إستعمال مستخلص قشور الرمان في تثبيط نمو *Staphylococcus aureus* وتحسين نوعية صوصج اللحم المصنع محلياً

علي حسين علي حميد
وحدة الامراض المشتركة
كلية الطب البيطري
جامعة بغداد

فارس عبد علي العبيدي
وحدة الامراض المشتركة
كلية الطب البيطري
جامعة بغداد

ميعاد غالب باقر
فرع الكيمياء
كلية طب الكندي
جامعة بغداد

شهرزاد محمد الشديدي
فرع الصحة العامة
كلية الطب البيطري
جامعة بغداد

الخلاصة

إستهدف البحث تقييم الاثر التثبيطي لمستخلص قشور الرمان تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus* مختبرياً وأختيار اقل تركيز يعمل على تثبيط هذه البكتريا واستعماله مع خلطه البهارات المضافة ودراسة أثر ذلك في النوعية المايكروبية والحسية للصوصج المحلي ، حيث بينت النتائج إن اضافة 0.22 % من مستخلص قشور الرمان قد ساهم في تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* مختبرياً وقد أسهمت اضافة هذه النسبة في خلطة الصوصج المحلي في انخفاض معنوي ($P<0.05$) في اعداد البكتريا الكلية وتثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* الى الحد الذي لم تعزل فيه ولم تظهر تأثيرات معنوية لاضافة مستخلص قشور الرمان في صفات النكهة والطراوة والعصيرية مما يدل على أهمية اضافة مستخلص قشور الرمان لتحسين النوعية المايكروبية للصوصج المحلي .

Using *Punica* l. Shell Extract As A bacteriostatic For *Staphylococcus aureus* And Inhancing Locally Processed Sausage

Ali H. Ali
Zoonosis unit
College of Vet. Med.
Baghdad University

Faris A. Al-Obaidi
Zoonosis unit
College of Vet. Med.
Baghdad University

Meiad G. Baqir
Dept. Of Biochemistry
Al-Kindi Med.
Baghdad University

Shahrazad M. Al-Shadeedi
Dept. of Public Health College of Vet. Med.
Baghdad University

SUMMARY

This study was carried out to evaluate *Punica* L. shell extract as a bacteriostatic for *Staphylococcus aureus Invitro* , and select the minimal dosage to used as a food additive with species for processing locally sausage and evaluate the microbial and sensory quality .The results obtained revealed that 0.22 % of *Punica* L. extract was the minimum dose has the effective bacteriostatic for *Staph. aureus Invitro* and adding this percentage in mixture of locally processed sausage significantly decreased total bacterial count and no growth of *Staph. aureus* were noticed . No significant differences in the sensory quality of the processed sausage was observed .

المقدمة

ينتمي الرمان الى العائلة الرمانية (Punicaceae) وهي عائلة صغيرة تحوي جنساً واحداً هو *Punica* L. , وهذا الجنس يكون على نوعين فقط هما *Punica protopunica* & *Punica grananum*. الاسم اللاتيني للرمان هو *Punica* والذي اصبح فيما بعد *Malum punicum* وفي العراق يوجد النوع الاول فقط وهو *Punica grananum*(1 ، 2) .

يحتوي الرمان على مواد كيميائية مختلفة فتحتوي القشور الخارجية للجذع على المادة الفعالة المسماة البليترين وتحتوي كذلك على الايزوبلترين وسيدوبيلترين ميثايل الايزوبلترين فضلاً عن الكرناتين ، كما تحتوي على التانينات والراتنجات و أشباه القلويدات (3) , وللرمان مكانه متميزة في الطب الشعبي حيث يستعمل الرمان الحامض كمدرر للبول (4) وينفع الرمان المر في علاج الالتهابات (5) ولقشور الرمان استخدامات عدة حيث تستعمل لمعالجة الاسهال والزحار (6) ، كما تستعمل بعد تجفيفها في علاج قرحة المعدة والاسهال المزمن ويدمل القروح والجراح طلاء وشرا باً (7) واذا نقعت قشور الرمان بالماء وشربت في كل صباح اسقطت الدودة الوحيدة (8) , ونظراً لوجود مشاكل تلوث في بعض منتجات اللحوم وتحديداً منتوج الصوصج المحلي الطازج (بدون تدخين) بالعديد من الاحياء المجهرية الممرضة والمسببة للتلف ، فقد اجري البحث لتحديد دور

مستخلص قشور الرمان في تثبيط نمو *Staph. aureus* مختبرياً فضلاً عن أجراء دراسة تطبيقية لاضافة المستخلص في خلطة منتوج الصوصج وتقييمه مايكروبياً ونوعياً .

المواد وطرائق العمل

اجري البحث في وحدة الامراض المشتركة / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد مستهدفاً تقييم اضافة مستخلص قشور الرمان في تثبيط نمو *Staph. aureus* فضلاً عن دورها كمادة حافظة في صوصج اللحم البقري المصنع محلياً وتقييم صفاته النوعية والحسية .

مستخلص قشور الرمان

تم الحصول على المستخلص باستعمال الماء المقطر البارد وكما ذكرته (9) حيث وزنت كمية من مسحوق قشور الرمان المجفف (5 غم) وأضيف لها (300) مل من الماء المقطر ثم مزجت بالتحريك المغناطيسي لمدة 24 ساعة وفي درجة حرارة الغرفة ، ثم فصل المزيج باستخدام جهاز الطرد المركزي وأخذ الراشح وجفف باستعمال الفرن الكهربائي بدرجة (50) م لمدة 48 ساعة .

بكتريا *Staph. aureus*

استعملت عزلة مشخصة من *Staph. aureus* في وحدة الامراض المشتركة / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد .

أختبار الفعالية التثبيطية لمستخلص قشور الرمان ضد *Staph. aureus*

استعملت طريقة الاقراص الورقية المذكورة في(10) مع بعض التحويرات ، حيث استعملت اوراق ترشيح محضرة على شكل اقراص دائرية بقطر 5 ملم وضعت في انابيب معقمة تحوي (0.5) مل مستخلص قشور الرمان وبتراكيز مختلفة (من 0.10 – 0.48 % وبزيادة تدريجية مقدارها 0.02 %) للحصول على اقل تركيز لازم لتثبيط نمو البكتريا ثم نقلت بواسطة ملقط معقم على طبق بتري مزروع ببكتريا *Staph. aureus* وعلى وسط Brain heart infusion وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م ° لمدة 48 ساعة .

إضافة مستخلص قشور الرمان في منتوج الصوصج

جرى تطبيق اضافة مستخلص قشور الرمان في منتوج الصوصج اللحم المصنع محلياً في معمل شركة الفرات لتصنيع اللحوم المحدودة في محافظة بغداد / جميلة الصناعية وبنسبة 0.22 % من النسبة الكلية مع اختيار نسبة خلطة بهارات تعادل 0.78 % من النسبة الكلية وبواقع ثلاثة

معاملات وهي : الاولى بدون اضافة قشور الرمان والثانية زيادة نسبة البهارات الى 1 % وبدون اضافة مسخلص قشور الرمان والثالثة اضافة مستخلص قشور الرمان بنسبة معينة (تم اختيارها حسب نتائج اختبار الفعالية التثبيطية) ضد بكتريا *Staph. aureus* .

عد البكتريا

بعد اجراء التخافيف العشرية المطلوبة للعينات (ثلاث عينات من كل معاملة) تم تقدير اعداد البكتريا الهوائية الكلية Total Aerobic Count وذلك بحساب اعداد المستعمرات النامية على وسط Nutrient agar وتقدير اعداد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وعلى وسط Mannitol Salt Agar وحسب ما ذكر (11). وجرى عدّ المستعمرات النامية على الوسطين بعد 48 ساعة من الحضن في درجة 37 م وضربت اعداد المستعمرات النامية في مقلوب التخفيف لاستخراج اعداد البكتريا في كل عينة .

التقييم الحسي :

التقييم الحسي تم استناداً لطريقة Vessely (12) وذلك باخذ عينات من الصوصج المصنع و طبخت في فرن كهربائي درجة حرارته 177 ^{0} م ولحين وصول درجة الحرارة الداخلية للحم 80 ^{0}م ثم بردت النماذج و خضعت للتقويم الحسي . وقد شارك في التقويم عشرة أشخاص ممن تتوفر لديهم رغبة و خبرة كافية نسبياً في مجال التقويم الحسي . وقد تم تزويدهم بمعلومات تفصيلية حول طبيعة التقويم مع اجراء تقويم تمهيدي قبل الاختبار الاساس الذي اعتمد في هذا البحث . وقد تم مراعاة التجانس في النقاط التالية بهدف السيطرة على المتغيرات التي قد تؤثر في درجة التقويم وهي : وقت الاختبار في الساعة الحادية عشر قبل الظهر و درجة حرارة الطبخ و المدة الزمنية بين الطبخ و اجراء الاختبار و شرب الماء بدرجة 25 ^{0}م بين اختبار و أخر و اخيراً حجم القطعة المقدمة للتقييم , وقد تم التقويم الحسي للنكهة و الطراوة و العصيرية وفقاً للدرجات الموضحة في الجدول (1) .

الجدول (1): درجات التقييم الحسي المعتمدة

التقدير	النكهة	الطراوة	العصيرية
1	نكهة غير مرغوبة جداً	طراوة قليلة جداً	جاف جداً
2	نكهة غير مرغوبة	طراوة قليلة	جاف
3	نكهة متوسطة	طراوة متوسطة	متوسط
4	نكهة مرغوبة	طري	عصيري
5	نكهة مرغوبة جداً	طري جداً	عصيري جداً

Vessely (12) .

التحليل الاحصائي:

تم تحليل البيانات وفق تجربة التصميم العشوائي الكامل (CRD) , وجرى مقارنة المتوسطات باختبار دنكن متعدد المديات وباستخدام التحليل الاحصائي الجاهز (13).

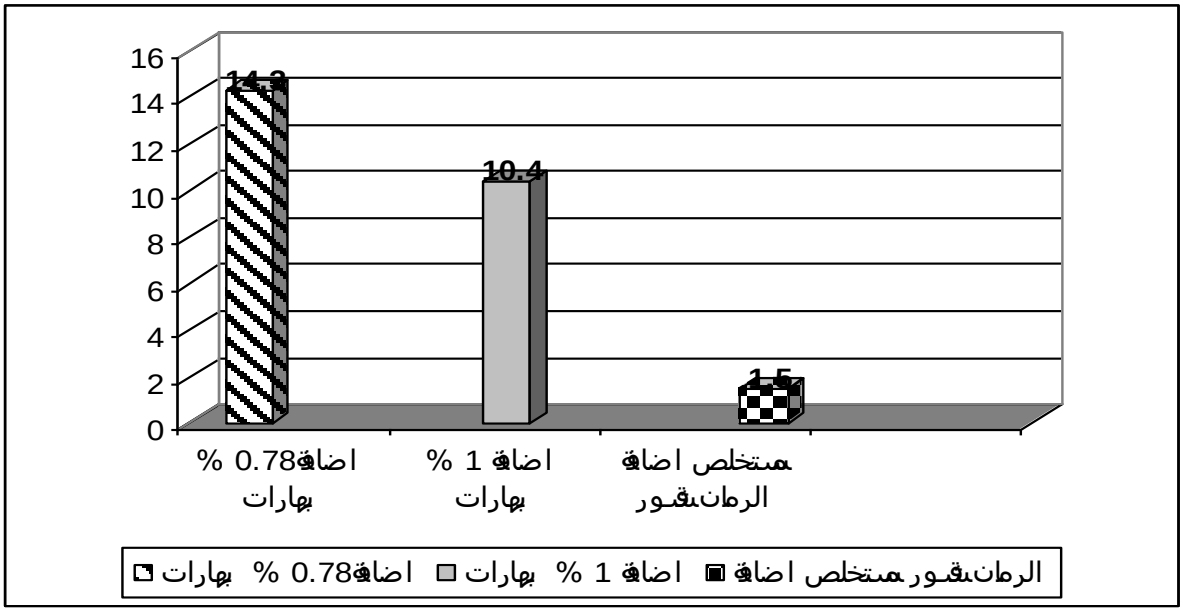
النتائج

بينت النتائج ان اقل تركيز لازم من مستخلص قشور الرمان لتثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* هو 0.22 % لذا تم اختبار هذا التركيز لاضافته مع البهارات الى خلطة الصوصج (الجدول 2) .

الجدول (2): تاثير تراكيز مختلفة من مستخلص قشور الرمان في قطر منطقة تثبيط نمو بكتريا *Staph. aureus* .

التركيز (%)	قطر منطقة التثبيط (ملم)	التركيز (%)	قطر منطقة التثبيط (ملم)
0.10	2.1	0.30	4.2
0.12	2.5	0.32	4.2
0.14	2.7	0.34	4.5
0.16	2.7	0.36	4.5
0.18	2.7	0.38	4.8
0.20	3.2	0.40	4.2
0.22	3.6	0.42	4.9
0.24	3.6	0.44	5.1
0.26	3.7	0.46	5.5
0.28	3.9	0.48	5.5

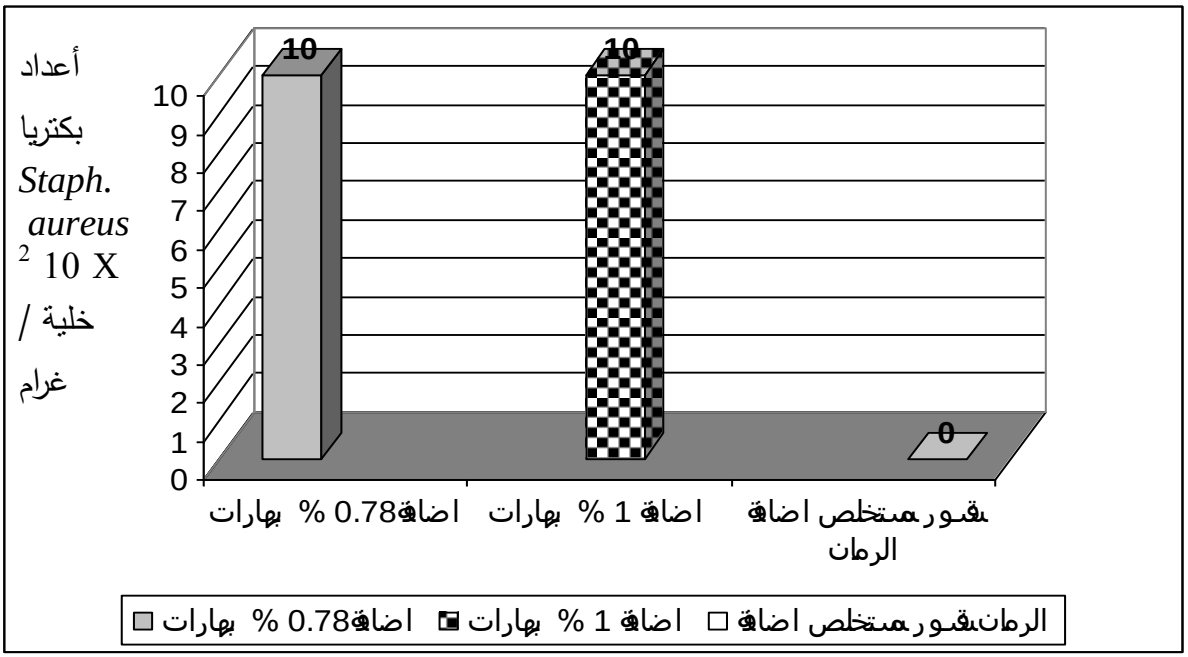
يتضح من الشكل (1) إن اعداد البكتريا الكلية بلغت 14.3 X 10^4 خلية لكل غرام من الصوصج المصنع في معاملة السيطرة (بدون اضافة) قشور الرمان وقد انخفض العدد الى 10^4 X 10.4 خلية / غرام من الصوصج المضاف له بهارات نسبة 1 % مما يشير الى دور زيادة البهارات في خلطه الصوصج في خفض اعداد البكتريا الكلية الا ان اضافة قشور الرمان بنسبة 0.22 % مع النسبة الاصلية للبهارات وهي 0.78 % في المعاملة الثالثة للصوصج ادت الى حدوث انخفاض معنوي كبير في اعداد البكتريا الكلية اذ بلغ العدد 1.5 X 10^4 خلية / غرام .



شكل (1) تأثير اضافة مستخلص قشور الرمان في أعداد البكتريا الكلية في منتوج الصوصج (أعداد البكتريا X 10 ^{4} خلية / غرام)

يتضح من الشكل (2) إن اعداد بكتريا *Staph. aureus* كانت في صوصج المعاملة الاولى (السيطرة) 10 ^{3} خلية / غرام صوصج ولم تنخفض اعداد هذه البكتريا ابداً في صوصج المعاملة الثانية وهي معاملة زيادة نسبة البهار الى 1 % إذ بلغت اعدادها 10 ^{3} خلية / غرام في حين ساهمت المعاملة الثالثة وهي معاملة اضافة 0.78 % بهارات + 0.22 % قشور الرمان في انخفاض معنوي وكبير في اعداد بكتريا *Staph. aureus* اذ لم تعزل من عينات الصوصج ، ويتضح من الجدول (3) ان صفات الفحوصات الحسية للصوصج المصنع في المعاملات الثلاثة لم

تتأثر معنوياً على الرغم من وجود إنخفاض بسيط في صفة النكهة لصوصج المعاملة الثانية نتيجة زيادة نسبة خلطه البهارات المضافة الى 1 % مقارنة بالمعاملتين الاولى والثلاثة .



شكل (2) تأثير اضافة مستخلص قشور الرمان في أعداد بكتريا *Staph. aureus* في منتوج الصوصج (أعداد البكتريا 10 X 2 خلية / غرام)

جدول(3) تاثير اضافة قشور الرمان في التقييم الحسي للصوصج المصنع*

المعاملات	النكهة	الطراوة	العصيرية
0.78 % بهارات	4	4	4
1 % بهارات	3	4	4
قشورالرمان+النسبة الطبيعية من البهارات	4	4	4
المعنوية	N.S.	N.S.	N.S.

* عدد المقومين هو 10.

المناقشة

تعد المنتجات الغذائية المصنعة من اللحم ذات قيمة غذائية عالية وهي في الوقت نفسه من الاغذية سريعة التلف اذا ما حفظت او خزنت بظروف غير جيدة , وتشكل أعداد البكتريا الكلية أحد المؤشرات المهمة للدلالة على النوعية المايكروبية لهذه المنتجات فضلاً عن مستوى أعداد بكتريا *Staph. aureus* كمؤشر لعمليات التصنيع غير الكفؤة او لحالات التلوث في مرحلة ما بعد التصنيع جراء التداول السيء وقد سبق وأن اشارت توصيات جهاز التقييس والسيطرة النوعية لعام 1992 الى ضرورة عدم زيادة اعداد البكتريا الكلية عن 10^6 لكل غرام وبكتريا *Staph. aureus* 10^3 لكل غرام من اللحوم المصنعة وعلى هذا الاساس فان الصوصج المصنع في شركة الفرات لتصنيع اللحوم المحدودة هو ضمن المواصفة القياسية العراقية للحوم بالنسبة لاعداد البكتريا الكلية الا ان اعداد بكتريا *Staph. aureus* مرتفعة نسبياً وقد ساهم اضافة مستخلص قشور الرمان الى انخفاض معنوي في أعداد البكتريا الكلية وبكتريا *Staph. aureus* . مما يشير الى حصول تحسن في النوعية المايكروبية لهذا المنتوج لما لقشور الرمان من أهمية في أحتوائه على العديد من المركبات ذات الاثر التثبيطي لطيف واسع من الجراثيم والاحياء المجهرية الاخرى (9) حيث تساهم مركبات التانينات والراتنج والسكريات والصمغ النباتي بدورٍ كبيرٍ في الحد من نمو البكتريا الموجبة لصبغة كرام وهذا هو السبب الرئيسي لانخفاض أعداد *Staph. aureus* في هذا المنتوج عند اضافة قشور الرمان (14) .

أما بالنسبة للفحوصات الحسية والنوعية فكما اشارت النتائج الى دور زيادة نسبة البهارات في انخفاض درجة التقييم لصفة النكهة بسبب زيادة الطعم الحار واللاذع لزيادة نسبة البهارات في حين لم تظهر اضافة قشور الرمان تغيرات معنوية سواء سلبية او ايجابية في الصفات النوعية والحسية لمنتوج الصوصج مما يشير الى أهمية استعمال قشور الرمان وبنسبة 0.22 % في تحسين النوعية المايكروبية لمنتوج الصوصج وبالتالي زيادة مدة حفظه وتقليل الخطر على الصحة العامة بدون تدهور .

المصادر

1. Townsend,C.C. and Guest,E. (1980). Flora of Iraq ,Vol.4,Part 1.Baghdad : Ministry of Agriculture and Agrarian Reform.
2. Lawrence,G.H.M.(1951).Taxonomy of Vascular Plants. NewYork: The Macmillan Co.
3. Heinrich, M., Rimpler,H. and AntonioBarrera,N. (1992). Indigenous Phytotherapy of Gastrointestinal Disorders in a Lowland Mixe Community (Oaxaca,Mexico): Enthopharmacologic Evaluation", J. Enthopharmacology . 36 : 63-80.

4. قبيسي ، حسان (2004). معجم الاعشاب والنباتات الطبية . منشورات محمد علي بيضون . دار الكتب العلمية . بيروت ، لبنان .

5. عوض الله ، أحمد الصباحي (1984).العلاج بالاعشاب والنباتات الشافية . بيروت ، لبنان .

6. Heinrich , M ., Rimpler,H. and Hor,M.(1995). Inhibition of intestinal chloride secretion by proanthoycyanidins from *Guazuma ulmifolia* . J. Plant Medica . 61 : 208-212.

7. القاضي ، عبد الله ، سعد ، شكري ابراهيم ، صالح ، نجم عبد الكريم محمد وخلف الله ، عبد العزيز محمد (1988) . النباتات الطبيه العطرية والسامة في الوطن العربي ، الخرطوم : المنظمة العربية للتنمية الزراعية .

8. قدامة ، أحمد(1988) . قاموس الغذاء والتاداوي بالنباتات ، بيروت : دارالنعاش .

9. باقر ، ميعاد غالب(2000) .إستعمال بعض الاعشاب الطبية وقشور الرمان في علاج بعض الاصابات الجلدية الفطرية والبكتيرية ، رسالة ماجستير / كلية العلوم / الجامعة المستنصرية .

10. Rios, J. L., Recis, M. C. and A. Villar (1988). Screening methods of natural products with antimicrobial activity : A review of the literature . J. Ethopharmacology . 23 :127-149.

11. Harrigan,W.F. and M.E. McCance .(1979). Labrotary Methods in Food and Dairy Microbiology . Academic Press : London .

12. Vessely , J. A. (1973). Fatty acids and steroids affecting flavour and aroma meat from ram cryptorchild and wether lambs .Can. J. Anim. Sci. 53 : 673-675.

13. SAS .Institute.(2001). SAS/TAT . Guide for Personal Computers . Version 6 Edition SAS Institute Inc, Cary ,N.C.

14. AL-Rawi, A. and H. L. Chakravarty (1988).Medical Plants of Iraq (2^{nd} ed) Baghdad : Ministry of Agriculture and Irrigation .