تأثير مستخلصات بذور الحلبة *Trigonella Foenum_Graecum.* في نمو بعض انواع البكتريا ودورها في اطالة مدة حفظ اللحم بالتبريد

The Effect of *Trigonella Foenum_Graecum* Seed Extracts on Some Bacteria Species and Their Role in Prolonging the Shelf Life of Meat

صبا جعفر محسن عجينة لمى خيري حسن ابتهاج مصطفى حكيم تغريد ابراهيم علي
كلية الزراعة / جامعة بغداد
Ajeena, S.J Hsahn, L.K Hakeem, I.M Ali, T.I
College of Agriculture/ Baghdad University

المستخلص

اجريت هذه الدراسة لتحديد القدرة التثبيطية لكل من المستخلص المائي ، الاستوني ، المثيلي ومستخلص الزيتي العطري لبذور نبات الحلبة *Trigonella Foenum_Graecum.* وبالتراكيز (80,50,20) ملغم/مل تجاه عدد من البكتريا والتي ضمت البكتريا السالبة لملون كرام *Escherichia coli* و *Pseudomonas spp.* والموجبة لملون كرام *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* وقد تنوعت نتائج دراسة الفعالية التثبيطية للمستخلصات باختلاف نوع المستخلص ونوع الكائن المجهري والتركيز المستخدم ، حيث اظهر مستخلص الزيت العطري كفاءة عالية في تثبيط البكتريا سواء الموجبة او السالبة لملون كرام وفي جميع التراكيز الاختبارية ، اما المستخلص الاستوني والمثيلي والمائي فقد اظهرو فعالية تثبيطية تجاه البكتريا الموجبة والسالبة لملون كرام في تركيز 80 ملغم/مل ، ولم تظهر هذه المستخلصات اي فعالية تثبيطية تجاه البكتويا الاختبارية في تركيز 20 ملغم /مل كما لم تظهر اي فعالية تثبيطية تجاه البكتريا السالبة لملون كرام في التركيز 50 ملغم/مل ولم يظهر المستخلص المائي في هذا التركيز اي فعالية تثبيطية تجاه البكتريا الموجبة لملون كرام ايضا . وتم اختيار الزيت العطري لبذور الحلبة ليكون الاكفأ بين المستخلصات وذلك لكفائته في تثبيط جميع بكتريا الاختبارية وفي جميع التراكيز المستخدمة حيث تم تطبيق فعاليته في حفظ لحم العجل المفروم باستخدام تراكيز مختلفة من المستخلص تراوحت بين (100,50,25,15,5,0) ملغم/كغم لحم اذ لوحظ حصول انخفاض في عدد البك تريا الهوائية وبكتريا القولون وعدد الخمائر والاعفان خلال مدة خزن عينات اللحم بالتبريد في درجة حرارة (2 ± 7)م مع زيادة تركيزالمستخلص العطري مقارنة بالعينة الضابطة .

Abstract

Inhibitory action of the aqueous (WE), acetone (AE), methyl (ME), and volatile oil (OE) Of *Trigonella Foenum_Graecum* seeds against some pathogenic bacteria was evaluated. Different concentration (20, 50, 80) mg\ml of the extract were used against gram-negative (*Escherichia coli* and *Pseudomonas spp.*) and gram positive *(Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*) bacteria. The result obtained from this study varied according to the type of extract, microorganism and the concentration used. Volatile oil extract had shown efficiency inhibiting both gram negative and positive bacteria in all concentration. So acetone, methyl and aqueous extract had shown efficiency inhibiting both gram negative and positive bacteria in 80 mg\ml concentration. While the last extracts had no efficiency inhibiting against study bacteria in 20mg\ml concentration, and they no effected at the negative bacteria in 50mg\ml concentrations, so the aqueous extract had no effect against positive bacteria in the same last concentration. The volatile oil extract seed was considered to be the most efficient against all tested bacteria comparing with other. Thus it was applied on preserving cooled minced beef by using different concentrations (0, 5, 15, 25, 50, 100) mg\kg of meat. As a result showed low in the number of total bacteria count, total *coli* form count and

total mold and yeast count c by using highest concentration of extracts during the storage at(2±7)^{o}c comparing with control sample.

المقدمة

نبات الحلبة Fenugreek اسمه العلمي *Trigonella Foenum_Graecum.L.* ويعود هذا الجنس الى العائلة البقولية Leguminoceae [1] . وهو نبات حولي يصل طوله الى 60 سم له اوراق ثلاثية الوريقات مسننه الحواف وتظهر ازهارها التي يميل لونها الى الابيض في منتصف الصيف ويعد الموطن الاصلي للنبات جنوب اوربا واسيا [2]. تحتوي بذور هذا النبات على التراي كونلين Trigonelline، الكولين ، صبغات فلافونويدية ، زيت ، وتصل نسبة البروتين بها الى 20% كما يحتوي على اللسثين Lecithin [2] . وفي الهند تستهلك اوراق الحلبة بشكل واسع كنوع من انواع الخضروات الورقية وهي غنية بالكالسيوم والحديد Fe والبيتا كاروتين B-Carotein وفيتامينات اخرى [3] .

استخدمت اوراق وبذور هذا النبات في الطب الشعبي (Traditional medicine) فهو فاتح للشهية (Appetite stimulation) [4] كما تمتلك بذوره واراقه خواص مضادة لمرض البول السكري Ant diabetic [5] ، كما تمتلك خواص مضاد للاكسدة Antioxidant [6] . ويمتلك هذا النبات فعالية لحماية المعدة Gastro protective [7] ومضاد للروماتزم Ant rheumatism بالاضافة الى انه يمتلك خواص تغذوية وخواص علاجية [8] .

وذكر [9] ان مستخلصات نبات الحلبة يمتلك تاثيرات تزيد من مناعة الفئران Immunomodulatory . وقد اظهرت العديد من البحوث امتلاك النبات لخواص كونه مضات للالتهابات Anti-inflammatory و الالام [10] Anti inceptive . ذكر [11] ان الاجزاء العلوية من النبات تحتوي على فيتامين C وبرو فيتامين A . كما ذكر [12] ان الحلبة تمتلك مركبا فعالا ضد البكتريا Antibacterial وهو المركب القلويدي Trigonelline alkaloid حيث وجد [13] ان مستخلصات نبات الحلبة المائية والكحولية للبذور واوراق النبات تمتلك فعالية ضد بعض البكتريا الموجبة والسالبة لملون كرام . وتستعمل بذور الحلبة كنوع من البهارات ومقومة للصلصات الحارة وتستعمل الاوراق الطازجة في اطباق الكاري [2] .

ونظرا لهذه الفوائد العلاجية لهذا النبات كان الهدف من الدراسة هو الكشف عن الفعالية المضادة لمستخلصات مختلفة لبذور نبات الحلبة تجاه بعض انواع من البكتريا المرضية والمتلفة للغذاء . وامكانية استخدامه في اطالة العمر الخزني للحم العجل المفروم بالتبريد .

المواد وطرائق العمل

1. **جمع العينات وتحضيرها:** تم الحصول على بذور الحلبة (*Trigonella foenum graecum*) من الاسواق المحلية في مدينة بغداد وتم التاكد منها كونها بذور حلبة بالتعاون مع قسم المحاصيل الحقلية/كلية الزراعة /جامعة بغداد . وتم طحنها وتحويلها الى مسحوق بعد ان تم تنظيفها اولا من الشوائب ، ومن ثم تم تحضير مستخلصات الدراسة كل على حدة .
2. **تحضير المستخلصات:** حيث تم الحصول على المستخلصات (المستخلص الميثانولي(ME) باستخدام الميثانول ، المستخلص الاسيتوني (AE) باستخدام الاستون ، المستخلص المائي . اعتمادا على الطريقة الموصوفة في [14]. وركزت المستخلصات باستعمال جهاز المبخر الدوار تحت التفريغ وفي درجة حرارة 40م ثم وضعت في فرن كهربائي في درجة 40م الى ان جفت . اما مستخلص الزيت العطري OE فقد اجريت عملية الاستخلاص بواسطة جهاز كلافنجر (Clevenger) المخصص لاستخلاص الزيوت العطرية من الاجزاء النباتية وباستخدام طريقة التقطير المائي الموصوفة من قبل [15] .

لقد تم تحضير ثلاث تراكيز من كل من المستخلصات الاربعة اعلاه (80,50,20) ملغم /مل لاجراء الفحوصات المكروبية ، حيث حضرت التراكيز اعلاه للمستخلص المائي والاستوني والمثيلي والزيتي العطري لبذور الحلبة باذابة (8,5,2)غم لكل مستخلص على حدة في 100 مل (ماء مقطر بالنسبة للمستخلص المائي ، استون بالنسبة للمسخلص الاسيتوني كحول مثيلي بالنسبة للمستخلص المثيلي ، وكحول اثيلي بالنسبة للزيت العطري) ، وعقمت باستعمال مرشحات م ايكروبية معقمة ذات فتحات بقطر 0.45 مايكرون Millipore filter . اما مستخلص الزيت العطري المسخدم لدراسة فعاليته في اطالة العمر الخزني للحم العجل المفروم فقد اخذ مقدار 500 غم من لحم العجل المفروم بماكنة معقمة ووزع في اطباق بتري معقمة في ظروف معقمة بواقع 20غم لحم عجل مفروم في كل طبق، واضيف مستخلص الزيت العطري لكل طبق على حدة بمقدار (2,1,0.7,0.5,0.3,0.1)ملغم على

التوالي بحيث تكون التراكيز النهائية بمقدار (100,50,25,15,5) ملغم/كغم لحم مع وضع طبق يحتوي على لحم مفروم بدون اي اضافة من مستخلصات الدراسة يمثل العينة الضابطة ، ثم اغلقت الاطباق بشكل محكم لمنع تبخر الزيت العطري وحصول اي تلوث اثناء الحفظ في الثلاجة وفي درجة (2 ± 7)م لمدة (1،4،8) يوم .

3. **دراسة الفعالية التثبيطية لمستخلصات بذور الحلبة على البكتريا الاختبارية :** نشطت العزلات البكتيرية (بعد ان تم الحصول على عزلات نقية باستخدام اوساط انتقائية لكل من بكتريا الدراسة) في الوسط الزرعي (Nutrient Broth)،واعتمدت طريقة الانتشار في الحفر (Well diffusion method) [16] وذلك بنشر 0.1 مل من عالق بكتريا الاختبار على الوسط الزرعي Nutrient Agar بواسطة ناشر زجاجي معقم ، هيأت اربع حفر في كل طبق وبقطر 8 ملم بثاقب الفلين المعقم ووضعت تراكيز مختلفة لكل مستخلص بمقدار 0.1 مللتر لكل حفرة ليصبح التركيز النهائي (80,50,20) ملغم/مل مع وضع حفرة خاصة بالماء المقطر المعقم ،واخرى باستون ، والكحول المثيلي والكحول الاثيلي تمثل عينة السيطرة ك لا على حدة لهذه المستخلصات على و التوالي ، وبمساعدة ماصة دقيقة (Micropipette) ، ثم حضنت الاطباق في درجة 37 ± 2 م لمدة 48 ساعة ، و قيست منطقة التثبيط (Inhibition Zone) بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل حفرة بالملمتر .

4. **تقدير العدد الكلي للبكتريا الهوائية في عين ات اللحم :**استعملت طريقة (pour plate) المذكورة في [17] وباستعمال الوسط المغذي .N.A وحضنت الاطباق بدرجة (37 ± 2)م لمدة 48 ساعة .

5. **تقدير العدد الكلي لبكتريا القولون :**قدرت اعداد بكتريا القولون كما ورد في [17] باستخدام الوسط الزراعي Mac Conkey agar والحضن لمدة 48 ساعة على درجة (37 ± 2) ومن ثم تم حساب المستعمرات الحمراء الداكنة .

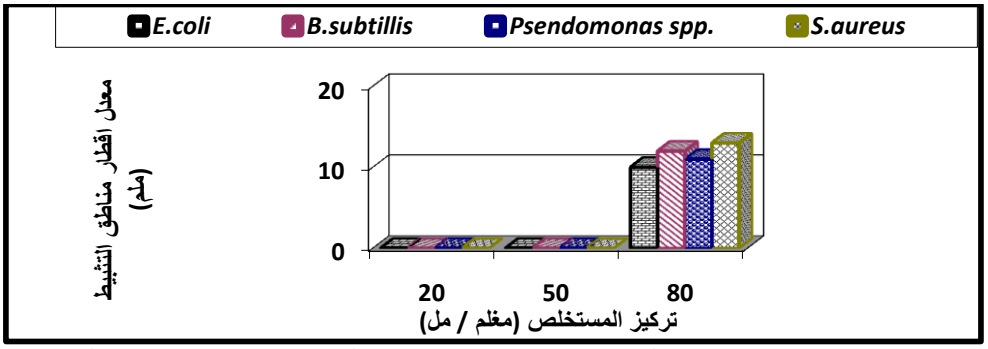
6. **تقدير العدد الكلي الاعفان والخمائر:** استعملت الطريقة المذكورة في [17] وباستعمال الوسط الزرعي (Potato dextrose ager) وحضنت الاطباق بدرجة (22-25)م لمدة 5 ايام .

النتائج والمناقشة

الفعالية التثبيطية لمستخلصات بذور الحلبة في تثبيط البكتريا الاختبارية

يبين شكل (1) تاثير المستخلص المائي لبذور نبات الحلبة في تثبيط نمو انواع من البكتريا الاختبارية ، حيث اختلفت النتائج التثبيطية حسب نوع البكتريا والتركيز المستخدم فقد اظهر المستخلص المائي فعاليته ت ثبيطية وايجابية تجاه كل البكتريا الاختبارية في تركيز 80 ملغم /مل من خلال قياس معدلات اقطار مناطق التثبيط (inhibition zone) والتي بلغت :- (13 , 12 , 11 , 10) ملم تجاه البكتريا *(S.aureus , B.subtilis , E.coli , Psendomonas spp.)* على التوالي ويتفق هذا مع [18] الذي ذكر أن للمستخلص المائي لبذور الخردل الأبيض فعالية تثبيطية ضد البكتريا و الخمائر .

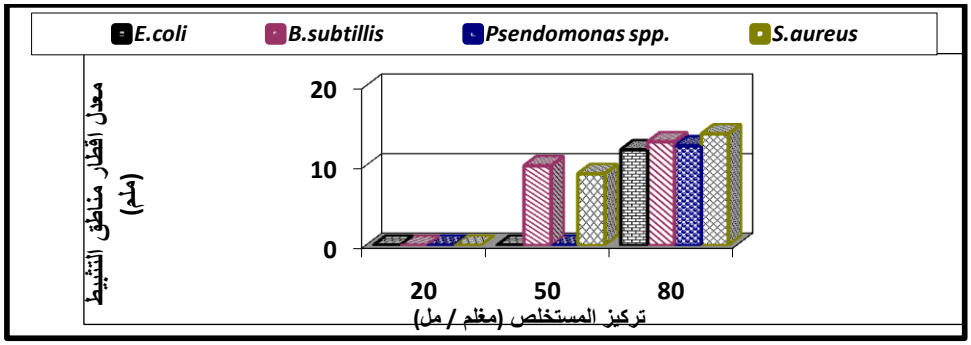
ولم يمتلك المستخلص المائي اي تاثير تثبيطي تجاه جميع البكتريا الاختبارية في التركيزين (20 ، 50) ملغم/مل ، اتفقت هذه النتيجة المستحصلة مع دراسة [19] الذين بينوا أن المستخلصات المائية لنبات البقدونس (*Petroselinum sativum*) Parsley لم تظهر أي فعالية مضادة لبكتريا *Staphylococcus aureus , E.coli , Klebsilla pneumoniae , Salmonella typhimurium , Proteus mirabilus,* . و من خلال معدلات اقطار التثبيط يتبين ان ا لتاثير التثبيطي للمستخلص المائي في تركيز 80 ملغم/مل على البكتريا الموجبة لملون كرام كان اكثر من التاثير على انواع البكتريا السالبة لملون كرام يعود السبب الى طبيعة الجدار الخلوي البكتيري اذ تحتوي البكتريا السالبة لملون كرام على طبقة من الاغشية الخارجية (outer membrane) تجعل نفاذيته للمواد اقل مقارنة بالبكتريا الموجبة لملون كرام [20] .



شكل (1): تاثير تراكيز مختلفة من المستخلص المائي لبذور الحلبة في تثبيط نمو بكتريا الاختبارية

يوضح شكل (2) تاثير تراكيز مختلفة من المستخلص الاستون (Aceton extract) لبذور الحلبة على نمو البكتريا الاختبارية ، حيث اظهر المستخلص الذي تركيزه 80 ملغم/مل فعالية واضحة تجاه البكتريا حيث بلغت معدل اقطار مناطق التثبيط (14 , 13 , 12.5 , 12) ملم للبكتريا (*E.coli, B.subtilis , S.aureus*) على التوالي .

كما اظهر المستلخص فعالية تثبيطية تجاه البكتريا (*B.subtilis, S.aureus*) في تركيز 50 ملغم/مل من خلال قياس معدل قطر منطقة التثبيط والتي بلغت (10 , 9) ملم وعلى التوالي في حين لم يكن للمستخلص في هذا التركيز تاثير تثبيطي على بكتريا السالبة لملون كرام . ولم يكن للمستخلص الاسيتون لهذا النبات تاثيرا تثبيطيا على جميع البكتريا الاختبارية الموجبة والسالبة لملون كرام في تركيز 20 ملغم / مل .

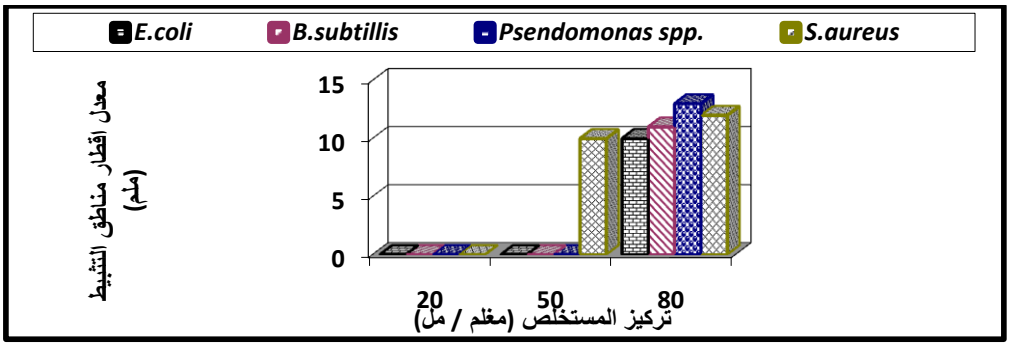


شكل (2): تاثير تراكيز مختلفة من المستخلص الاستوني لبذور الحلبة في تثبيط نمو بكتريا الاختبارية

يبين الشكل (3) تاثير تراكيز مختلفة من مستخلص الميثانولي لبذور نبات الحلبة على نمو البكتريا الاختبارية ، حيث اظهر هذا المستخلص كفاءة واضحة في تثبيط جميع البكتريا الموجبة والسالبة لملون كرام في تركيز 80 ملغم/مل فقد بلغت قيم ومعدلات اقطار التثبيط (10, 11, 12, 13) ملم لبكتريا (*Psendomonas spp.*, *E.coli, B.subtilis , S.aureus*) على التوالي .

كما اظهر المستخلص تاثيرا تثبيطيا تجاه بكتريا (*S.aureus*) فقط في تركيز 50% في حين لم يظهر فعاليته تثبيطية تجاه بقية البكتريا الاختبارية في هذا التركيز . ولم يظهر المستخلص اي فعالية تثبيطية تجاه البكتريا الاختبارية في تركيز 20 ملغم/مل .

يعتبر الميثانول من المذيبات ذات القطبية العالية يستخدم لفصل المركبات مثل الفينولات لذا تعود الفعالية التثبيطية للمستخلص الميثانولي لاحتواءه على مركبات الفينولية بالاضافة الى المركبات القلويدية (Alkaloids) التي لها القابلية لذوبان في الكحول تفوق ذوبانها في الماء اعتمادا على القطبية [21] كما ان هذه المركبات القلويدية لها القدرة على التداخل مع الدنا (DNA) لخلايا البكتريا مؤدية الى قتلها [22] .



شكل (3): تاثير تراكيز مختلفة من المستخلص المثيلي لبذور الحلبة في تثبيط نمو بكتريا الاختبارية

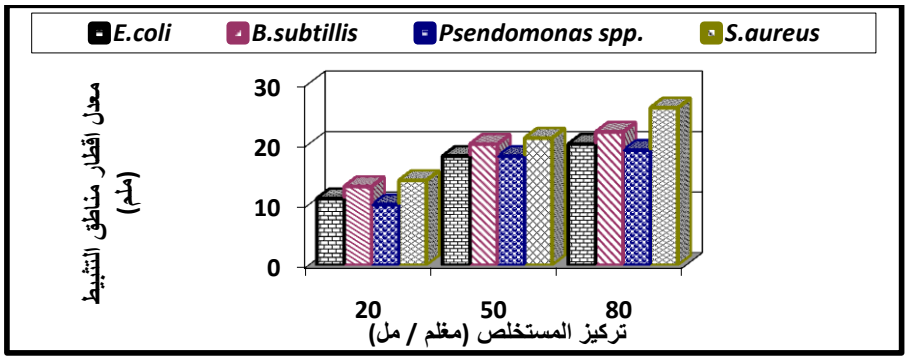
يظهر الشكل (4) تاثير تراكيز مختلفة من مستخلص الزيت العطري في تثبيط نمو البكتريا الاختبارية حيث اظهرت جميع التراكيز المستخلص العطري تاثيرا تثبيطيا تجاه البكتريا الاختبارية ، وكان اكثر فعال تجاه البكتريا الموجبة من البكتريا السالبة من خلال قياس معدلات اقطار التثبيط اذ بلغت (14 , 13) للبكتريا الموجبة لملون كرام (*B.subtilis , S.aureus*) على التوالي في تركيز 20 ملغم/مل في حين كانت اقل من ذلك باتجاه البكتريا السالبة لملون كرام (*E.coli , Psendomonas spp.*) وبلغت (11 , 10) ملم على التوالي .

وهذا يتفق مع ما ذكره [23] اذ ذكر بان فعاليته الزيوت الطيارة في تثبيط نمو البكتريا الموجبة لملون كرام اكثر من البكتريا السالبة ومع زيادة تركيز المستخلص العطري يزداد الفعالية التثبيطية تجاه البكتريا

حيث اظهرت التراكيز (50، 80) ملغم/مل زيادة في معد لات اقطار مناطق التثبيط للبكتريا الاختبارية (*E.coli, Psendomonas spp., B.subtilis , S.aureus*) اذ بلغت الزيادة : (21 , 20 , 18 , 18) ملم و (26 , 22 , 20 , 19) ملم تجاه كل بكتريا وللتركيزين اعلاه وعلى التوالي .

تحتوي المستلخصات العطرية على مركبات تربيتية حيث يحصل تشابك بين المركبات الكارهة للماء والمحبة لدهون في اغشية البكتريا والمركبات الموجودة في الزيت العطري مما يؤدي الى تمزق الاغشية من خلايا البكتريا وموتها [21] .

وقد اقترح [24] ميكانيكية الزيوت العطرية كمضادات مكروبية بان الزيوت او مكوناتها تذوب في الاغشية الدهنية للاحياء المجهرية ممايؤثر على على الفعالية الايضية للخلايا وبالتالي تؤدي الى تثبيطها .



شكل (4): تاثير تراكيز مختلفة من الزيت العطري لبذور الحلبة في تثبيط نمو بكتريا الاختبارية

كفاءة مستخلص الزيت العطري لبذور الحلبة في حفظ لحم العجل المفروم بالتبريد

يوضح جدول (1) تاثير اضافة مستخلص الزيت العطري لبذور نبات الحلبة بتراكيز مختلفة (100,50,25,15,5) ملغم/كغم لحم ، على العدد الكلي للبكتريا الهوائية في لحم العجل المفروم والمخزن بدرجة حرارة 7م للمدد الخزنية (8,4,1) يوم وبالمقارنة مع العينة الضابطة (Control) التي تمثل تركيز 0 ملغم\كغم لحم .

وكما هو واضح في الجدول اعلاه نلاحظ حصول زيادة في العدد الكلي للبكتريا في العينة الضابطة للحم العجل المفروم حيث ازداد من (30×10^3) و.م.م/كغم لحم بعد يوم واحد خزن مبرد الى (60×10^4) و (92×10^5) و.م.م./غم لحم بعد (4 و8) يوم خزن مبرد على التوالي .

وعلى الرغم من انخفاض العدد الكلي للبكتريا في عينات لحم العجل المفروم بزيادة تركيز المستخلص العطري لبذور الحلبة للعينات ضمن نفس المدة الخزنية مقارنة بالعينة الضابطة وهذا واضح في تركيز 5 ملغم /كغم لحم اذ انخفض العدد الكلي للبكتريا من (23×10^3) و(45×10^4) و.م.م./غم لحم للمدد الخزنية (1، 4) يوم انخفظ الى (9×10^3) و (25×10^4) و.م.م./غم لحم في تركيز 100 ملغم/كغم لحم ولنفس المدد الخزنية وعلى التوالي . وهذه القيم تقع ضمن الحدود التي حددها الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية لسنة (2000) [25] والذي يبلغ (1×10^6) و.م.م./غم لحم لكن في اليوم الثامن من الخزن نجد ارتفاع في العدد الكلي للبكتريا الهوائية للعينة الضابطة كما ذكر اعلاه وكذلك الحال لبقية التراكيز وبقيم تفوق الحدود المسموح بها للاستهلاك البشري والمحددة من قبل الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية [25] حيث بلغت قيم العدد الكلي للبكتريا الهوائية لعينات اللحم المفروم لاقل التراكيز وهو 5 وأعلى التراكيز 100 ملغم/كغم لحم بلغ (61×10^5) و(32×10^5) و.م.م./كغم لحم وعلى التوالي .في حين وصل العدد الى (32×10^5) و.م.م./غم لحم في اليوم الثامن من الخزن المبرد للعينة الضابطة من لحم العجل المفروم والمتمثلة بتركيز (0) ملغم/مل اي لحم مفروم بدون اي اضافة من مستخلصات الدراسة.

تكون البكتريا متفاوتة المقاومة لعملية التبريد والتجميد باختلاف نوعها ومرحلة النمو وفيما اذا كانت خلاياها خضرية او سبورية والاخيرة هي الاكثر مقاومة ، وان فساد الاغذية المحفوظة بالتبريد هي من المجاميع المحبة للبرودة Psychrophiles [26] ، ومنها بكتريا *Pseudomonas ssp.* والتي اظهرت هذه البكتريا مقاومتها

نوعاما للزيت العطري لبذور الحلبة مقارنة ببقية بكتريا الدراسة (*Staph. aureus, E. coli, B. subtilis*) من خلال تسجيلها اقل معدلات اقطار مناطق التثبيط كما كان واضحا في جدول (5) ، فقد يكون احتواء عينات اللحم المفروم اصلا على اعداد كبيرة من هذه البكتريا المحبة للبرودة مما ادى الى ارتفاع العدد الكلي للبكتريا بعد اليوم الثامن للخزن المبرد الى تلك القيم العالية .

اما الجدول (2) فيبين تاثير اضافة مستخلص الزيت العطري لبذور الحلبة بتراكيز (100,50,25,15,5) ملغم/كغم لحم تجاه بكتريا القولون للحم العجل المفروم والمخزون في (7 ± 2)م .

حيث بينت النتائج كفاءة المستخلصات العطرية العالية التركيز (100,50,25) ملغم/كغم لحم اذ بلغت اعداد بكتريا القولون بعد يوم واحد من الخزن (4×10^3 ،1×10 ، صفر) و.م.م./غم لحم على التوالي مقارنة بالعينة الضابطة والتي بلغت (8×10^5) وحصلت زيادة بسيطة في اعداد بكتريا القولون بعد 4 يوم خزن مبرد وازدادت اكثر بعد 8 يوم من الخزن المبرد اذ بلغ عددها (8×10^5 ، 7×10^5 ، 5×10^5) و.م.م./غم لحم وعلى التوالي في حين وصلت اعداد بكتريا القولون للعينة الضابطة والخالية من اي اضا فة الى (13×10^5) و.م.م./غم لحم .

حيث ذكر [26] ان 70% من بكتريا *E. coli* تبقى حية فقط في درجات منخفظة تصل الى الانجماد . ومن خلال النتائج نجد ان افضل تركيزلحفظ اللحم المفروم بالتبريد هو 100م الذي اعطى افضل النتائج وهذا يتفق مع [15] التي ذكرت بانه يزداد عدد بكتريا القولون خلال الخزن المبرد لمدة 6 أيام في درجة حرارة (7 ± 2)م وان التراكيز العالية لمستخلص الجرجير المائي كانت فعالة بحيث قللت عدد البكتريا طيلة مدة الخزن .

يظهر جدول (3) تاثير اضافة مستخلص الزيت العطري لبذور الحلبة (100,50,25,15,5) ملغم/كغم لحم على العدد الكلي للخمائر والاعفان في لحم العجل المفروم والمخزن في (7 ± 2)م للمدد الخزنية (8,4,1) يوم حيث يلاحظ حصول ارتفاع في العدد الكلي للخمائر والاعفان خلال الخزن لمعظم التراكيز والعينة الضابطة .

حيث نلاحظ ان التركيز 100 ملغم/كغم لحم من الزيت العطري هو الافضل في حفظ اللحم خلال ا لـ8 ايام خزن مبرد ،حيث اظهر كفاءة في اول يوم خزن حيث لم يظهر اي نمو للاعفان والخمائر مقارنة بالعينة الضابطة وبقية التراكيز،لكن بعد (4،8) يوم وجد نمو للاعفان والخمائروحصل زيادة في عددها في نهاية الخزن اذ بلغ ع دد المستعمرات (1×10^4 ، 3×10^4) و.م.م./غم لحم على التوالي وفي نفس التركيز اعلاه . في حين بلغت قيم العدد الكلي للخمائر والاعفان للعينة الضابطة (8×10^3 ، 9×10^4 ، 13×10^4) و.م.م./ غم لحم بعد (8,4,1) يوم خزن في(7 ± 2˚(وعلى التوالي .

نستنتج من الجداول (3,2,1) ان افضل تركيز لحفظ اللحم باستخدام الزيت العطري لبذور الحلبة هو 100 ملغم /كغم لحم ، حيث قلل من العدد الكلي للبكتريا الهوائية وبكتريا القولون وكذلك العدد الكلي للخمائر والاعفان مقارنة ببقية التراكيز والعينة الضابطة ، وبزيادة التركيز الى اكثر من 100 ملغم /كغم لحم قد نحصل على نتائج افضل وهذا مابينته [27] عندما وجدت ان الزيادة في تركيز الزيت العطري لثمار الكمون الى 100ملغم/غم لحم ادى الى زيادة حفظ عينات اللحم خلال الخزن من 1الى 22 يوم مقارنة بالتراكيز القليلة والعينة الضابطة للحم العجل المفروم والمخزن في (8 ± 2˚)م.

جدول (1): تاثير اضافة مستخلص الزيت العطري لبذور الحلبة بتراكيز مختلفة على العددالكلي للبكتريا في لحم العجل المفروم والمخزون في7 ± 2˚م.

التركيز (ملغم / كغم)	مدة الخزن (يوم) 1	4	8
	العدد الكلي للبكتريا		
0	$10^3 \times 30$	$10^4 \times 60$	$10^5 \times 92$
5	$10^3 \times 23$	$10^4 \times 45$	$10^5 \times 61$
15	$10^3 \times 17$	$10^4 \times 38$	$10^5 \times 65$
25	$10^3 \times 14$	$10^4 \times 30$	$10^5 \times 46$
50	$10^3 \times 11$	$10^4 \times 27$	$10^5 \times 40$
100	$10^3 \times 9$	$10^4 \times 25$	$10^5 \times 32$

جدول (2): تاثير اضافة مستخلص الزيت العطري لبذور الحلبة بتراكيز مختلفة على العددالكلي لبكتريا القولون في لحم العجل المفروم والمخزون في 7 ± 2ْم.

التركيز (ملغم / كغم)	مدة الخزن (يوم) 1	4	8
	العدد الكلي لبكتريا القولون		
0	$10^3 \times 8$	$10^3 \times 12$	$10^5 \times 13$
5	$10^3 \times 6$	$10^3 \times 10$	$10^5 \times 11$
15	$10^3 \times 5$	$10^3 \times 8$	$10^5 \times 10$
25	$10^3 \times 4$	$10^3 \times 5$	$10^5 \times 8$
50	$10^3 \times 1$	$10^3 \times 3$	$10^5 \times 7$
100	0	$10^3 \times 1$	$10^5 \times 5$

جدول (3): تاثير اضافة مستخلص الزيت العطري لبذور الحلبة بتراكيز مختلفة على العددالكلي للاعفان والخمائر في لحم العجل المفروم والمخزون في 7 ± 2ْم.

التركيز (ملغم / كغم)	مدة الخزن (يوم) 1	4	8
	العدد الكلي للبكتريا		
0	$10^3 \times 8$	$10^4 \times 9$	$10^4 \times 13$
5	$10^3 \times 7$	$10^4 \times 8$	$10^4 \times 10$
15	$10^3 \times 5$	$10^4 \times 6$	$10^4 \times 7$
25	$10^3 \times 3$	$10^4 \times 5$	$10^4 \times 6$
50	$10^3 \times 2$	$10^4 \times 3$	$10^4 \times 4$
100	0	$10^4 \times 1$	$10^4 \times 3$

المصادر

1. Shani, J.; Gold Schmied, A.; Joseph, B.; Abronson, Z. and Sneman, F.G. (1974). Hypoglycemic effects of *Trigonella faenum graecum* and Lupinus termis (Leguminosae) seed and their major alkaloids in alloxan-diabetic and normal rats. Arch .Int. Pharmacodyn Ther. (210): 27-37.
2. العرموش ، هاني والعمري ، موفق . (1999) . الأعشاب في كتاب (الأستخدامات الطبية - العلاجية-التجميلية التصنيعية) دار النفائس للطباعة والنشر والتوزيع الطبعة الأولى بيروت- لبنان .
3. Sharma, R.D. (1986). Effect of fenugreek seeds and levels on blood glucose and serum insulin response in human subjects. Nutr. Res. 6:1353-1364.
4. Bouaziz, A. (1976).Veterinary drags. French Demande. 20:4-8.
5. Basch, E.; Ulbricht, C.; Kuo, G.; Szapary, P. and Smith, M. (2003).Theraputic Applications of fenugreek.Alternative Med Rev. 8: 20-27.
6. Sharma, R.D.; Raghuram, T.C. and Rao, N.S. (1990). Effect of fenugreek seed on blood glucose and serum lipid in type I diabetes. Eur J clin nutr. 44:30 1-6.
7. Pandean, R.S.; Anuradha C.V. and Viswanathan, P. (2002).Gastro protective effect of fenugreek seeds on experimental gastric ulcer in rats. *J Ethnopharmacol*. 81:393-7.
8. Zargari, A. (1996). Medicinal plant Vol 1 and 3. Tehran:Tehran University Press, pp.637,927,326.
9. Bin-Hafeez, B. Haque, R.; Parvez, S.; Pandey, S.; *Sayeed*, I. and Raisuddin, S. (2003). Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*L.) extract in mice. Int. Immunopharmacol. 3:257-265.
10. Mirhaydar, H. (1994). Plant Information:Plant usage in disease treatment. Nashre Farhang Islami Press pp.303.

11. علي ، خليل ابراهيم محمد ؛ محمد هندال كاظم البلداوي ؛ غالب علوان القيسي و ياسر جمال جميل . (2010) . النباتات الطبية هبة الطبيعة لعلاج الامراض . بغداد ، ع.ص. 391 .

12. Saunders, W. B. (1998). Trease and Evau`s pharmacognosy. Typesest by Technical Typestters, Ashford, Kent, UK.

13. Thomas, J.E.; Basu, S.K. and Acharya (2006).Identification of *Trigonella.* accessions which lack antimicrobial activity and are suitable for forage development.can.J, Plant Sci. 86:727-732.

14. الجنابي ، نضال محمد صالح . (2004) . تاثيربعض المستخلصات النباتية كمضادات اكسدة ومكروبية في بعض الأنظمة الغذائية اطروحة دكتوراه - كلية الزراعة / جامعة بغداد .

15. احسان و سعد علي . (1999) . دراسة بعض العوامل المؤثرة في الصفات الكمية والنوعية للزيوت العطرية في النعناع و البطيخ ، اطروحة دكتوراه / كلية الزراعة - جامعة بغداد .

16. Stokes, Ej and Ridgway, G. L. (1987). In Handling clinical specimen's for microbiological studies 5th ed. Churchill living stone Edinburgh. PP: 173-187.

17. APHA, American Public Health Association. (1978). Standard Methods for the Examination of dairy products, 14th.ED.Washington.

18. حمدان ،عامر حسين . (2006) . تاثير مستخلصات بذور الخردل الابيض تجاه بعض الاحياء المجهرية في حفظ بعض منتجات الالبان . رسالة ماجستير /كلية الزراعة / جامعة بغداد.

19. EL Astal, Z. Y.; Ashour, A. and Kerrit, A. A. M. (2005). Antimicrobial activity of some medicainal plant extracts in Palestine. pak Jmed . Sci. 21 (2):187-193.

20. Jawetz, E.; Melnick, J. L.; Adelberg. E. Brooks, G. E. Butel, J. S. and Ornson, L. M. (1987). Review of Medical Microbiology. 17th Ed. Middle. East. Appleton and Lange. Norwalk, Connection. Los. Altos.

21. Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical microbiology reviews.12 (u):564-582.

22. Phillipson, J. D., and M. J.O' Neill. 1987. New leads to the treatment of protozoal infections based on natural product molecules. Acat Pharm. Nord. 1:131-144.

23. Erturk, O.; Ozbucak, T. B. and Bayrak, A. (2006). Antimicrobial activities of some medicinal essential oils. (52):58-66.

24. Hili, P.; Evans, C.S. and Veness, R.G. (1997). Antimicrobial action of essential oil: the effect of dimethyl sulphoxide on the activity of cinnamon oil.

25. الجهاز المركزي للتقيس والسيطرة النوعية . (2000) . الحدود المايكروبية للحوم ومنتجاتها رقم (3725)/4 . جمهورية العراق .

26. الدليمي ، خلف الصوفي داوود (1988) .علم الاحياء المجهرية للاغذية،مديرية دار الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل .

27. عجينة ، صبا جعفر محسن . (2006) . تأثير الفعالية التثبيطية لمستخلصات بعض الاعشاب والبهارات في نمو بعض الاحياء المجهرية وكمضادات اكسدة في الانظمة الحيوية وتطبيقه في النظم الغذائية ، اطروحة دكتوراه/كلية الزراعة/ جامعة بغداد.