تأثير مكونات زيت القرفة المستخلص في تثبيط الفطريات المعزولة من جبن القشقوان

أنور الحاج علي[1] و صباح يازجي[1]

الملخص

جمعت 30 عينة من جبن القشقوان (معمل أجبان الغوطة) لموسمي2007-2008 من غرف الإنضاج، وبوزن نصف كيلو غرام لكل عينة، لدراسة تأثير مكونات زيت القرفة المستخلص في تثبيط الفطريات المعزولة من جبن القشقوان. أظهرت نتائج الاستخلاص أنّ مردود زيت القرفة المستخلص من اللحاء الناعم كان بمتوسط عام بلغ 0.81 (±0.32)%. وكانت الكثافة النوعية، وقرينة الانكسار والرقم الحمضي 1.037 (±0.006)، 1.58 (±0.001) و14.74 (±0.03) لكل منها على التوالي. أوضحت نتائج تحليل الكروماتوغرافيا الغازية بأن عدد مكونات زيت القرفة المستخلص كان 22 مركباً، وكان Cinnamaldehyde المكون الأساسي الفعال الذي شكل نسبة مئوية بلغ متوسطها العام 54.37 (±1.94)% . بيّنت نتائج العزل والتشخيص وجود سبعة أنواع من الفطور النامية في جبن القشقوان وهي فطر *Penicillium verrucosum*، *Penicillium commune*، *Moniliella acetoabutens*، *Mucor racemosus*، *Aspergillus niger*، *Scopulariopsis brevicaulis*، *Aspergillus flavus* بنسب بلغت 28.5%،24.5%، 16%، 11.5%،8%،7.5% و4% لكل منهما على التوالي. أظهرت النتائج تبايناً لحساسية بعض أجناس الفطور بطريقة agar disc diffusion حسب تركيز زيت القرفة بحيث كان التثبيط كاملاً عند تركيز 7% من زيت القرفة؛ مما مكن من إطالة حفظ جبن القشقوان حتى 25 يوماً.

الكلمات المفتاحية: زيت القرفة، الاستخلاص، الكروماتوغرافيا الغازية، Cinnamaldehyde، جبن القشقوان، الفطور، عزل، تشخيص، تثبيط.

[1] قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، ص. ب. 30621. جامعة دمشق، سورية.

The Components Effect Of Cinnamon Oil Extracted In Inhibition Of Isolated Molds From Kashkawan Cheese

A. Anwar[(1)] and Y. Sabah[(1)]

ABSTRACT

30 samples of Qashqawan cheese from (Al-Gouta Cheese Factory) were collected from ripping rooms during two years production years 2007 and 2008. The weight was 1/2 kg for each sample, to study the components effect of cinnamon oil extracted in inhibition of isolated fungi from Qashqawan Cheese. Results of Extraction cinnamon oil showed that the average yield of oil was %0.81±0.32 and Relative density, Refractive index and Acid index were 1.037±0.006, 1.58±0.001, 14.74±0.03 respectively. Results of Cinnamon oil analysis by Gas chromatography showed that it contained 22 compounds and the dominant active compound was Cinnamaldehyde with average of % 54.37 ± 1.94. Results of isolation and classification of Molds showed that there were seven kinds of molds grown on Qashqawan Cheese and they were *Penicillium verrucosum, Penicillium commune, Moniliella acetoabutens, Mucor racemosus, Aspergillus niger, Scopulariopsis brevicaulis and Aspergillus flavus* with mean average of 28.5%, 24.5%, 16%, 11.5%, 8%, 7.5% and 4% respectively. Results also showed that there were differences in sensitive spices of molds by agar disc diffusion according to increase Cinnamon oil concentration and thus the best concentration, to inhibit all molds was 7% with increasing storage time of Kashkawan up to 25 days.

Key words: Cinnamon oil, Gas chromatography, Cinnamaldehyde, Qashqawan Cheese, Molds, Isolation, Inhibition, Agar disc diffusion.

[(1)]Department of Food Science, Faculty of Agriculture, P. O. Box. 30621, Damascus University, Syria.

المقدمة

يعدُّ فساد جبنه القشقوان نصف القاسية في المعامل المنتجة في سورية أمراً مألوفا خلال عمليات الإنضاج التي تستغرق نحو 40 يوماً، حيث تنمو طبقة من الفطور والخمائر على سطح قوالب الجبن بسب عدم تحقيق الشروط النظامية لعملية الإنضاج مؤدية إلى خسائر اقتصادية قدرت بنحو 10% تقريباً من وزن القالب فضلاً عن إمكانية نمو أنواع الفطور المفرزة لمركبات سمية تدعى الأفلاتوكسينات وهي B1، B2، G1، G2، وتسبب هذه المركبات الإصابة بسرطان الكبد وتنخره وارتشاح الأدمة وتشوهات الجهاز الهضمي وخللاً وظائفياً في العمليات الحيوية في جسم الإنسان (Eaton and Gallagher,1994).

عزلت الفطور من الأجبان القاسية (El-Essawy *et al.,*1984, Northolt *et al.,* 1980) من غرف الإنضاج والمستودعات المخزنة، فكانت الفطور السائدة على سطوح تلك الأجبان تشكل 30-50% من الحمولة الميكروبية للعينات المدروسة والتي تتبع أجناس *Neuraspora*, *Rhizopus*, *Cephalosporium*, *Scopulariopsis*, *Geotrichum*, *Putrichus*, *Palliomyces*, *Mucor* و *Aspergillus*. وقد تبيّن بأن الفطور الأساسية المعزولة من غرف إنضاج الجبن الرومي المصري كانت من نوع *Aspergillus sp.* و *Penicillium spp.* (Hassan and El-Deeb, 1988). أما (Lund *et al.,* 1995) فقد تمكنوا من عزل الفطور من أجبان منضجة (نصف طرية ونصف قاسية) من مصانع مختلفة في فرنسة وأميركة وبريطانية وألمانية. وكان عدد العزلات الفطرية التي حصلوا عليها 371 عزلة فطرية، حيث شكل فطر *Penicilium spp.* 91% من هذه العزلات والنوع الأكثر وجوداً كان من جنس فطر *Penicillium commune* الذي شكل نسبة 42% من العزلات.

وجود السموم الفطرية في الجبن

درس (Aly، 1979) إنتاج الأفلاتوكسينات بواسطة *Aspergillus flavus* في الجبن الرومي المصنع من حليب الأبقار أو الجاموس أو من مزجهما، وذلك في مدد مختلفة من الإنضاج وبيّنت النتائج أن الفطر أفرز سم B1 و G1 في الجبن المصنع من حليب الأبقار، في حين أن الجبن المصنع من حليب الجاموس كانت السموم فيه معدومة. وقد أثبت El-Deeb *et al.,* (1992) أن *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus* قادران على إنتاج الأفلاتوكسينات في الجبن الرومي بتراكيز عالية عندما حضنا على درجة حرارة 30 م°، وهي أعلى من الدرجة النظامية لتحضين الجبن والمحددة بدرجة حرارة 15 م°. وبين (Abd-Alla، 1996) أن أبواغ فطر *Aspergillus versicolor* الملوثة لجبن الرومي بدأت بإنتاج السم Sterigmatocystine (STG) بعد 45 يوماً من

بدء إنضاج الجبن ووصل إلى ذروة الإنتاج بعد 90 يوماً. وقدر (Abu-Sree,1997) سموم B1، M1، Penicillic acid و Mycophenolic acid في 150 عينة من الجبن الرومي، وبيّنت النتائج التي حصل عليها أن مستوىB1 كان يتراوح ما بين 1.4–10.5 ppm و M1 كان ما بين 0.6–3.5 ppm و Mycophenolic acid تراوح ما بين 2.5–23 ppm.

التحكم بنمو الفطور على سطح الأجبان

أصبح التحكم بنمو الفطور على سطح الأجبان موضوعاً أساسياً للكثير من البحوث والدراسات واستخدمت عدة طرائق لهذا الغرض، منها: تغطية الجبن بواسطة الشمع أو بواسطة مستحضر بلاستيكي قبل الإنضاج لمنع نمو الفطور والخمائر والحفاظ على رطوبة الجبنة، كما عولج سطح الأجبان بمركبات طبيعية أو كيميائية مضادة للفطور في تجارب كثيرة.

استعمل (Galli and Vezzuli,1982) الشمع المخلوط والبرافين كلٌّ على حدة لمنع نمو الفطور على جبنة (provolone) حيث وجدا أن هاتين الطريقتين كانتا فعالتين في منع نمو الفطور على الجبنة مدة 3–4 أشهر. واختبر (Shokry,1987) تأثير التغطية تحت تفريغ لجبنة الغودا بالبولي إيثلين أو البولي فينيل أسيتات (PVC) والمدعم بمستخلص الفلفل الأحمر وسوربات البوتاسيوم كوسيلة لحماية الخصائص الفيزيائية والكيميائية للجبن في أثناء الإنضاج. ووجد أن استعمال PVC مع مستخلص الفلفل الأحمر يعطي نوعية جيدة لجبنة الغودا دون خسارة في الرطوبة أو التغير في الشكل. واقترح (Bullerman,1986) إزالة 1.3 سم من سطح قالب الجبنة للتخلص من طبقة الفطور والسموم الفطرية ولكن أدت هذه الطريقة إلى خسارة كبيرة في مصانع الأجبان. وبعد ذلك حاول المصنعون استخدام حمض السوربيك على سطح قالب الجبنة، ولكن كان لهذا الحمض تأثير في مظهر القالب فيما بعد، كما أن فعالية هذا الحمض ضد نمو الفطور ونشاطها كانت منخفضة نسبياً.

استخدمت المضادات الحيوية مثل Nitamycine ولكن لم يلقَ نجاحاً عاماً. بسبب غلاء ثمنه من جهة والحاجة إلى استخدام كمية أكبر من الحد المسموح بها دوليا من جهة أخرى. لذلك كان الاتجاه نحو استخدام المواد الحافظة الطبيعية كزيوت التوابل والبهارات وزيوت النباتات العطرية في السنوات الأخيرة. فدرس (Ray and Bullerman,1982) عدة منتجات مشتقة من النباتات مثل الزيوت المستخلصة من الأعشاب الطبية والبهارات، وتركزت دراساتهم على الأثر التثبيطي في نمو الفطور السامة وإنتاجها للسموم الفطرية. وقد أثبتا أن هذه المنتجات المستخلصة تمنع إنتاج السم الفطري بنسبة أعلى من 70%، كما تمنع نمو الفطر نفسه بنسبة 25%.

تحقق (Hassan and Al-deeb,1988) من تأثير المستخلص المائي ومستخلص الأسيتون لبعض النباتات لاستخدامها كمضادات فطرية حيث فحصت مستخلصاتها من أجل تثبيط نمو *Aspergillus Flavus* و*Aspergillus Parasiticus* و *Penicillium* spp. في غرف إنضاج الجبن. وقد وجدا أن إضافة هذه المستخلصات أدت إلى إيقاف نموها.

كما بيّن (Darwish, 1995) تأثير القرنفل والزعتر في نمو وإنتاج الأفلاتوكسينات لفطور *Aspergillus flavus* و*Aspergillus Parasiticus* وتبيّن أن مستخلص القرنفل له فعالية عالية ضد الفطور المدروسة أكثر من الزعتر. وأوضح (Abou Dawood,1996) تأثير زيت الكمون الأسود والقرنفل والقرفة في نمو كل من *Aspergillus flavus* و *Aspergillus Parasiticus* وقد توصل إلى أن القرنفل والقرفة يوقفان نمو الفطرين المدروسين بشكل كامل، وذلك بعد الحضن مدة 8 أيام على درجة حرارة 28 م°. ودرس (Abdel kader *et al.,* 2001) تأثير إضافة البهارات إلى خثرة الجبن الرومي المصنوع من خليط حليب الأبقار والماعز والجاموس. وقد أثبتوا أن هذه الإضافة تقلل من عدد الميكروبات والفطور والخمائر، كما تؤدي إلى تقليل أعداد بكتريا Coliform.

أما من ناحية المواد الفعالة الموجودة في التوابل والبهارات فقد استخدم (Farag *et al.,* 1989) تقنية (GLC) لتحديد المركبات الفعالة في الزيوت العطرية المستخلصة من الأجزاء النباتية لأوراق الزعتر وثمار الكمون وبراعم أزهار القرنفل وثمار نبات الكراويا وأوراق نبات أكليل الجبل وأوراق المرمية. وبين بأن المركبات الفعالة في هذه الزيوت كانت Thujone، Borneol، Carvone، Eugeno، Adehyde وThumol، وقد دُرس تأثير تثبيط هذه الزيوت النباتية في نمو الميسيليوم الفطري وإنتاج الأفلاتوكسينات.

من خلال ما سبق نجد أن الدراسات المحلية على استخدام زيت القرفة كمادة حافظة طبيعية عوضاً عن المواد الكيميائية الحافظة قليلة ونادرة في تثبيط بعض الفطريات المشخصة في جبن القشقوان المحلي، لذلك هدفت هذه الدراسة إلى:

1. الحصول على مستخلص زيت القرفة بطريقة التقطير بالبخار، وتحديد بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لهذا الزيت.
2. تحديد مكونات زيت القرفة المستخلص باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا الغازية.
3. عزل الفطور الموجودة في عينات جبن القشقوان وتشخيصها وتحديد النسبة المئوية للفطور المعزولة.
4. تأثير مستخلص زيت القرفة في تثبيط الفطور المعزولة والمشخصة في جبن القشقوان.

مواد البحث وطرائقه

1.جمع العينات

جمعت 30 عينة من جبن القشقوان المنتج في معمل أجبان الغوطة لموسمي2007-2008 من غرف الإنضاج بمعدل 15عينة في الموسم الواحد وبمقدار نصف كيلو غرام لكل عينة، وضعت العينات المأخوذة والمغلفة من المعمل في براد درجة حرارته 3-5°م لتقدّر وتُعزل وتشخّص الفطور فيها.

2.استخلاص زيت القرفة وتحديد بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية

استخلص زيت القرفة بطريقة التقطير بالبخار، وذلك عن طريق وضع 100 غرام من القرفة المطحونة والمجففة لثلاثة مكررات في دورق الاستخلاص، حيث استخلصت الزيوت العطرية بواسطة البخار الذي تكاثف مع الزيت العطري في الإناء المدرج. ولمنع عملية أكسدة المركبات وترسبها جفف الزيت بـNa_2SO4 مباشرة بعد التقطير. حفظت عينات الزيت المستخلص في درجة حرارة 4 ْم في عبوات زجاجية ملونة محكمة الإغلاق لتحديد بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لزيت القرفة لاحقا مثل الكثافة النوعية وقرينة الانكسار والرقم الحمضي حسب (AOAC,1990).

3.تحليل الكروماتوغرافيا الغازية لزيت القرفة

حددت نسب مكونات زيت القرفة بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC-17 AFW-موديل Shimadzu 1998 المزود بنظام حقن Split\Splitless وبوجود وليجة زجاجية glass insert وكاشف اللهب المتأين FID، وجهاز توليد الهيدروجين (Shimadzu-OPGU-2200S) ومضخة هواء، وجهاز توليد النيتروجين (الطور الحامل) (Perk-series 600A)، وحاسب مع برنامج إخراج البيانات والمسمى CLASS-GC10.

استخدم في التحليل عمود شعري ماركة Teknokroma إسباني المنشأ يحمل الرمز TR-140533 والرقم التسلسلي M2056295 ، طول العمود 60 متراً وقطره 0.32mm مطلي بطور ثابت من نوع TRB-WAX، واستخدم غاز الهليوم كطور حامل، تم تزويده للجهاز بواسطة مضخة خاصة لهذا لغرض.

ضبط الجهاز وفق البرنامج الحراري الآتي: حرارة الحاقن 250 درجة مئوية وحرارة الكاشف 260 درجة مئوية وتدفق الغاز الحامل 0.8 ونسبة التجزئة: 1:50 وحرارة الفرن وفق النظام الحراري المبرمج، 80 درجة مئوية مدة 10 دقائق ترفع إلى 220 درجة مئوية بمعدل 10 درجات /الدقيقة مدة 20 دقيقة.

حقن 0.5 ميكروليتر من الزيت العطري الممزوج بالكلوروفورم بواسطة محقن

هاميلتون سعته 10 ميكروليتر، حيث حددت نسب مكونات زيت القرفة في العينات المدروسة وقورنت بمزيج قياسي حضر في المخبر من شركة .Sigma Chemical Co.

4. الأوساط الغذائية المستخدمة

- بيئة دكستروز أجار البطاطا لعزل الفطريات وتنقيتها وتتركب من 4غ من بودرة البطاطا المستخلصة، 20غرام دكستروز وأجار15 غراماً في ليتر ماء مقطر وتضبط درجة الحموضة على 5 pH بوساطة مقياس درجة الحموضة (McGinnis1980).

- بيئة تشابيك Czapeck's Sucrose Medium أجار وتتركب من 3غ نترات الصوديوم NaNo3 و1غ فوسفات البوتاسيوم أحادية الهدروجين k2Hpo4 ,0.5 غ من كبريتات المغنزيوم المائية MgSO4.7H2O، 0.01غرام من كبريتات الحديد المائية Fe2SO4.7H2O، 30غرام سكروز و15 غرام أجار في ليتر من الماء المقطر. عقمت البيئة مدة 20 دقيقة عند درجة حرارة 121°م، لدراسة الفطور بطريقة التحميل بالنشر على سائل أزرق القطن اللاكتوفينول (FAO 1992).

5. تحضير عينات جبن القشقوان لعملية الزرع

حضرت العينات لعملية الزرع بتقشير عينة جبن القشقوان بكاملها بوساطة سكين حادة معقمة بسمك 2 سم تقريباً ثم أخذت عينة ممثلة مقدارها 10 غرامات، ووضعت في كيس بلاستيك معقم. جنست العينة وخلطت يدوياً ثم أخذ منها 1غ، ووضعت في أنبوب زجاجي يحوي 9مل ماءً معقماً، أجريت عمليات التخفيف والزرع في البيئات اللازمة في شروط معقمة.

بعد الحصول على المزارع النقية حضرت العينة الفطرية من اجل الفحص المجهري للفطور باتباع طريقة التحميل بالنشر، حيث أخذ بوساطة إبرة معقمة جزء صغير من المستعمرة ووضعت على شريحة زجاجية تحوي كمية قليلة من الكحول 95% وكمية من سائل أزرق اللاكتوفينول، ثم غطيت الشريحة الزجاجية بساترة نظيفة وفُحصت تحت المجهر.

6. تصنيف الفطور

صنفت الفطور استناداً إلى الصفات المزرعية المورفولوجية (دائرية، شعاعية، مكورة، الخ) والشكل الظاهري للمزارع الفطرية(هوائي، كثيف، قطني، زغبي. الخ) وشكل الحوامل البوغية وصفات الأبواغ (الشكل، الحجم، اللون والتزينات) حسب (Raper and Feunell 1977) و(Samson *et al.,* 1981) و(Del Maza *et al.,* 1997).

7. تأثير زيت القرفة المستخلص في تثبيط الفطور

التأثير المثبط للمستخلص تم باستعمال طريقة Agar disc diffusion

(NCCLS,2000) التي تعتمد على وضع قصاصة معقمة من أوراق الترشيح المغموسة بتراكيز مختلفة من الزيت (1%، 3%، 5%، 7%) والمخففة بالكلوروفورم، جففت القصاصات بدرجة حرارة الغرفة من أجل تطاير الكلوروفورم وغمست في منتصف الطبق المزروع بالفطور النقية المعزولة. حضنت الأطباق على درجة حرارة 25 ْم مدة 3 أيام، وقيس قطر الهالة المتشكلة حول القصاصة الخالية من النمو الفطري مقدرة بالمليمتر. وطبق التركيز الأمثل في إطالة مدة حفظ جبن القشقوان على ثلاثة مكررات.

8. **التحليل الإحصائي**

أجريت التحاليل الإحصائية للبيانات بإيجاد المتوسط الحسابي والانحراف المعياري، وقورنت الفروق بين المتوسطات باستخدام أقل فرق معنوي بمستوى معنوية 5% في حال وجوده من خلال إجراء تحليل التباين في اتجاهين.

النتائج والمناقشة

أولاً- استخلاص زيت القرفة وتحديد بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية

بيّنت النتائج أن مردود عملية استخلاص لحاء القرفة الناعمة لثلاثة مكررات كان ما بين 0.67 % إلى 1.03%، وبمتوسط عام بلغ 0.32 ±0.81 %. وقد بلغ المتوسط العام للكثافة النوعية، وقرينة الانكسار والرقم الحمضي 0.006±1.037، 0.001±1.58 و0.03±14.74 لكل منها على التوالي. وكان لون المستخلص العام أصفرَ بنياً مطابقاً لمواصفات زيت القرفة، والجدول (1) يبين بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لزيت القرفة المستخلص.

الجدول (1) بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لزيت القرفة المستخلص

الصفات الفيزيائية والكيميائية	المكررات			المتوسط العام
	X1	X2	X3	
الكثافة النوعية(20م°)	1.058	1.035	1.028	1.037±0.006
قرينة الانكسار(20 م°)	1.5816	1.5817	1.5909	1.58±0.001
الرقم الحمضي (ملغ KOH /غ زيت)	14.67	14.73	14.83	14.74±0.03
المردود	%0.67	%0.73	%1.03	%0.81±0.32
اللون العام	أصفر بني			

ثانياً – تحليل الكروماتوغرافيا الغازية لزيت القرفة

بيّنت نتائج تحليل الكروماتوغرافيا الغازية لزيت القرفة المستخلص أن عدد مكونات زيت القرفة المستخلص كان 22 مركباً إلا أن المكونات الأساسية كانت لمركب Cinnamaldehyde والذي شكل نسبة مئوية بلغ متوسطها العام 1.94±54.37%، يليها Benzoic acid Benzaldehyde وBenzyl alcohol. وقد بلغ المتوسط العام 1.45±10.31%، 0.77±9.34% و0.33±3.23% لكل منهما على التوالي. أما

المركبات الأخرى فكانت قيمها صغيرة بحيث كان مجموع متوسطها العام 22.75±1.9%. وقد توافقت نتائجنا مع نتائج كل من (Jayaprakasha *et al.,* 2002) و(Lee and Shibamoto, 2002) و(Chericoni *et al.,* 2005) من أن النسبة العظمى كانت لمركب Cinnamaldehyde الذي تراوحت نسبته مابين 52% إلى 75% حسب مصدر القرفة. وقد أوضح (Ramose-Nino *et al.*,1996) علاقة النسب المئوية لكل من المركبات الأربعة في تثبيط الأحياء الدقيقة. والجدول (2) يوضح المركبات الأساسية الأربعة في زيت القرفة المستخلص بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا الغازية.

الجدول (2) المركبات الأساسية في زيت القرفة المستخلص بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية

الرقم	اسم المركب	زمن الإمساك/د	المتوسط %
1	Benzaldehyde	6.54	10.31±1.45
2	Benzyl alcohol	6.70	3.23±0.33
3	Cinnamaldehyde	7.67	54.37±1.94
4	Benzoic acid	8.81	9.34±0.77
5	Others	-	22.75±1.9
6	**المجموع**		**100**

ثالثاً- تصنيف الفطور وتحديد النسبة المئوية للفطور المعزولة في عينات جبن القشقوان

عزلت وصنفت سبعة أنواع من الفطور في جبن القشقوان وهي كالآتي:

1- فطر (Link) *Aspergillus flavus* حيث تميزت المزرعة بأنها دائرية شعاعية كثيفة وسميكة، خضراء اللون تحاط بهالة صفراء حجمها 3-5 سم بعد 7 أيام، والحامل البوغي أحادي وثنائي الطبقات، الرؤوس الكونيدية شعاعية قد تنفصل لاحقاً، صفراء اللون تميل إلى الخضرة أو الصفرة والأبواغ إجاصية الشكل قنفذية شائكة أبعادها 10 µm.

2- فطر (Van Tieghem) *Aspergillus niger* المتميز بمزرعة ذات حافات بيضاء أو صفراء، كثيفة بلون بني مائل للاسوداد، على سطحها قطيرات صفراء تفرزها الحوامل البوغية، والحوامل البوغية بنية اللون داكنة أو سوداء ثنائية الطبقات، وتتركز الفياليدات عليها بشكل شعاعي وهي شفافة ذات لون بني لها حواجز، والأبواغ كروية الشكل أبعادها من 5-3.5 µm.

3- فطر(Fres) *Mucor racemosus* حيث اتصفت المزرعة بأنها بيضاء تتحول إلى رمادي-بني مع تقدم العمر، والمشيجة غير مقسمة، والحامل البوغي بسيط غير مقسم ويحمل الكيس البوغي في قمته وحجم هذه الأكياس من 60 وحتى 80 µm في حين تبلغ أبعاد الأبواغ الأسبورانجية من 5.5 إلى 7.5 µm.

4- فطر *Penicillium commune* (Link)حيث اتصفت المزرعة الفتية بأنها بيضاء اللون تتحول إلى اللون الأخضر تدريجياً مع تكوين الحوامل البوغية والأبواغ، الحامل البوغي يحمل فروعاً تنتهي بفاليدات متجمعة على محور واحد، على كل منهما سلسلة من الأبواغ الكونيدية أبعادها 4.2 -3.2 µm .

5- فطر *Penicillium verrucosum* حيث اتصفت المزرعة بلونها الأصفر المخضر أو الأزرق المخضر، والميسليوم لونها أحمر بني، والحوامل الكونيدية متفرعة إلى صفين وأحياناً ثلاثة صفوف وجدارها خشن تحمل فاليدات مخروطية، وتحمل أبواغاً كروية أو بيضاوية الشكل بقطر من3-4 µm.

6- فطر (Solk and Dakin) *Moniliella acetoabutens* لون المستعمرات كريمي تتحول إلى بني مع حلقات دائرية حول مركزها، والميسليوم يشبه الخمائر من حيث التبرعم، وتشكل أبواغاً بلاستية متبرعمة من بعضها بعضاً، وتشكل مشيجة يصل طولها إلى 150 µm، والأبواغ شكلها اسطواني بنهايات مدببة ذات حجم من 4.5 µm.

7- فطر(.Sacc) *Scopulariosis brevicaulis* مستعمراتها ذات لون أبيض تتحول إلى اللون الأحمر مع تقدم العمر، قطرها 4.5 سم، والحوامل الكونيدية تتفرع إلى صف أو صفين، تحمل أبواغاً اسطوانية الشكل منتفخة ذات قاعدة إجاصية تحمل أبواغاً شائكة لونها بني محمر حجمها من 5-8 µm.

أما عن النسب المئوية للفطور المعزولة في عينات جبن القشقوان فالجدول (3) يبيّن تنوع واختلاف أنواع الفطور المصنفة ووجودها كنسبة مئوية لموسمي 2007 و2008 على مستوى ثقة 5% في العينات المدروسة كلّها. حيث بلغ أقل فرق معنوي 1.21% (LSD) ومن الجدول يلاحظ وجود النوع الفطري *Aspergillus flavus* في جميع العينات، وكانت نسبة وجوده بمتوسط عام بلغ 4% من المجموع الكلي للفطريات خلال الموسمين. وقد ساد وجود فطر *Penicillium verrucosum* و *Penicillium commune* في العينات جميعها وبنسبة بلغ متوسطهما العام 53% من المجموع الكلي للفطور المعزولة، يليها *Moniliella acetoabutens*، *Mucor racemosus*، *Scopulariopsis brevicaulis* و *Aspergillus niger* وبنسب بلغت 16%، 11.5%، 7.5% و8% على التوالي من مجموع الفطور الكلية. ويعزى سبب وجود *Aspergillus flavus* و *Aspergillus niger* في عينات جبن القشقوان إلى الظروف الملوثة لغرف الإنضاج.

وقد تحقق (Hassan and El-Deeb, 1988) و(El-Deeb, *et al.,* 1992) من أن الفطور الأساسية المعزولة من غرف الإنضاج للجبنه الرومي كانت من نوع *Aspergillus spp.* و *Penicillium spp.*، وهذا يتوافق مع نتائجنا بالنسبة إلى جنس

Penicillium spp. ويختلف مع جنس *Aspergillus spp.* الذي شكل نسبة بلغ متوسطهما العام 12%. كما هو موضح بالجدول (3) .

أمّا وجود جنس فطر *Penicillium spp.* فهو الجنس المتحمل لبرودة غرف الإنضاج والمسيطر ليس فقط على النمو في بدايته وإنما يسبب أيضاً الفساد والتلوث للجبنة. وهذا يتوافق مع نتائج كل من (El-Essawy *et al.*,1984) و(Lund *et al.*,1995) بأن *Penicillium spp.* يشكل 91% من هذه العزلات.

الجدول (3) أنواع الفطور المعزولة والمصنفة في عينات جبن القشقوان ونسبها المئوية %

الاسم العلمي للفطر	موسم 2007	موسم 2008	المتوسط العام
Aspergillus flavus	%3	5%	%4
Aspergillus niger	%9	7%	8%
Mucor racemosus	12%	11%	11.5%
Penicillium commune	23%	26%	24.5%
Penicillium verrucosum	27%	30%	28.5%
Moniliella acetoabutens	15%	17%	16%
Scopulariopsis brevicaulis	%11	4%	7.5%
المجموع	100	100	100
LSD	**%1.21**		

رابعاً- تأثير زيت القرفة المستخلص في تثبيط الفطور المشخصة

يبين الجدول (4) تأثير النسبة المئوية لزيت القرفة المستخلص والمخفف في تثبيط الفطور المشخصة مقدرة بقطر الدائرة بالمليمتر بطريقة Agar disc diffusion، ومنه نجد أن قطر هالة التثبيط قد ازدادت مع زيادة تركيز زيت القرفة للفطور كلّها ما عدا فطر *Aspergillus niger* و*Mucor racemosus* حيث كان التثبيط ضعيفا لنسبة تركيز 5% من زيت القرفة، وبلغ قطر الهالة 8 و10 ملم لكل منهما على التوالي. في حين كان التثبيط كاملاً لأجناس الفطور الأخرى بنسبة تركيز 7% من زيت القرفة. وكانت حساسية *Penicillium verrucosum* ، *Moniliella acetoabutens* و*Penicillium commune* عالية مقارنة مع الفطور الأخرى من *Aspergillus flavus* و*Scopulariopsis brevicaulis* والموضح بتوسع قطر الهالة عند تركيز 3% من زيت القرفة في الجدول (4). ويعود التأثير المثبط إلى نوعية مكونات زيت القرفة وخاصة المركبات الفعالة التي يحتويها زيت القرفة وخاصة Cinnamaldehyde. فقد بين (Khan *et al.*, 2003) تأثير مركب Cinnamaldehyde في تثبيط الفطور النامية على الخبز المصنع من الرز ولاسيّما جنس فطر *Penicillium spp,*. كما أن تركيز الزيت يختلف في تثبيطه من فطر إلى آخر، كما بيّن (Gupta *et al.*, 2008) أن تركيز المستخلص الكحولي لزيت القرفة حتى 10% يؤدي إلى تثبيط كامل للفطور. وهذا يتوافق

مع نتائجنا من التثبيط الكلي للفطور ولكن بتركيز 7% من الزيت المخفف. لذا طبق التركيز 7% من زيت القرفة في دهن ثلاثة قوالب من جبن القشقوان لمعرفة زمن حفظ الجبنة، حيث بينت النتائج إمكانية حفظ جبن القشقوان حتى 25 يوماً دون ظهور لنمو الفطور.

الجدول(4) تأثير النسبة المئوية لزيت القرفة المستخلص والمخفف في الفطور المشخصة مقدرة بقطر الدائرة (mm)*

الاسم العلمي للفطر	تركيز زيت القرفة المستخلص%			
	%1	%3	%5	%7
Aspergillus flavus	12	22	تثبيط كامل	تثبيط كامل
Aspergillus niger	13	10	8	تثبيط كامل
Mucor racemosus	15	13	10	تثبيط كامل
Penicillium commune	14	28	تثبيط كامل	تثبيط كامل
Penicillium verrucosum	17	38	تثبيط كامل	تثبيط كامل
Moniliella acetoabutens	16	30	تثبيط كامل	تثبيط كامل
Scopulariopsis brevicaulis	10	18	تثبيط كامل	تثبيط كامل

* المتوسط (mm) لثلاثة مكررات مستقلة.

الاستنتاجات

إمكانية استخلاص زيت القرفة بواسطة الجرف بالبخار بمردود جيد بلغ 0.32 ±0.81%، مع تحديد بعض الصفات الفيزيائية والكيميائية لهذا الزيت. كما أن تقدير مكونات الزيت بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية كانت ناجحة، حيث حدد 22 مركباً وكان مركب Cinnamaldehyde الأكثر تركيزاً وفعالية بمتوسط بلغ 1.94±54.37%. أما من ناحية عزل وتشخيص الفطور فقد تم معرفة سبعة أنواع من الفطور النامية على سطح قوالب جبن القشقوان في غرف الإنضاج في معمل الغوطة، وهي فطر *Penicillium verrucosum*، *Penicillium commune*، *Moniliella acetoabutens* *Mucor racemosus*، *Aspergillus niger*، *Scopulariopsis brevicaulis*، *Aspergillus flavus* وبنسب متفاوتة. واستطعنا بنجاح تثبيط الفطور مع زيادة تركيز زيت القرفة حيث تباينت حساسية أجناس الفطور تبعاً لتركيز، وكان التثبيط كاملاً للفطور المعزولة كلّها بتركيز 7% من زيت القرفة. واستخدم التركيز الأخير في حفظ عينات جبن القشقوان مدة امتدت حتى 25 يوماً دون نمو يذكر لتلك الفطور.

تكتسب نتائج هذه الدراسة أهمية كبيرة في مجال استخدام زيت القرفة ونباتات الزيوت العطرية الأخرى كبديل عن استخدام المواد الحافظة الكيميائية والمضادات الحيوية في حفظ جبن القشقوان مع تأكيد إجراء الدراسات الحسية والذوقية لمنتج جبن القشقوان لاحقاً.

REFERENCES المراجع

1. AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. (1990). Official Methods of analysis,15th ed., Arlington .U.S.A.
2. Abdel-Kader, Y. I. Mehana, M. Y. and El-Tahra, M. A. (2001). Study on the effect of adding some spices to Ras cheese curd on the chemical, microbiological and organoleptic properties of the resultant cheese. Proc. 8th Egyptian Conf. Dairy Sci. & Tech. 317-330.
3. Abou Dawood, S. A. I. (1996). Use of spices as natural preservatives for some dairy products. M. Sc. Thesis, Fac. Agric. Cairo Univ., Egypt.
4. Abu Sree. H. (1997). Effect of cheese processing and ripening of hard cheese on formation and stability of some mycotoxins. Ph. D. Thesis, Faculty of Agric. Cairo Univ., Egypt.
5. Aly, A. A. (1979). Factor affecting aflatoxins B1 and G1 formation in Ras cheese by Aspergillus. flavus Ph. D. Thesis, Fac. of Agric. Cairo Univ., Egypt.
6. Bullerman, L. B. (1986). Mycotoxin and food safety, food technol. 40: 59. 66.
7. Chericoni, S., Prieto, J.M., Iacopini, P., Cioni, P., Morelli, I. (2005). In Vitro Activity of the Essential Oil of Cinnamomum zeylanicum and Eugenolin Peroxynitrite-Induced Oxidation Processes. J. Agric. Food Chem. 53: 4762-4765.
8. Darwish, S. M. (1995). Effect of clove, cinnamon and thyme on the growth and aflatoxins production by some molds. J. Agric. Res. Tanta Univ.,21:10-115.
9. Del Maza, L. M., Pezzlo, M. T. and Baron, E. J. (1997). Color Atlas of Diagnostic Microbiology. Mosby-Year Book, inc. USA .
10. Eaton, D. L., Gallagher, E. P. (1994). Mechanisms of Aflatoxin carcinogenesis. Annual Review of pharmacology and Toxicology. USA. No. 34. P-135-172.
11. El-Deeb, S. A.; Kheadr, E. E.; Zaki, N. and Shoukry, Y. M. (1992). Formation and the penetration of aflatoxin in experimental cheese by Aspergillus parasiticus. Egyptian J. Food Sci., 20(supp) 15.
12. El- Essawy H. A. A. M. Saudi, S. Mahmoud and S. D. Morgan. (1984). Fungal contamination of hard cheese. Assiut Veter. Med. J. 22: 125- 129.
13. FAO. (1992). Amending the annex of the seventh directive(976/312/ECC) Establishing-community methods of analysis for the official control of feeding stuff, official journal-ECL 327/54.1992.
14. Farag, R. S.; Daw, Z. Y. and Abo- Raya, S. H. (1989). Influence of some spices, essential oils on Aspergillus Parasiticus growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. J. Fd. Sci. 54: 74- 76.
15. Galli, A. and Vezzuli, U. (1982). Ways of controlling surface microflora on hard cheese and sime-hard cheese. Industria-del-Latte, Italian. 18: 59- 71.
16. Gupta, C., Garg, A.P., Uniyal,R.C., and Kumariz, A. (2008). Comparative analysis of the antimicrobial activity of cinnamon oil and cinnamon extract on some food-borne microbes. African Journal of Microbiology Research. Vol. 2(9) pp. 247-251.

17. **Hassan, H. N. and El-Deeb, S. A. (1988). The inhibitory effect of water and acetone extraction of certain plants as anti-fungal agents on growth and aflatoxins production by molds and yeast isolated from cheese ripening rooms. J. Agric. Res. Tanta Univ., 14: 162-171.**
18. **Jayaprakasha GK, Rao LJ, Sakariah KK. (2002). Chemical composition of volatile oil from Cinnamomum zeylanicum buds. Z Naturforsch [C].; 57(11-12):990-993.**
19. **Khan A, Safdar M, Ali Khan MM, Khattak KN,Suhr KI, Nielsen PV.(2003) Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. J Appl Microbiol.; 94(4):665-674.**
20. **Lee, K., Shibamoto, T. (2002). Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herb and spices, J Agric. Food Chem. 50: 4947-4952.**
21. **Lund, F., Filtenborg, O. and Frisvad, J. C. (1995). Associated mycoflora of cheese. Food Microb. 12: 173- 180.**
22. **McGinnis, M. R.(1980). Laboratory hand book of Medical Mycology. P.523-587. Academic press. N.Y.**
23. **Northolt, M. D.; Van Egmond, M. P.; Soentoro, P. and Dejll, E. (1980). Fungal growth and the presence of sterigmatocystine in hard cheese. J. Ass. Office. Chem., 63: 115- 136.**
24. **NCCLS. (2000). National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests 7th edition. Approved Standard. NCCLS document M2-A7. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA..**
25. **Ramos-Nino ME, Cliford MN and Adams MR (1996). Quantitative structure activity relationship for the effect of benzoic acid, cinnamic acids and benzaldehydes on *Listeria monocytogenes.* J. Appl. Microbiol. 80:303-310.**
26. **Raper, K. B. and Feunell, D. I. (1977). The Genus *Aspergillus*. Baltimore (USA), Williams and Wilkins. P.686.**
27. **Ray, L. L. and Bullerman, L. B. (1982). Preventing growth of potentially toxic molds using antifungal agents. J. Food Protec., 45: 953- 963.**
28. **Shokry, Y. M. R.; Hassah, N. H. and El-Deeb, S. A. (1987). Studies on Good cheese Coating. Commu. Sci., Dev. Res., 20: 243.**
29. **Samson, R.A., Hoekstra, E.S., and Vanoorschot, C. A. N. (1981). Introduction to food-borne Fungi. Central bureau for Scheme culture, Barn Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Science, Netherlands.**

Received	**2009/01/12**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2009/03/30**	**قبول البحث للنشر**