duman, B. (2008). Bazı tıbbi bitki ve baharatların gıda patojenleri üzerine antibakteriyel etkisinin araştırılması. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 14(1), 83-87.
7. Barker G. A.; Kehoe E. (1995). Assessment of disc diffusion methods for susceptibility testing of Aeromonas salmonicida. Aquaculture, Vol. 134:1-8.
8. Bayrak D., Okmen G., Arslani A. (2017). The Biological Activities of *Lavandula stoechas* L. against Food Pathogens Vol. 4: 3 p. 270-279.
9. Bialonska D., Ramnani P., Kasimsetty S., Muntha K., Gibson G., Ferreira D. (2010). The influence of pomegranate by-product and punicalagins on selected groups of human intestinal microbiota. Int. J. Food Microbiol. 140:175-182.
10. Blazekovic B., Stanic G., Pepeljnjak S., Vladimir-Knezevic S. (2011). In vitro antibacterial and antifungal activity of *Lavandula* × intermedia Emeric ex Loisel. 'Budrovka'. Molecules, 16: 4241-4253.
11. Brenes A., Roura E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. Anim. Feed Sci. Technol. 158, 1-1410.1016/j.anifeedsci.2010.03.007.
12. Chanthaphon S.; Chanthachum S., Hongpattarakere T. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. Songklanakarin J. Sci. Technol., Vol.30, p. 125-131.
13. Cherrat L., Espina L., Bakkali M., Pagán R., Laglaoui A. (2014). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of Mentha pulegium, Lavandula stoechas and Satureja calamintha scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 22, 221-229.
14. Cowan M. M. (1999) Plant Products as antimicrobial agents clinical microbiology reviews,12 (4), 564-582.

15. Doughari J. H., Pukuma M., D. N. (2007). Antibacterial effects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. and *Moringa oleifera* Lam. on *Salmonella typhi*. African Journal Biotechnology. 6(19): 2212-2215.
16. Garrity G. M.; Brenner D.; Krieg N., Staley J. (2005). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Springer, USA, 2nd Ed., Vol. 2, P. 1-1135.
17. George D. R., Smith T., Shiel R., Sparagano O., Guy J. (2009). Mode of action and variability in efficacy of plant essential oils showing toxicity against the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. Vet. Parasitol. 161, 276-282.
18. Hamad K. J., Al-Shaheen S., Kaskoos R., Ahamad J., Jameel M., Mir S. (2013). Essential oil composition and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* from Iraq. Int. Res. J. Pharm., 4: 117-120.
19. Hussain M., Ali Nizam A., Abou-Isba S., Abou-Younes A., Khaddour W. (2018). A Broad-Spectrum Antibacterial Activity of Lyophilized Crude Extracts of Bacillus subtilis against Clinical and Food-Borne Pathogens, International Research Journal of Pharmacy and Medical Sciences (IRJPMS), Volume 1, Issue 3, pp. 15-21, 2018.
20. Ibrahim H. M., Abou-arab A., Abu Salam F. (2010). Addition of some natural plant extracts and their effects on lamb patties quality. J. Food Technol., 8, 134-142.
21. Kelmanson J., Jager A., Standen J. (2000). Zulu medicinal plants with antibacterial activity. J. Ethnopharmacol., 69:241-246.
22. Latif TAŞKAYA1, Hatice HASANHOCAOĞLU YAPICI1 , Cansu METİN1 , Yunus ALPARSLAN1, December 2018 The effect of lavender (Lavandula stoechas) on the shelf life of a traditional food: hamsi kaygana, Food Science and Technology.
23. Layqa M., Ali Nizam A., Alqadi I. (2015). Antibacterial Activity of White and Blue Wild Myrtle Parts Extracts Against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Egypt. J. Microbiol. 50, 17- 29.
24. Lindberg M. H., Bertelsen G. (1995). Spices as antioxidants. Trends Food Sci. Technol., 6, 271-277.

25. Mahmoudi R., Zare P., Hassanzadeh P., Nosratpour S. (2014). Effect of *Teucrium polium* essential oil on the physicochemical and sensory properties of probiotic yoghurt. J Food Process Pres. 38:880–888.
26. Martinez-Tome M., Jimenez A., Ruggieri S., Frega N., Strabbioli R., Murcia M. (2001). Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. J. Food Prot., 64,1412-1419.
27. Moncef Boufellous, L Aicha Lrhorfi, Assia Berrani, Hamid EL Haoud, Aouatife Zaher, Bouchra Bouhaddioui and Rachid Benguedour ,2017, Phytochemical screening of a medicinal plant: Lavandula stoechas (Lamiaceae) , Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; 6(2): 56-62.
28. Osadebe PO, Akabogu IC (2006) Antimicrobial activity of Loranthus micranthus harvested from kola nut tree.Fitoterapia 77:54-56.
29. Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. Food Control 18, 414–420.
30. Pandey A., Singh P. (2011). Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (Clove) with metal ion effect against food borne pathogens. Asian J. Plant Sci. Res. 1(2): 69-80.
31. Pearson, A. M. & Tauber, F. W. (2002). Processed meats. 2nd . ed AVI. Publishing Company, INC., USA.
32. Pirbalouti A. G., Jahanbazi P., Enteshari S., Malekpoor F., Hamedi B. (2010). Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. Arch. Biol. Sci. Belgrade. 62(3): 633-642.
33. Ripoll G., Joy M., Muñoz F. (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. Meat Sci., 87, 88-93.
34. Sapkota R., Dasgupta R., Rawat D. (2012). Antibacterial effects of plants extracts on human microbial pathogens and microbial limit tests. Int. J. Res Pharm. & Chem., 2(4): 926-936.
35. Silva F., Ferreira S., Duarte A., Mendonça D., Domingues F. (2011). Antifungal activity of *Coriandrum sativum* essential oil,

its mode of action against Candida species and potential synergism with amphotericin B. Phytomedicine 19, 42-47.
36. Solomakos N., Govaris A., Koidis P., Botsoglou N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage. Meat Science. 80, 159-166.
37. Khayyat S., Al-Kattan M., Basudan N. (2018). Phytochemical Screening and Antidermatophytic Activity of Lavender Essential Oil from Saudi Arabia. International Journal of Pharmacology Volume 14 (6): 802-810.
38. Tabatabaei Y., Behbehani B., Mortazavi A. (2014). Investigate the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum antibacterial concentration (MBC) of *Lavandula stoechas* and extracts *Rosmarinus officinalis*. on the pathogenic bacteria "in vitro No.2 ISSN 2008-4978 Vol.5 (JPS).
39. Tajkarimi M. M., Ibrahim S., Cliver D. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. Food Control 21, 1199-1218.
40. Tiemersma E.W., Bronzwaers S., Lyytikäinen O., Degener J., Schrijnemakers P., Bruinsma N., Monen J., Witte W., Grundman H. (2004). European antimicrobial resistance surveillance system participants: Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Europe. Emerg. Infect. Dis. 10:1627–1634.
41. Trefan L., Bürger L., Bloom-Hansen J., Rooke J., Salmi B., Larzul C., Terlouw C., Doeschl W. (2011). Meta-analysis of the effects of dietary vitamin E supplementation on α-tocopherol concentration and lipid oxidation in pork. Meat Sci., 87, 305-314.
42. Tserennadmid R., Takó M., Galgóczy L., Papp T., Pesti M., Vágvölgyi C., Almássy K., Krisch J. (2011). Anti- yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. Int. J. Food Microbiol. 144, 480-486.
43. Vaithiyanathan S., Naveena B., Muthukumar M., Girish P., Kondaiah N. (2011). Effect of dipping in pomegranate (*Punica granatum*) fruit juice phenolic solution on the shelf life of chicken meat under refrigerated storage (4 °C). Meat Sci., 88, 409-414.

44. Wan J., Wilcock A., Coventry M. (1998). The effect of essential oil of basil on the growth of *Hydrophlia* and *Pseudomonas fluorescens*. J. App. Mic. 84:152-158.
45. Yamamura A., Murai A., Takamatsu H., Watabe K. (2000). Antimicrobial effect of chemical preservatives on enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. J. Health Sci. 46: 204-208.
46. Yogesh K., Ali J. (2014). Antioxidant potential of thuja (*Thuja occidentalis*) cones and peach (*Prunus persia*) seeds in raw chicken ground meat during refrigerated (4±1°C) storage. J Food Sci. Technol., 51, 1547-1553.
47. Zheng W., Wang S. (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. J. Agric. Food Chem., 49, 5165-5170.
48. Zink D. L. (1997). The impact of consumer demands and trends on food processing. Emerging Infect. Dis. 3, 467-469.