دراسة فعالية مستخلصات قشور الليمون الحامض والبوملي والكريفون الكحولية والمائية على بعض البكتيريا الممرضة

آلاء عفيف[1]*

(1). مركز بحوث طرطوس، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية ، سورية.

(*للمراسلة : م آلاءعفيف البريدالااكتروني:alaa.afef88@gmail.com ، هاتف:0982179887).

تاريخ الاستلام:2025/02/16 تاريخ القبول: 2025/05/28

الملخص

بهدف إيجاد بدائل طبيعية للمواد الحافظة الكيميائية والتقليل من آثارها الجانبيةُ درست فعالية مستخلصات قشور الكريفون، والبوملي والليمون الحامض على نوعين من البكتيريا الممرضة (*Pseudomonas aeruginosa* و*Escherichia coli*) المعزولة من لحم الفروج حيث جُمعت العينات من أحد المداجن في طرطوس خلال شهر آذار لعام2024 وُنقلت مبردة إلى المختبر وتم تأكيد تشخيصها بزراعتها على الأوساط التمييزية وبالاختبارات الكيمياحيوية. أظهرت النتائج تبايناً معنوياً بين أقطار التثبيط ، حيث تفوق مستخلص قشور البوملي الكحولي عل جميع المستخلصات الأخرى بدلالة احصائية لأقطار التثبيط بلغت mm (14.50)، ثم مستخلص قشور الكريفون الكحولي بدلالة (12.17mm)، ثم مستخلص قشور الليمون الحامض الكحولي بدلالة (11.83mm)، ثم مستخلص قشور البوملي المائي واالكريفون المائي بدلالة (10.67mm)، وأعقبهم مستخلص قشور االليمون الحامض المائي بدلالة (10.00mm)، ثم المضادات الحيوية الجنتامايسين بدلالة (9.67mm)، و الفوسفومايسين بدلالة (5.83mm)، بالتالي مستخلصات قشور الليمون الحامض والبوملي والكريفون المائية والكحولية تظهر فاعلية مشجعة قد تؤهلها كمضادات ميكروبية طبيعية.

كلمات مفتاحية: *Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، ليمون، بوملي، كريفون.

المقدمة

يتجه اهتمام المصنعين الغذائيين اليوم إلى استخدام البدائل الطبيعية كمواد حافظة نتيجة ازدياد طلب المستهلكين على الأطعمة ذات العمر التخزيني الطويل والجودة العالية، والخالية من المخاطر الناتجة عن نمو الأحياء الدقيقة الممرضة والمنقولة بالأغذية والمواد الحافظة الصناعية حيث أنه بالرغم من استخدام طرائق حفظ مختلفة فإنه لا يزال التسمم الغذائي يحتل اهتماماً كبيراً سواء من المستهلكين أو من مصنعي الأغذية كما إن الاستعمال غير المضبوط للمواد الحافظة الكيميائية (ذات الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة) قد حرض على ظهور سلالات بكتيرية ذات مقاومة عالية للعوامل المضادة للأحياء الدقيقة.

يعد لحم الدجاج من البروتينات سهلة الهضم والتحضير وغذاء صحي أسعاره معقولة وهذا ما أدى إلى زيادة استهلاكه واعتباره من الأغذية الأكثر شعبية في كل أنحاء العالم، ولكنه بنفس الوقت يزيد احتمال حدوث التسمم الغذائي للمستهلكين كلما كان ملوثاً بالبكتيريا الممرضة وخاصة بكتيريا الإيشريكية القولونية (*Escherichia coli*) وبكتيريا الزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*) (Saranraj *et al*., 2016).

تسبب الإيشريكية القولونية (*Escherichia coli*) أمراضاً خطيرة للإنسان من أهمها التهاب المثانة والتهاب حويضة الكلية (Alain, 2005)، كما تسبب تجرثم الدم فضلاً عن دورها في إحداث أخماج الجروح (Jawetz *et al* ., 2013)، وأمراض القناة التناسلية (Gyles, 2007)، وتعد واحدة من أكثر الأسباب شيوعاً لحدوث اسهال الأطفال وكبار السن في جميع أنحاء العالم (Enayat *et al.*, 2011).

يمكن أن تنتج بكتيريا الزائفة الزنجارية (*Pseudomonas aeruginosa*) مجموعة متنوعة من البروتينات الضارة التي تسبب ضرراً في الأنسجة وتتداخل أيضاً مع آليات الحماية في الجهاز المناعي كما أنها تتميز بقدرتها على التسبب في المرض ومقاومتها للمضادات الحيوية(Sekhi *et al*., 2022). كما تسبب الإصابة بالالتهاب الرئوي في المستشفيات و التهابات المسالك البولية و التهاب العظام والمفاصل (Sathe *et al.*, 2023).

وقد أشار Badr(2016) وزملائة إلى خطورة البكتيريا المنتقلة عبر الغذاء على الصحة العامة، كما ذكر Zhao (2011) وزملاؤة أن تلوث لحم الدجاج بالبكتيريا دليل عدم تطبيق الشروط الصحية في محلات التسويق. كما تمكن Abd Elzaher (2018) وزملاؤة من عزل الإيشريكية القولونية من أجزاء الذبائح المختلفة، و تعد منتجات اللحوم غير المطبوخة جيداً سبباً في نقل الزائفة الزنجارية (Salem *et al*., 2014) كما أنها تنتقل عن طريق الخضروات والماء (Tutun *et al* ., 2023).

تعد الحمضيات غذاءً مهماً للإنسان وتشمل ثمارها التي تنتمي إلى عائلة Rutaceae، أصنافاً مستهلكة على نطاق واسع مثل الليمون الحامضCitrus limon والكريفون Citrus paradisi والبوملي Citrus Maxima، كما تعد مخلفاتها (القشور) ذات قيمة كبيرة، لأنها تحتوي على كمية كبيرة من مركبات الفلافونويد المختلفة (Sharma *et al*., 2017) بما في ذلك الهيسبيريدين، والنارينجين، والنوبيليتين، والأنثوسيانين، والكومارين (Elisa *et al*., 2013)، وإعادة استخدام هذه المخلفات بطريقة مناسبة تمنح المستهلكين حماية صحية بالإضافة إلى التقليل من التأثير البيئي غير المرغوب (Ramful *et al*., 2011). يمكن استخدام مستخلصات قشر الليمون وعصير الليمون مع الكركم في السيطرة على نمو الفطريات، ففي دراسة نفذها Shaltout (2019) وزملائة أظهرت النتائج أن مستخلصات ثمار الليمون والكركم وقشر الليمون تمنع نمو العفن وتطيل العمر الافتراضي للحوم فيليه الدجاج المعالجة المبردة. كما يمكن استخدام الزيوت الأساسية للحمضيات في مستحضرات التجميل، وكبديل عن العطور الاصطناعية وهي آمنة وصديقة للبيئة(Ngan *et al*., 2021). لقد بينت دراسة Yahya(2021) وزملاؤة أنه يمكن استخدام قشور الليمون كمضادات للأكسدة ومضادات للميكروبات، كما يمكن إضافة مضادات الأكسدة الطبيعية المستخرجة من قشر البوملي إلى الزيت لمنع التزنخ التأكسدي(Kumar *et al*., 2019). تعزى فاعلية قشور الكريفون للمكونات الكيميائية النباتية من قلويدات وفلافونويدات وجليكوسيدات وسابونين وستيرولات وعفص وتربينات (Sahlan *et al*., 2024). حيث يمكن لهذه المركبات باعتبارها عوامل مضادة للميكروبات أن تتغلغل في غشاء الخلية شبه المنفذ وتتفاعل مع السيتوبلازم أو البروتينات الخلوية . (Shoba *et al*., 2023)

مبررات البحث وأهدافه

تعد مخلفات الحمضيات (القشور) ذات قيمة كبيرة فهي مصادر غنية بالمركبات النشطة بيولوجياً كالفلافونويد والليمونويد والزيوت الأساسية والمركبات الفينولية، والتي ثبت أنها تمتلك خصائص مضادة للميكروبات ولأن المواد الحافظة الصناعية لها الكثير من المخاطر تم تنفيذ هذه الدراسة لمعرفة فاعلية مستخلص قشور الكريفون والبوملي والليمون الحامض على بعض البكتيريا التي تم عزلها من لحم الفروج والتي اذا وصلت إلى الإنسان تسبب الكثير من الأمراض له في اطار الاستفادة من قشور الحمضيات في تحضير مواد حافظة طبيعية كبديل عن المواد الحافظة الصناعة والتقليل من آثارها الضارة اضافة لقدرة هذه البكتيريا لتشكيل مقاومة لكثير

من المضادات الحيوية اذا ما تم استخدامها بشكل عشوائي لذلك تم مقارنة هذه المستخلصات الطبيعية مع بعض المضادات التجارية فوسفومايسين(30µg)، جنتامايسين(10µg) والتالي استخدام هذه القشور كمضادات طبيعية بديل التجارية.

مواد البحث وطرائقه

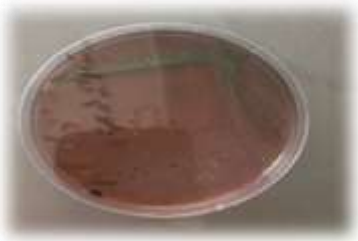
- **الزرع الجرثومي والكشف عن البكتيريا:**

جمعت عينات لحم الفروج الطازجة (فروج يتم تشريحه وأخذ الكبد للتحليل) من طيور مشتبه بإصابتها في أحد المداجن الواقعة في دحباش التابعة لمدينة طرطوس بواقع3 عينات للكشف عن كل جرثومة خلال شهر آذار لعام2024 ونقلت مبردة إلى المختبر وأخذ منها مسحات وزرعت على المرق المغذي وحضنت على درجة حرارة 37م لمدة24 سا ثم تم تفريق البكتيريا المدروسة بزراعتها على الأوساط التشخيصية كالتالي:

- تم الكشف عن وجود الإيشريكية القولونية مخبرياً حيث زُرعت كل عينة على وسط آجار ماكونكي(McC) ووسط أيوزين أزرق الميثيلين(EMB) وحضنت على(37) مْ لمدة (24) ساعة، ثم خضعت المستعمرات النامية المشتبه بها لإعادة الزرع على الأوساط السابقة بهدف عزل البكتيريا وتأكيد وجودها وحُضنت على (37) مْ لمدة (24) ساعة بعد التحضين ظهرت المستعمرات حمراء وردية علـى(McC) وخضراء لماعة على(EMB) (Quinn., 2002).
- تم التأكد من وجود الزائفة الزنجارية مخبرياً حيث زُرعت كل عينة على آجار ماكونكي (McC) وآجار مغذي (N) والتحضين عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 سا حيث تم تأكيد تشخيص الزائفة الزنجارية اعتماداً على الخصائص الزرعية والمظهر المورفولوجي فهي تنتج مستعمرات زرقاء مخضرة ذات رائحة مميزة تُشبه رائحة العنب على الأوساط البكتريولوجية و يمكن عزلها كمستعمرات شفافة على آجار ماكونكي(Salem *et al*., 2014).

تم التأكد من هوية البكتيريا من خلال:

1–التفريق بصبغة غرام: أُخذ عينـات من المستعمرات النامية وُصبغت بصبغـة غـرام وُفحصت مجهريـاً، حيث ظهرت بعد الصبغ حمراء اللون دليل سلبيتها لهذه الصبغة(Quinn., 2002).



مستعمرات الايشريكية القولونية على EMB خضراء لماعة

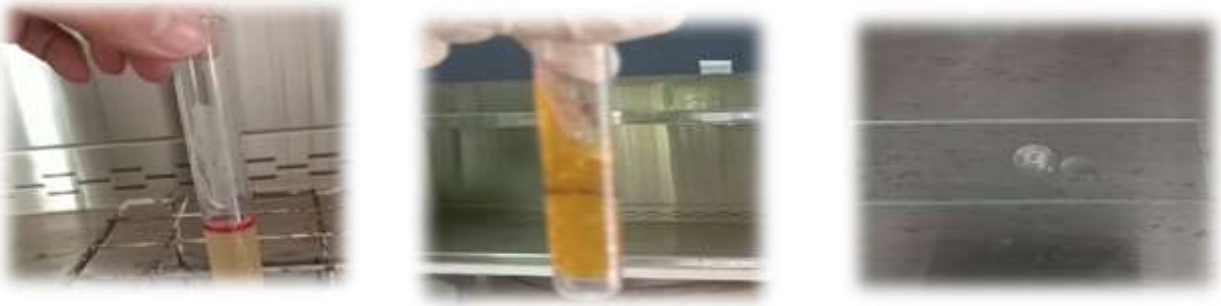
مستعمرات الايشريكية القولونية على ماكونكي حمراء وردية

مستعمرات الزائفة الزنجارية على ماكونكي شفافة

الشكل(1): المستعمرات النامية للايشريكية القولونية و الزائفة الزنجارية على الأوساط التشخيصية.

2–الاختبارات الكيميا حيوية: بهدف تأكيد تشخيص الإيشريكية القولونية تم تنفيذ الاختبارات الكيميا حيوية التالية: إنتاج الاندول، اختبار استهلاك السترات، اختبار ثلاثي السكر والحديد، اختبار الكاتلاز(Quinn., 2002).

وبهدف تأكيد تشخيص الزائفة الزنجارية تم تنفيذ الاختبارات الكيميا حيوية التالية: اختبارات الكاتالاز والأوكسيديز ثلاثي السكر والإندول وأحمر الميثيل وفوجيس بروسكاور واستخدام السترات (Midhat and Abed, 2023; Kebede,2010).



اختبارالكاتلاز للايشريكية القولونية(+) اختبار ثلاثي السكر للإيشريكية القولونية اختبارالاندول الايشريكية القولونية(+)

الشكل(2): الاختبارات الكيميا حيوية (+: اختبار موجب ، -: اختبار سالب)

اختبار الاوكسيديز للزائفة الزنجارية(+) اختبارالسترات للايشريكية القولونية(-) اختبارالسترات للزائفة الزنجارية(+)

الشكل(3): الاختبارات الكيميا حيوية (+: اختبار موجب ، -: اختبار سالب)

اختبار الكاتلاز للزائفة الزنجارية(+) اختبار ثلاثي السكر للزائفة الزنجارية اختبارالاندول للزائفة الزنجارية(-) اختبارفوجس بروسكاورV (-) وأحمرالميثيلMR(-)

الشكل(4): الاختبارات الكيميا حيوية (+: اختبار موجب ، -: اختبار سالب)

- **تحضير المستخلصات:**

جُمعت ثمار الكريفون والبوملي والليمون الحامض (البلدي) من السوق المحلية في مدينة طرطوس وغسلت وقشرت وُجففت القشور في فرن كهربائي على درجة حرارة 40مْ ثـــم طحنت بواسطة مطحنة Blender و حفظت فـــي عبوات زجـــاجية لـــحين الاستخدام (Ibrahim *et al*., 2018).تم استخدام الإيثانول(95%) ، والماء بشكل منفصل لاستخراج المركبات النشطة بيولوجياً من القشور، أخذ (10) غرام بودرة لكل نوع من القشور مزجت مع 100مل من كل مذيب على حده ، وتركت على درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة، ثم تم ترشيح المستخلصات باستخدام ورق الترشيح (Whatman No.1)، أعقبها تبخير المذيبات (المائي والكحولي) باستخدام المبـــخر الـدوار للحصول على خليط مركز وحفظ النـاتج فـــي المجمدة علـى درجة حـرارة-18 لـــحين الاستخـــدام (Emmanuel *et al*., 2021).

اختبرت المستخلصات بطريقة الانتشار بواسطة الأقراص حيث أذيب (10µg) من كل مستخلص لوحده في (10µl) محل DMSO (sulfoxide Dimethyl) ثم شربت أقراص الترشيح المعقمة قطرها 6 مم بالمستخلص وتركت على درجة حرارة الغرفة لتجف داخل كبينة الزرع الجرثومي المعقمة، ثم فرشت المستعمرات الجرثومية على وسط Mueller Hinton agar (المحضر بإذابة38 غ بودرة في 1000 مل ماء مقطر وتعقيمها في الصاد الموصد(Autoclaving at 121C for 20-min) ، ووضعت أقراص الترشيح المشربة على سطح الطبق وحُضّنت الأطباق على درجة 37 مْ لمدة 24ساعة، وتم قراءة النتائج بقياس قطر هالة التثبيط الجرثومي بواسطة مسطرة مدرجة (mm). كما تم استخدام نوعين من المضادات التجارية الفوسفومايسين(30µg)، والجنتامايسين (10µg) حيث تم استخدام ثمانية مضادات منها6 طبيعية(مستخلصات) و2 تجارية يوضحها الجدول (1).

الجدول (1): المستخلصات والمضادات ورموزها

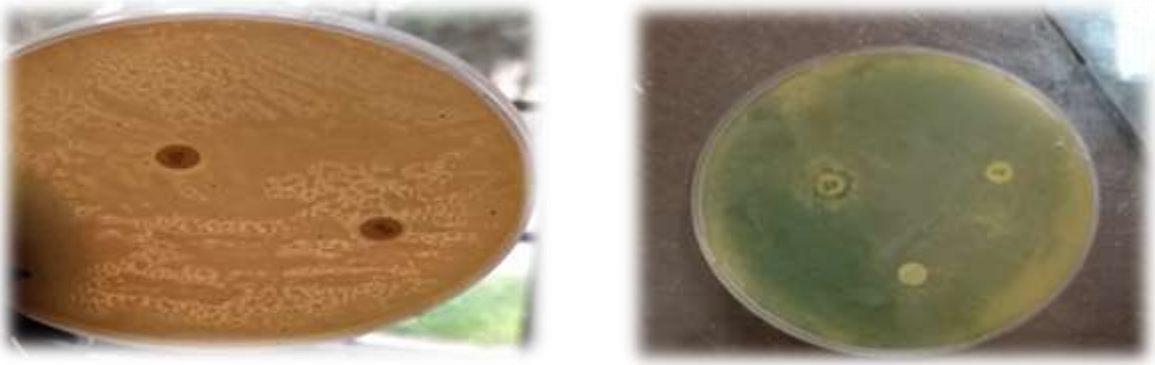
رمز المستخلص	مكونات المستخلصات الطبيعية والمضادات التجارية
M1	**مستخلص قشور البوملي المائي**
M2	**مستخلص قشور البوملي الكحولي**
M3	**مستخلص قشور الكريفون المائي**
M4	**مستخلص قشور الكريفون الكحولي**
M5	**مستخلص قشور الليمون الحامض المائي**
M6	**مستخلص قشور الليمون الحامض الكحولي**
M7	**الجنتامايسين (10µg)**
M8	**الفوسفومايسين(30µg)**

- **اختبار التحسس للمضادات الحيوية:** تم إجراء اختبار التحسس للمضادات الحيوية جنتامايسين(10µg)، فوسفومايسين(30µg) واختبار فاعليتها، وذلك بطريقة انتشار القرص Disc diffusion method حسب كيربي باور Kirby Bauer Technique (Kremples.,2005)حيث نقلت الزرعات (مستعمرات الإيشريكية القولونية والزائفة الزنجارية المشخصة) إلى أطباق مولر هنتون، ووزعت أقراص المضادات الحيوية باستخدام ملقط على سطحها، وحُضنت لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 مْ وبعد التحضين ظهرت هالات يرتبط قطرها طرداً مع فاعلية الصاد حيث تم قياس قطرها بواسطة مسطرة مدرجة وسجلت القراءات والبيانات أصولاً.

اختبارالتحسس للمستخلصات (يمين كحولي-يسارمائي) للزائفة الزنجارية

اختبارالتحسس للمستخلصات (يمين كحولي-يسارمائي) للإيشريكية القولونية

الشكل(5): اختبار فاعلية قشور الكريفون والبوملي والليمون الحامض على بكتيريا الزائفة الزنجارية والإيشريكية القولونية



اختبار التحسس للمضادات الحيوية للزائفة الزنجارية

اختبار التحسس للمضادات الحيوية للإيشريكية القولونية

الشكل(6): اختبار فاعلية المضادات الحيوية على بكتيريا الزائفة الزنجارية والإيشريكية القولونية

التحليل الإحصائي

تم تنفيذ البحث باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة في التجارب العاملية. تضمن البحث عاملين الأول نوعين من البكتيريا بكتيريا الإيشريكية القولونية والزائفة الزنجارية. والثاني ثمانية مستخلصات، ستة طبيعية هي مستخلصات قشور الليمون الحامض والبوملي والكريفون المائية والكحولية، واثنان تجارين الجنتامايسين والفوسفومايسين تم تحليل التباين (ANOVA) باستخدام برنامج GenStat-12 وحساب أقل مدى معنوي (LSR) باختبار دنكان عند مستوى معنوية 1%.

النتائج والمناقشة

تشكل قابلية اللحوم ومنتجاتها للأكسدة والتدهور الميكروبي خطراً على الجودة الغذائية والسلامة ومدة صلاحية المنتج لذا تم استخدام العديد من المواد الحافظة الصناعية والتي تساعد في حفظ المنتجات لكن الاستخدام العشوائي لها يمكن أن يسبب ظهور المقاومة الجرثومية والتي تعتمد على عدة آليات مثل إنتاج الإنزيمات المحللة للأدوية، التغيرات في نفاذية البكتيريا للأدوية، والتغيرات في مستقبلات الدواء على المستوى البكتيري، والتغيرات البكتيرية ببنية جدار الخلية، والوصول إلى المسارات الأيضية الفرعية والتي تعوض عن رد الفعل المثبط للدواء، والذي ينتقل إما من بكتيريا إلى أخرى من خلال طفرة عفوية في الجينات التي تتحكم القابلية البكتيرية أو من خلال نقل البلازميد (Azizpour and Ghazaei, 2020). لذا من المهم ايجاد بدائل طبيعية عنها آمنه كمستخلصات قشور الحمضيات مرتفعة المحتوى من المركبات النشطة بيولوجياً، حيث تقلل من معدل الأكسدة الذاتية ونمو الميكروبات، مما يُطيل مدة صلاحية المنتجات المحفوظة باستخدام مكونات طبيعية .إن قدرة هذه المواد الحافظة الطبيعية على تأخير إنتاج الأمينات الحيوية ومركبات التلف الأخرى تُقدم فوائد عديدة لصناعة اللحوم، بما في ذلك إطالة مدة الصلاحية وزيادة رضا المستهلك وتقليل هدر الطعام ونتيجةً لذلك ركزت العديد من الأبحاث على استكشاف قدرات المواد الحافظة الحيوية لتحسين جودة اللحوم وسلامتها ومدة صلاحيتها (Aguirr *et al.*, 2023).

تم تنفيذ هذه الدراسة لمعرفة فاعلية مستخلصات قشور الكريفون والبوملي والليمون الحامض على بعض البكتيريا المعزولة من لحم الفروج (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) ومقارنتها مع بعض المضادات التجارية فوسفومايسين(30µg)، جنتامايسين(10µg) وبالتالي استخدام هذه القشور كمضادات طبيعية بديل التجارية. يوضح الجدول (2) النتائج حيث تباينت مقاومة الجرثومتين للمضادات المستخدمة بدلالة معنوية عالية جداً وكان قطر التثبيط للإيشريكية القولونية (11.5mm) أكبر من قطر التثبيط للزائفة الزنجارية والذي بلغ (9.83mm) بالتالي بكتيريا الزائفة الزنجارية أكثر مقاومة وهذا يدل على خطورة هذه الجرثومة وصعوبة معالجتها بسبب قدرتها العالية على المقاومة وهذا يتوافق مع ما ذكره

Pachori وزملاؤه(2019) حيث يصعب علاج العدوى التي تسببها هذه البكتيريا نظراً لمقاومتها الفطرية للعديد من المضادات الحيوية وقدرتها على اكتساب آليات مقاومة إضافية لفئات متعددة من المضادات الحيوية بما في ذلك بيتا لاكتام وأمينوغليكوزيدات وفلور أوكينولون. كما يوضح الجدول (2) وجود تباين معنوي بدلالة عالية جداً بين المضادات المدروسة فكانت المستخلصات الكحولية الأكثر تثبيطاً حيث تفوق قطرها على المستخلصات المائية والمضادات التجارية حيث بلغت الدلالة الاحصائية لأقطار التثبيط لمستخلص قشور البوملي الكحولي (14.50mm) يليه مستخلص قشور الكريفون الكحولي بدلالة احصائية لأقطار التثبيط بلغت (12.17mm)، يليه مستخلص قشور الليمون الحامض الكحولي بدلالة بلغت(11.83 mm)، يليه مستخلص قشور الكريفون المائي و مستخلص قشور البوملي المائي بدلالة احصائية لأقطار التثبيط بلغت(10.67mm) يلية مستخلص قشور الليمون الحامض المائي بدلالة بلغت(10.00mm) ثم المضادات الحيوية الجنتامايسين بدلالة بلغت(9.67mm) والصاد فوسفومايسين بدلالة بلغت (5.83mm). وقد يعود تفوق المستخلصات الكحولية على المائية لذوبان العديد من المركبات الفعالة في الكحول أما تفوق المستخلصات الكحولية والمائية على التجارية فيعود لاحتوائها العديد من المركبات النشطة والفعالة مثل الفلافونويد والسابونين والقلويد والجليكوسيد (Sakile *et al*., 2023)، كما يتبين من الجدول(2) الفروق المعنوية بين المعاملات التوافقية وبدلالة إحصائية عالية جداً حيث كانت الإيشريكية القولونية مع مستخلص البوملي الكحولي بدلالة بلغت(18.33)، يليه الإيشريكية القولونية مع مستخلص قشور الليمون الحامض الكحولي بدلالة بلغت(14.00)، يليه الإيشريكية القولونية مع مستخلص قشور الكريفون الكحولي بدلالة بلغت(12.67) ثم تتالت القيم.

الجدول (2): أقطار هالة التثبيط الجرثومي بتأثير المستخلصات المدروسة

متوسط هالة التثبيط للبكتيريا (mm)		متوسط هالة المستخلصات (mm)		متوسط هالة (البكتيريا×المستخلصات) (mm)	
E: الايشريكية القولونية	11.5 **a**	**M1: البوميلي المائي**	10.67 **d**	E×M1	12.67 **bc**
P: الزائفة الزنجارية	9.83 **b**	**M2: البوملي الكحولي**	14.50 **a**	E×M2	18.33 **a**
المعنوية	***	**M3: الكريفون المائي**	10.67 **d**	E×M3	10.67 **de**
CV%	9.2	**M4: الكريفون الكحولي**	12.17 **b**	E×M4	12.67 **bc**
		M5 : الليمون الحامض المائي	10.00 **d**	E×M5	12.00 **cd**
		M6 : الليمون الحامض الكحولي	11.83 **b**	E×M6	14.00 **b**
		M7: جنتامايسين (10µg)	9.67 d	E×M7	07.33 **g**
		M8: فوسفومايسين (30µg)	5.83 **e**	E×M8	04.33 **h**
		المعنوية	***	P×M1	08.67 **fg**
		CV%	9.2	P×M2	10.67 **de**
				P×M3	10.67 **de**
				P×M4	11.67 **cd**
				P×M5	08.00 **fg**
				P×M6	9.67 **ef**
				P×M7	12.00 **cd**
				P×M8	07.33 **g**
				المعنوية	***
				CV%	9.2

تدل الرموز ..... a,b,c, على وجود فروق معنوية

تدل* على معنوية عالية جداً**

هذه النتائج تتفق مع نتائج البحث الذي قام به Adomi and Oyubu (2023) والذي أظهر أن لمستخلص قشور الليمون الايتانولي فاعلية على بكتيريا (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sp*) وأقطار التثبيط (18 ,15 ,15 , 17 mm) على التوالي. ومع دراسة أخرى (El-Kholany *et al.*, 2022) حيث أظهرت قشور الليمون فاعلية على بكتيريا (*Salmonella typhimurium* ,*Pseudomonas aeruginos*) و أقطـــار التثبيط (0, 12 ,28 mm) للتراكيز (50,75,100) على التوالي وهي أقل من الصاد كيتوكونازول من حيث قطر التثبيط(35mm).

كما تتفق النتائج مع الدراسة التي نفذها Younus, وزملاؤه(2023) والتي أظهر فيها مستخلص قشور الليمون الايثانولي فاعلية على بكتيريا (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus , Klebsiella epidermidis*) بأقطار تثبيط بلغت(14.5mm−17.1−15−14.1) على التوالي وتأتي هذه الفاعلية من احتواء مستخلصات الليمون الحامض على الفلافونويد، والسابونين، والقلويد، والجليكوسيد(Uwumuremyi *et al.*, 2025).

كما تتفق هذه النتائج مع نتائج دراسة أخرى قام بها Sahlan وزملاؤه (2014) و أظهرت نتائجه أن مستخلص قشر الكريفون فعال في تثبيط نمو البكتيريا وأن الإختلاف في التركيزات كان له دوراً كبيراً في اختلاف أقطار التثبيط حيث أبدت كل مـــــن *E.coli* و *P. aeruginosa* تثبيطاً كـاملاً بمقدار (10mm) في تركيزات 75% و 95 %من المستخلص مـــن ناحية أخـــرى، أعـــطت *Staphylococcus aureus* نشاطاً مثبطاً طفيفاً بمتوسط منطقة تثبيط (10mm) مقـــابل تـــركيز المستخلص 75 % وأنتـــــجت *Staphylococcus. aureus* نشاطاً مثبطاً جزئياً بمتوسط منطقة تثبيط (10mm) مقابل تركيز 95% ، وبالمقارنة فإن المضاد الحيوي ليفوفلوكساسين أعطى أقطار تثبيط بلغت (17.92mm) و (16.85mm) لتركيز 75 % للبكتيريا على التوالي بينما عند تركيز 95 %من المستخلص، أعطى ليفوفلوكساسين أقطار تثبيط بلغت (18.73mm) و (18.70mm) على التوالي.

كما تتفق مع ما توصل إليه Suklampoo (2012) وزملاؤه في دراسته لفاعلية مستخلصات البوملي (هكسان –خلات الايتيل) على بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية، العصوية الشمعية، العصوية الرقيقة، الليستيريا المستوحدة، الإشريكية القولونية، السالمونيلا التيفية من حيث قدرة هذه المستخلصات التأثير في البكتريا. ومع (Hasan *et al.*, 2022) حيث يمكن استغلال قشور الحمضيات كمكونات مضادة للبكتيريا ومضادات أكسدة والتي يمكن لها أن تحمي جسم الإنسان من الجذور الحرة وتؤخر تقدم العديد من الأمراض المزمنة. ومع نتائج Ali (2017) وزملاؤة حيث يمكن استخدام قشر ثمار الليمون كمضاد لسلالتين من البكتيريا (*Staphylococcus aureus*) والأخـــرى(*Escherichia coli*). ومع ما أكدته دراسة Edogbanya وزملاؤه (2019)على التأثير التثبيطي لقشور الليمون فـــي بعض أنواع البكتيريـــا (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*)، بجانب أنها تشكل قيمة مضافة إلى قطع اللحم المتبلة بهـــا (Disha *et al* ., 2022).

تعزى فاعلية قشور البومـلي لاحتوائه الفلافونويدات والكومارين والفينيل بروبانويدات والفينولات والستيرويدات (Abiq *et al.*, 2023) وتعود فاعلية مستخلصات الكريفون لاحتوائها نسبة كبيرة من النارينجين والفلافونويـــد (Han *et al.*, 2021). حيث تعتبر قشور الحمضيات مصدر جيد للتانينات والأحماض الفينولية والفلافونويدات وهي من أهم المواد الكيميائية المستخدمة في قطاعي الأغذية والأدوية ولها العديد من التأثيرات البيولوجية، كخصائصها المضادة للأكسدة والبكتيريـا والسرطان والالتهابـات ومضادات السكـري (Sakile *et al.*, 2023) كما أن معظم المركبات النشطة بيولوجياً الموجودة في هذه القشور يمكن استخدامها كمواد حافظة طبيعية، والتي تمنع أكسدة الدهون ونمو الميكروبات في الأطعمة حيث أن لهذه المواد الفعالة الفة للتفاعل مع مكونات الخلية لوجود

مواقع مستهدفة متعددة ضد الخلايا البكتيرية على جدار الخلية ونواقل مناسبة تنقل مكوناتها لداخل الخلية لتوقف عمل الانزيمات، حيث للعفص قدرة على تعطيل تكوين الببتيدوجليكان وتعطيل الغشاء البكتيري (Villanueva *et al*., 2022)، وتمتلك التربينويدات تأثيراً مضاداً للميكروبات من خلال تثبيط ATP وإنزيمه و تثبيط تخليق البروتين وتدمير غشاء الخلية حيث تستخدم التربينويدات بشكل أساسي قدرتها المحبة للدهون لتدمير غشاء الخلية للبكتيريا، كما تعمل القلويدات علـــــى منع انقسام السيتوبلازم للخلية البكتيريــة (Huang *et al*., 2022). واختلاف أقطار التثبيط بين الدراسات يعزى لاختلاف الأنماط المصلية للبكتيريا والموقع الجغرافي لعينات الثمار وطريقة الاستخلاص والتركيز المدروس وقد يعزى التباين بين المستخلصات لاختلاف نسب المواد الفعالة في القشور(Edogbanya *et al*., 2019)، بالتالي الاهتمام بمستخلصات قشور البوملي والكريفون والليمون الحامض والتي يمكن الاستفادة منها بقطاع الصحة البشرية والصحة الحيوانية والصناعات الغذائية.

الاستنتاجات

– لوحظ فاعلية مستخلصات قشور الليمون والبوملي والكريفون المائية والكحولية على بكتيريا الإيشريكية القولونية والزائفة الزنجارية.

– لوحظ تفوق مستخلص قشور البوملي الكحولي على باقي المستخلصات والمضادات الحيوية بدلالة احصائية لأقطار التثبيط بلغت (14.50mm).

– حساسية بكتيريا الإيشريكية القولونية للمستخلصات المدروسة أعلى من الزائفة الزنجارية.

التوصيات

– استخدام مستخلصات قشورالبوملي والكريفون والليمون الحامض المائية والكحولية كمضادات طبيعة للميكروبات.

– تطبيق ممارسات النظافة الصارمة على طول سلسلة الغذاء.

–اطلاع العاملين في مجال اللحوم والمستهلكين لخطورة وصول هذه البكتيريا إليهم.

– الاستخدام الحكيم للمضادات الحيوية في تصنيع الأغذية لتجنب ظهور المقاومة الجرثومية وانتقالها للإنسان.

– تنفيذ اختبار ميداني لاستخدام المستخلصات في حفظ المواد الغذائية المختلفة مع مراقبة تأثيراتها في التطبيق العملي.

المراجع

Abd Elzaher .M; S.A .Ebeed; A.Reem ;T. Ibrahim; and S. Madiha (2018). Studies on the Prevalence of *E. coli* in Chicken Carcasses in Abattoirs and its Antibiotic Sensitivity. Alexandria Journal of Veterinary Science.58 (1): 132-138.

Abiq,M ;and S. Marfuah(2023).Chemical Content and Pharmacology of Pomelo Orange (Citrus Maxima) Fruit Peel. International Conference on Sustainable Chemistry. 481.

Adomi .P. O ;and L.O. Oyubu (2023).Effect of Citrus limon (lemon) Peels and Seeds on Bacteria Isolated From Nose . Nigerian. Journal Pure & Applied Sciences.36.

Aguirre . A ; T. Pineiro-V azque;J.R. Sangin es-GarcIa ; A. S anchez Zarate ; A. AFlores;M.Segura-Campos;E.Vargas-Bello-Perez ; and A. Juventino Chay-Canul.(2023) . Using plant-based compounds as preservatives for meat products: A review Gabriel Olvera. Heliyon. 9(6): 17071.

Alain, L.S (2005). Mechanism by which the disease is thought to be induced: ETEC, EPEC, EHEC, EAEC, DACE, EAEC. Clinical Microbiology Rev. 18:264-292.

Ali.j.,T.A. BISWAJI; and T. SAIKI (2017).Antimicrobial Activity Of Lemon Peel (Citrus Limon) Extract Junab. International Journal of Current Pharmaceutical Research.9 (4): 0975-7066.

Azizpour,A., Ghazaei,C (2020).Evaluation of Antibiotic Resistance Pattern of *Escherichia coli* Isolated From Broiler Chickens With Colibacillosis in Ardabil Province. International journal of basic science in medicine 5(4):125-130.

Badr .H ;M. AlAtfeehy; N. Nasef ;and A. Soad (2016). Detection of food borne pathogens from retail chicken. Benha Veterinary medical Journal.31 (2): 276 -282.

Disha. M.N.A;M.A. Hossain ;T.M. Kamal;M.M Rahman; and A.M.Hashem (2020).Effect Of Different Level Of Lemon Extract On Quality And Shelf Life Of Chicken Metaballs During Frozen Storage. SAARC Journal of . Agriculture. 18(2): 139-156.

Edogbanya .P.R.O; M.O.Suleiman ;and O.Oijagbe (2019).Comparative study on the antimicrobial effects of essential oils from peels of three citrus fruits. MOJ Biology and Medicine. 4(2):49–54.

Elisa .L; A.Ignacio; and R.Javier (2013). Improving the pressing extraction of polyphenols of orange peel by pulsed electric fields. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 17:79-84.

El-Kholany .El A;A. El-Deeb ;and D.El Sheikh(2022). Impact of lemon peel extracts utilization on the biological values of the Labneh during storage. Egyption Journal Agricultural Research.100 (4):555-569.

Emmanuel, SE; EO .Ehinmitan; RS. Bodunde ;and JC. Joseph(2021). Antimicrobial Activity of Zingiber Officinale and Allium Sativum on some Drug Resistant Bacterial Isolates. Journal of Applied Sciences and Environmental Management . 25 (6) :1053-1058.

Enayat, K; F .Sohili; H .Salimi; D .Soltan and M. Mohammad (2011). Frequency, Antimicrobial susceptibility and plasmid profiles of *Escherichia coli* pathotypes obtained from children with acute diarrhea. Jundishapur J ournal of Microbiology.4(1), 23-28.

Gyles, C. L. (2007). Shigatoxinproducing *Escherichia coli*. Journal of Animale Sciences. 85:45-62.

Han,H ; Kwak,J ;T. Jang; J.Knowles;H. Kim ;and H. Lee,. and Jung-Hwan Lee. (2021) Grapefruit Seed Extract as a Natural Derived Antibacterial Substance against Multidrug-Resistant Bacteria. Antibiotics. 10: 85

Hasan,M ;P.Roy;M. Alam; M.Hoque; and W.Zzaman (2022). Antimicrobial activity of peels and physicochemical properties of juice prepared from indigenous citrus fruits of Sylhet region. Bangladesh Md. Heliyon 8 .

Huang,w ; Y, Wang ; W, Tian ; X, Cui ;P,Tu ;J, Li ; S, Shi and X, Liu(2022) .Biosynthesis Investigations of Terpenoid, Alkaloid, and Flavonoid Antimicrobial Agents Derived from Medicinal Plants . Antibiotics. 11:1380.

Ibrahim.H; I. M. Hassan and A. A.M. Hamed (2018). Application of Lemon and Orange Peels in Meat Products: Quality and Safety. International Journal Current Microbiology and Applied.Sciences. 7(4): 2703-2723.

Jawetz, E;L. Melinck;A. Adelberg; B.Geo; B.Janet ;C.Karen; M. Stephen; and M.Timothy (2013). "Medical microbiology". 26th Ed., Prentice.

Kebede,F(2010). *Pseudomonas* infection in chickens .Journal of Veterinary Medicine and Animal Health. 2(4): 55-58.

Kremples. D (2005). Culture and Sensitivity Testing , House Rabbit Society of Miami, University of Miami, Bio.Depar.

Kumar,S ;I. Singh;D. KohI; J.Joshi; and A. MISHR (2019). Waste Pomelo (Citrus maxima) Peels – A Natural Source of Antioxidant and its Utilization in Peanut Oil for Suppressing the Development of Rancidity . Current Research in Nutrition and Food Sciencejournal.7 (3): 800-806.

Midhat.S.M and S.M, Abed(2023). Isolation and identification of pathogenic species of the genus *Pseudomonas* and study of antibiotic resistance .GSC Biological and Pharmaceutical Sciences. 23(1): 087–09.

Ngan.T; L. Minh;H. Bao Long; and X. Tien Le. E (2021).Application of pomelo essential oil (Citrus Grandis L.) in effective scenting of diffused products. E3S Web of Conferences. 306:04020.

Pachori,p ; R.Gothalwal ; and P.Gandhi(2019). Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review.Genes and Diseases .6:109-119.

Quinn, P.J ;B.K.Markey; E.M.Carter;W.C.Donnelly;C.F. Leonard (2002). Veterinary microbiology and microbial diseases. st Iowa State University Press Blackwell Science,536.

Ramful. D; E.Tarnus;I.O. Aruoma; E.Bourdon ; and T.Bahorun (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. Food Research International. 44: 2088 2099.

Sahlan. V. D; D. Tristantini; H.Hermansyah; A. Wijanarko ; and Y. Olivia (2024). Antimicrobial Activities of Pomelo (Citrus maxima) Seed and Pulp Ethanolic Extract .Medical Devices AIP Conference Proceedings. 1933

Sakile,H; M.Hema ; S.Satish;C. Kandapal;P. Sanasam ;and I. Bajaj (2023**).** Citrus peel: An essential source of bioactive compounds and nutraceutical constituents.The Pharma Innovation Journal. 12(6): 01-16.

Salem, A .,S. Ismail and H. A. Marouf (2014). Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and its toxins in some meat products. Glob. J. Agric. Food Safety Sci.1: 39 – 50.

Saranraj ,P; A. Sahi ;A.Abdulbari; and K. Kavi (2016). Preservation of Broiler Chicken from Food Borne Microorganisms. A review Global Veterinaria .17 (4): 282-294.

Sathe,N ;P. Beechb ; L.Croft ; C. Suphiogluc ;A.A. Kapat (2023). Eugene AthandInfectious *Pseudomonas aeruginosa*: Infections and novel approaches to treatment "Knowing the enemy" the threat of *Pseudomonas aeruginosa* and exploring novel approaches to treatment.Medicine. 2 : 178–19.

Sekhi ,R,J (2022). *Pseudomonas aeruginosa*:a review article .European Scholar Journal (ESJ). (3) 3:7-Shaltout. F.A;M .R.Salem ;M.E. El-Diasty ;and W.I.M. Hassan(2019). Effect of Lemon Fruits and Turmeric Extracts on Fungal Pathogens in Refrigerated Chicken Fillet Meat. Global Veterinaria. 21 (3): 156-160.

Sharma. K;N. Mahato;M.H. Cho; and Lee. Y.R (2017). Converting citrus wastes into valueadded products.Economic and environmentally friendly approaches Nutrition. 34: 29–46.

Shoba. S.P;A. Punitha; M.S.Sona;G. Thirunirai Selvi;X. Venci Candida; and C.Anitha (2023). Exploring the Antibacterial Potency of Citrus Fruit Peel Extracts Using Various Solvents. Journal of Advanced Zoology. 44 : 921-927.

Suklampoo,l;C. Thawai;R. Weethong;W. Champathong ;and W. Wongwongsee (2012). Antimicrobial Activities of Crude Extracts from Pomelo Peel of Khao-nahm-peung and Khao-paen Varieties .KMITL Sci. Tech. J. 12.

Tutun,S; and S.Yurdakul (2023). Importance of *Pseudomonas aeruginosa* in Food Safety and Public Health\Turkish. Journal of AgricultureFood Science and Technology. 11(10).

Uwumuremyi,R; F.Ndikumana;J. B. Mutijima; L. Mpinganzima;T. Habyarimana;F.Niyongabo (2025).Antimicrobial Activities of Citrus Seed and Leaf Extracts Against Selected Bacterial and Fungal Pathogens Linked to Human Diseases: In vitro Experimental Study in Musanze. Journal of Drug Delivery & Therapeutics. 15(1):28-33.

Villanueva,X; L, Zhen., J, Nunez Ares; T, Vackier;H, Lange; C, Crestini; and P. Hans (2022). Steenackers.effect of chemical modifications oftannins on their antimicrobial and antibiofilm effect against gram-negative and gram-positive bacteria. Front. Microbiol.10,338.

Yahya. M; and K.Abid (2021). Evalution Of Antimicrobial Effect Of CitrusI Peel Extracts And Its SilverI Nanoparticies Against Multiple Pathogens.Mil. Med. Sci. Lett. 91(3): 244-255.

Younus,K. N(2023). Iraqi Lemon Peel Extract (Citrus limon) as Antibacterial and Antioxidant. International Conference on Design and Manufacturing Aspects for Sustainable Energy .391.

Zhao. C;i B. GE;D.Juan; S.r Rober;t ;S . Emily ;W. David ;W. David; and J. Mengen (2001). Prevalence of *Campylobacter spp., Escherichia coli, and Salmonella* Serovars in Retail Chicken, Turkey, Pork, and Beef from the Greater Washington, D.C., Area. Appled And Environmental Microbiology.67 (12): 5431–5436.

Study of the effectiveness of alcoholic and aqueous extracts of lemon, grapefruit, and grapefruit peels on some pathogenic bacteria

Alaa Afif [(1)*]

(1).Tartous Research Center, General Commission for Scientific Agricultural Research, Syria.

(*Corresponding author: Alaa Afif E-Mail alaa.afef88@gmail.com,Telephone: 0982179887).

Received: 16/02/2025 Accepted : 28/05/2025

Abstract

In order to find natural alternatives to chemical preservatives and reduce their side effects, the effectiveness of grapefruit, pomelo and lemon peel extracts was studied on two types of pathogenic bacteria (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*) isolated from chicken meat. Samples were collected from a poultry farm in Tartous and transported refrigerated to the laboratory. Their diagnosis was confirmed by culturing them on differentiating media and by biochemical tests. The results showed significant variation between the inhibition diameters, as the alcoholic pomelo peel extract outperformed all other extracts with a statistical significance of inhibition diameters of (14.50 mm), then the alcoholic grapefruit peel extract with a significance of (12.17 mm), then the alcoholic lemon peel extract with a significance of (11.83 mm), then the aqueous pomelo peel extract and aqueous grapefruit with a significance of (10.67 mm), followed by the aqueous lemon peel extract with a significance of (10.00 mm), then the antibiotics gentamicin with a significance of (9.67 mm), and fosfomycin with a significance of (5.83 mm). Thus, the aqueous and alcoholic extracts of lemon peels, pomelo, and grapefruit show encouraging effectiveness that may qualify them as natural antimicrobials.

Keywords: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ,peels, lemon, pomelo, grapefruit.