تاثير المستخلص الكحولي لاوراق نبات (الينكي دنيا)*Eriobotrya japonica* في بعض الاجناس البكتيرية وبعض الصفات الكيميائية والمايكروبايولوجية للحم البقر

بشرى محمد جابرعلوش نعم حيدرجواد سعيد صفاء الدين احمد القيسي
استاذ مساعد باحث مدرس
bushraalwash1966@Gmail.com neamhadier@ yahoo.com Safaa.Ahmed.bio@gamil.com
قسم علوم الحياة– كلية العلوم للبنات– جامعة بغداد

المستخلص:

تضمنت الدراسة معرفة تاثير المستخلص الكحولي الخام لاوراق نبات *Eriobotrya japonica* على بعض العزلات البكتيرية وكذلك دراسة تاثير المستخلص على الصفات الكيميائية للحم البقر المحفوظ بالتبريد عوملت بكتريا *staphylococcus aures* و*coli Escherichia* و*Salmonella typhimiurum* بالمستخلص الكحولي لاوراق نبات الينكي دنيا عند التراكيز 200 و100 و50 و25 ملغم / مل باستخدام طريقة الحفر، كما عومل لحم البقر المفروم بتركيز 200ملغم/ مل بمستخلص اوراق الينكي دنيا وخزن اللحم المعامل لمدة 0,2,4 ايام في درجة حرارة 4 م واجريت عليه بعض الاختبارات الكيميائية والمايكروبايولوجية 0 اظهرت النتائج ان تركيز الامثل للتثبيط بالنسبة للعزلات البكتيرية هو200 ملغم/ مل حيث كانت اقطار التثبيط بالنسبة لبكتريا *S. aures* 26ملم و *E. coli* 15 ملم و *S. typhimirum* 19 ملم 0 اما تاثير المستخلص النباتي على اللحم فاظهرت النتائج انخفاض كل من قيم حامض الثايوباربيوتاريك thiobarbituric acid(TBA) وقيمة النتروجين المتطاير total violate nitrogen (TVN) وانخفاض في اعداد البكتريا الكلي والبكتريا المحبة للبرودة عند درجة حرارة 4م لمدة 4 ايام، اما قيمة الاس الهيدروجيني (PH) فلم تتغير 0 يستنتج من هذا البحث ان لمستخلص نبات الينكي دنيا فعل تثبيطي تجاة العزلات البكتيرية وكان التركيز الامثل للتثبيط 200 ملغم/ مل، وان خلط لحم البقر المفروم بالمستخلص ادى الى اطالة مدة الخزن لمدة 4 ايام في التبريد دون حدوث تغير في صفات اللحم 0

الكلمات المفتاحية:– لحم البقر المفروم, حامض الثايوباربيوتاريك, قيمة النتروجين المتطاير , *E. coli* , *S. typhmirium* , *S. aureus*

*جزء من رسالة ماجستير للباحث الثاني

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences –1231-1238: (5) 48/ 2017 Alwash& et al.

THE EFFECT OF ALCOHOLIC EXTRACT *Eriobotrya japonica* LEAVES ON SOME BACTERIAL GENES AND SOME CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROPERTIES OF BEEF

B. M.J. Alwash N. H.J.Saed S. A. ALqusay
Assist . Prof. Researcher Leacturer
Department Women-Biology Collage of Science for Unverstiy of Bagdad-

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effect of using alcoholic extract of yangadnia leaves on some bacterial strain *Salmonella typhimiurum*, *E.coli* and *staphylococcus aures* in 200, 100, 50 and 25 mg/ml concentration using digging method. Minced cow meat 200 mg/ml was mixed with yangdina extract and stored for 0,2,4 day at 4 C and tested for chemical and biological characteristics. The ruselts showed that the best concetration of inhibition was 200mg/ml and the inhibition zone diameters were 26, 19, 15 mm for *S. aures*, *S. typhimiurm* and *E .coli* respectively. In respect to Effect of extract in minced cow the ruselts showed drop in values of, thiobarbituric acid (TBA),total violate nitrogen (TVN), total number account of bactria and count of psycrotrophic bactria and effect on PH values. It can be concluded that yangdina leaves extract has inhibitory effect on bacterial strain and best concetration 200mg/ml. Mixing meat with extract improved the storage life at 4c for 4 day.

Keywords: minced meat, thiobarbutric acid, total violate nitrogen, *S.typhimuruim, Ecoli, S. aureus*
***Part of M.Sc.Thesis for 2nd Author**
****Received:25/12/2016, Accepted:9/1/2017**

المقدمة

بعد تزايد القلق من سلامة استعمال المضافات الغذائية الكيميائية لما لها تاثير سلبي على صحة الانسان، كونها ذات تاثيرات جانبية كالتسمم الغذائي والفشل الكلوي وحتى الاصابة بالسرطان، فقد زاد الاهتمام بالتوجة نحو حفظ الاغذية بطرق تضمن بقائها بشكل طبيعي وتحافظ على خواصها الطبيعية لاطول وقت ممكن وليس لها تاثير ضار(19) ومازالت التساؤلات تدور حول نوعية وسلامة الغذاء بمضافات غذائية محددة ومنتخبة، اظهرت البحوث شكوكا حول المضادات الميكروبية المستعملة في حفظ الاغذية التي تشكل خطرا كامنا بسبب امتلاكها للسمية، وادت هذه المشاكل الى التوجة نحو انتاج مضادات ميكروبية طبيعية واضافتها بشكل مباشر للاغذية (18)، كما ازداد الاهتمام بالاونة الاخيرة بمضادات الاكسدة لما لها من تاثير على عملية اكسدة الدهون التي لها تاثيرات سلبية على جودة الغذاء فهي السبب الرئيسي لتلف المواد الغذائية وفقدان قيمتها الغذائية وظهور نكهات غير المرغوب بها (6) يعد نبات الينكي دنيا *Eriobotrya japonica* من الاشجار دائمة الخضرة التي تعود الى العائلة الوردية (Rocease) وتؤكد المصادر ان موطنها الاصلي هو المنطقة الشرقية الوسطى من الصين ومنها انتشرت الى اليابان ومنها جاءت تسميتها البشملة اليابانية ولايعرف بالضبط متى ادخلت الى العراق (2) تزرع الينكي دنيا كمحصول رئيسي في فلسطين وسوريا وبكميات قليلة في مصر وتزرع ايضا في قبرص واليونان واسبانيا وتونس وتركيا (25) واطلق على النبات مسميات كثيرة كانت المحلية منها البشملة اليابانية والمشمش الهندي والزعرورة او اسكي دنيا اسكدنيا وناسبولي ويطلق عليها بالمغرب باسم المزاح كما ان هناك العديد من الدراسات والبحوث اشارت الى استخدام النبات كمضاد للاكسدة Antioxidant ومسكنا للالام ومضادا للالتهابات Anti inflammation , ومضادا للاحياء المجهرية Antibactrial حيث وجد ان لاوراق النبات فعالية مضادة لبكتريا *E . coli* و *klebsiella pneumonia* من خلال الثاثير على Beta lactamase – (2) اما المستخلص المائي للاوراق فلوحظ ان له تاثيرا" على بكتريا *E.coli* و *Enterococcus* الممرضة بالنسبة لامعاء الفار (23) كما يعد المستخلص ذاته مضادا" للسرطان anti cancer ويستعمل في معالجة الاضطرابات المعوية ومعالجة الحساسية والبلغم وتنظيم السكر في الدم، كما استخدم في تقليل من حالات التشنج والتقيؤ عند الحمل والرعاف وسوء الهظم (16) بالاضافة الى استعمالة كمدرر للبول وخافض للحرارة (17) كما وجد ان غلي الاوراق يعمل على تقليل ضربة الشمس والعطش ومعالجة الجروح واستعمالة كضمادات ومعالجة القرحة (14) ويعود سبب استعمال النبات في علاج العديد من الامراض الى احتوائه على العديد من المركبات الفعالة ذات التاثيرات البايولوجية والتي تنتشر في جميع اجزاء النبات ومن اكثر المركبات الفعالة هي الفينولات كالفلافونويدات والصابونيات والتربينات بالاضافة الى المعادن وكاربوهدرات ودهون (21)

المواد وطرائق العمل

جمع النبات

جمعت اوراق النبات من بساتين الكريعات من حزيران الى ايلول 2016، وغسلت وجففت وطحنت ثم حفظت في قناني زجاجية معتمة لحين الاستخدام.

تحضير المستخلص الكحولي لاوراق نبات الينكي دنيا *Eriobotrya japonica*

تم خلط 30 غم من اوراق النبات مع 300 مل من كحول الميثانول المطلق(99,9%)، ووضع المزيج في السكسوليت بدرجة حرارة تتراوح (80–60)م ولمدة 18 ساعة، ثم يرشح الخليط بواسطة اوراق ترشيح واتمان(1. Whatman no) وترك ليجف بدرجة حرارة الغرفة (11)

الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لاوراق الينكي دنيا *E. japonica*

استعملت العديد من الكواشف في التحري عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لاوراق الينكي دنيا وبواقع كاشفين لكل مجموعة من المركبات الاتية: (4، 7، 22)

1– الكشف عن القلويدات :Alkaloids

A – استخدم كاشف ماير للكشف عن القلويدات الموجودة في اوراق النبات، اضيفت عدة قطرات من الكاشف الى 1 مل من المستخلص الكحولي لاوراق النبات الينكي دنيا .

B– اضيف بضع قطرات من كاشف واكنر الى 1 مل من المستخلص الكحولي لاوراق نبات الينكي دنيا .

2 – الكشف عن الصابونيات Saponins: تم استخدام طريقتان للكشف عن الصابونيات:

A–كشف الرغوة: وضع 1 مل من المستخلص الكحولي للاوراق في انبوبة اختبار ويضاف 3 مل من الماء المقطر، ورجت الانبوبة بشدة، ثم اضيفت قطرات من HCL حامض الهيدروكلوريك

B– اضيفت بضع قطرات من كلوريد الزئبقيك HgCl2 الى 1مل من المستخلص الاوراق في انبوبة اختبار

3–الكشف عن التربينات Terpenoids:

A– اضيفت عدة قطرات من كاشف انس الديهايد، الى 1 مل من مستخلص الاوراق

B– اضيفت عدة قطرات من مزيج الكلوروفورم وحامض الكبريتك المركز الى 1 مل من المستخلص

4– الكشف عن الفلافونويدات Flavonoids

A–اضيفت عدة قطرات من حامض الكبريتك المركز (H2 So4) الى 1 مل من مستخلص اوراق البنكي دنيا

B–اضيفت بلورات المغنسيوم Mg الى 1 مل من المستخلص الكحولي للاوراق ثم اضيقت عدة قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز

5– الكشف عن التانينات Tanins:

A – تضاف قطرات من خلات الرصاص الى 1 مل من المستخلص وعند ظهور راسب هلامي القوام اصفر يدل على وجودها

B– اضيفت عدة قطرات من كلوريد الحديديك (Fecl2) الى 1 مل من المستخلص ظهور اللون الازرق دليل وجودها

الحصول على العزلات البكتيرية

تم الحصول على العزلات البكتيرية *staphylococcus aures* و*Escherichia coli* و *Salmonella typhimiurum* من مختبر التحليلات المرضية/ قسم علوم الحياة/ كلية العلوم للبنات بعد التاكد منها واجراء الاختبارات التشخيصية للتاكد منها

تحضير تراكيز المستخلص الكحولي لاوراق

حضرت اربع تراكيز من المستخلص الكحولي للاوراق 200 و100 و50 و25 ملغم/ مل بالاضافة الى معاملة السيطرة وهي الماء المقطرالمعقم، باخذ 2 غم من المادة الجافة من المستخلص الكحولي للاوراق واذيب في 10 مل من الماء المقطر المعقم، وبذلك يكون تركيز محلول الخزن 200 ملغم/ مل (3) عقم المستخلص بواسطة millipore filter وبعدها تم تحضير التراكيز الاخرى وحفظت في قناني زجاجية معقمة لحين الاستخدام

تاثير تراكيز المستخلص الخام لاوراق على انواع البكتريا

استعملت طريقة الانتشار في الاكار بواسطة الحفر (11) ،تم نشر 0.1 مل من العالق البكتيري بصورة متجانسة على على وسط Muller Hinton ager ثم اضيفت التراكيز المحضرة للمستخلص بالحفر بمقدار 0.1 مل بواسطة الماصة الدقيقة Micropipette لكل حفرة مع بقاء حفرة السيطرة Control حاوية على الماء المقطر المعقم ،ثم حضنت الاطباق في الحاضنة لمدة 24 ساعة بدرجة 37م، وامكن معرفة فعالية المستخلص من خلال قياس قطر التثبيط بواسطة المسطرة حول كل حفرة، بواقع 3 مكررات لكل عزلة

عينات اللحم

استعمل اللحم البقري المفروم الذي تم الحصول عليه من الاسواق المحلية بصورة طازجة، ثم عومل، بالمستخلص الكحولي لاوراق حيث استخدم تركيز 200 ملغم/ مل بالمعاملة ثم اضافتة الى 500 غم من اللحم المفروم ثم قورن مع معاملة السيطرة (لحم غير معامل)، اخذت النتائج بعد (0 ,2, 4) يوم حفظ في درجة حرارة 4م

A– **التقديرات الكيميائية**

1– pH:– تم قياس الأس الهيدروجيني للعينة بجهاز قياس الأس الهيدروجيني (pH meter)

2– قياس TBA:– وذلك بأخذ 10 غم لحم مثروم ونقع لمدة 2 دقيقة في 50 مل ماء مقطر وأضيف أليه 5 مل محلول حامض الهيدروكلوريك (4 عياري) لخفض الاس الهيدروجيني الى 1,5 وأكمل الحجم الى 100 مل ماء مقطر نقل المزيج إلى دورق تقطير سعة 100 مل وأضيف 2 مل زيت البارفين و1 غم حجم جاف لتنظيم الغليان ومنع الفوران. ربط جهاز التقطير وتم التسخين لغاية جمع 50 مل من مادة تقطير، وحضر محلول البلانك في الوقت نفسه من الماء المقطر. قدرت الامتصاصية بواسطة المطياف الضوئي على طولها 538 نانومتر وثم حسبت TBAعلى اساس ملغم مالونالديهايد/ 100 غم لحم (20)

3 –قياس TVN:- تم وزن 10 غم لحم بعد فرمها ومزجها جيدا وتم اضافة 10 مل من الماء المقطر وتم هرسها في جفنة خزفية بعدها نقلت الى دورق التقطير واضيف له 2غم من اوكسيد المنغنيسيوم و250 مل من الماء المقطر وربط دورق التقطير في جهاز كلدال، الذي ينتهي بدورق الأستقبال الحاوي على 25 مل حامض اليوريك (2%) مع قطرتين من كاشف المثيل الأحمر (Methylred) وبعد مرور 30 دقيقة من التقطير سحح المزيج مع حامض الكبريتيك المخفف (0.1عياري) وحسبت كمية النيتروجين الكلي المتطاير على أساس ملغم نيتروجين/ 100 غم لحم (8).

B- التقديرات المايكروبايولوجية

1- العد الكلي للبكتريا:- نقل (1مل) من كل مخفف عشري بوساطة ماصة معقمة إلى طبقين من أطباق بتري الفارغة والمعقمة (Duplicate) ومباشرة يضاف إلى كل طبق (15 مل) من الوسط الزرعي المعقم (Nutrient Agar) المحفوظ في حمام مائي بدرجة (46 م) ثم يمزج الوسط الزرعي مع تخفيف العالق البكتيري جيدا من خلال تدوير الأطباق نحو اليمين ونحو اليسار مع تحريكها في كل مرة وبعد تصلب الوسط الزرعي تم حفظ الأطباق مقلوبة بالحاضنة بدرجة (37م) ولمدة 24 ساعة بعدها تم حساب المستعمرات النامية في الأطباق التي تحوي (30-300) مستعمرة وجرى تقدير أعداد البكتريا بضرب عدد المستعمرات بمقلوب التخفيف لاستخراج العدد في الملتر الواحد (12)

2- البكتريا المحبة للبرودة:- تم عد البكتريا المحبة للبرودة بأستعمال الوسط الزرعي (Nutrient agar) وأتبعت فيه الخطوات المذكورة في فقرة تقدير عدد البكتريا الكلية بأستثناء حضن الأطباق في درجة حرارة 5 ْم مدة 10 أيام ثم حسبت عدد المستعمرات في كل طبق وجرى تقدير الاعداد بضرب عدد المستعمرات بمقلوب التخفيف لاستخراج العدد في الملتر الواحد.

النتائج والمناقشة

الكشف الكيميائي للمواد الفعالة في مستخلص اوراق نبات *E. japonica*

اظهرت نتائج الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي للاوراق نبات الينكي دنيا، على وجود الفلافونويدات والتربينات والصابونيات والتانينات ولاتحـــتوي على القلويدات كما موضح بالجدول 1 وهذا يتفق مع ماتوصل الية (27)

جدول 1 . الكشف الكيميائي عن المركبات الفعالة في المستخلص الكحولي لاوراق نبات الينكي دنيا *E. Japonica*

المركبات الفعالة	الكواشف	النتيجة
القلويدات	كاشف ماير	-
	كاشف واكنر	-
الصابونيات	كاشف الرغوة	+ ظهور رغوة كثيفة
	كلوريد الزئبقيك	+ راسب ابيض
التربينات	انس الديهايد	
	كلوروفورم + H2SO4	+ راسب بني
الفلافونويدات	H2SO4	+راسب بني محمر
	HCLمركز + Mg	+ راسب احمر
التانينات	خلات الرصاص1%	+ راسب احمر
	كلوريد الحديديك1%	+ راسب اصفر
		+ راسب ازرق مخضر

+ تعني وجود المادة الفعالة

تاثير تراكيز المستخلص الخام لاوراق نبات *E. japonica* على انواع البكتريا

يشير الجدول 2 الى معدلات اقطار التثبيط عند استعمال تراكيز المستخلص على انواع البكتريا، حيث كانت اعلى اقطار تثبيط عند تركيز 200ملغم/ مل حيث بلغ اعلى قطر تثبيط 26 ملم بالنسبة لبكتريا *S. aures* و15 ملم لبكتريا *E. coli* و19ملم لبكتريا *S. typhimirum* في حين كانت اقطار التثبيط عند تركيز 100 ملغم/ مل هي 15 و13 و14 ملم على التوالي، في حين لم يظهر التركيزين 25 و50 ملغم/ مل اي تاثيرتجاة جميع الانواع البكتيرية المختبرة ان الاختلافات الموجودة باقطار التثبيط يعود الى الاختلافات الموجودة بالنسبة لتركيب جدار الخلية البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام وهذا يؤثر على قابلية المستخلص لنفاذ داخل الخلية واحداث الثاثير المطلوب، ان تكوين جدار الخلية البكترية السالبة لصبغة كرام يعمل كحاجز لمنع نفاذ العديد

من المواد، حيث يتكون من طبقة رقيقة من peptidoglycan وlipopolysaccharide اضافة الى وجود طبقة periplasim بين الجدار الخلوي وغشاء الخلية ولاتحتوي على teichoic acid (5) اما مكونات جدار الخلية البكتيرية الموجبة لصبغة كرام يحتوي على السكريات المتعددة و lipoteichoic acid وpeptidoglycan اضافة الى fibronectin binding protin وM- protin و fimbrial protin التي تجعل للخلية القابلية على السماح لنفاذية عبر الجدار (26) ان السبب في قدرة المستخلص الخام على تثبيط نمو الخلايا البكتيرية يرجع الى احتواءه على العديد من المواد الفعالة التي تم الكشف عنها في الدراسة الحالية ومن هذه المركبات الفينولات والفلافونويدات والتربينات والتانينات والصابونيات التي لها تاثير على نفاذية الغشاء ان عدم ظهور تاثير ملحوظ على نمو البكتريا عند تركيز 25 و50 ملغم/ مل يعزى الى عدم الحساسية للتراكيز الواطئة كونها غير كافية لاحداث التاثير المطلوب، بسبب انخفاض تراكيز المواد الفعالة بالمستخلص وبالتالي سوف يفقد المستخلص القدرة التثبيطيةعليه.

جدول2 . تأثير تراكيز مستخلص اوراق نبات الينكي دنيا في نمو اانواع مختلفة من البكتريا

تركيز المستخلص (ملغم/مل)	المتوسط ± الخطأ القياسي لقطر التثبيط (ملم)		
	E. Coli	*Salmonella typhmirium*	*Staphlococcus aureus*
Control	c 0.12 ± 6.00	c 0.12 ± 6.00	c 0.12 ± 6.00
25 (ملغم/مل)	c 0.12 ± 6.00	c 0.12 ± 6.00	c 0.12 ± 6.00
50 (ملغم/مل)	c 0.12 ± 6.00	c 0.12 ± 6.00	c 0.12 ± 6.00
100 (ملغم/مل)	b 0.00 ± 13.00	b 0.33 ± 14.67	b 0.33 ± 15.33
200 (ملغم/مل)	a 0.33 ± 15.33	a 0.33 ± 19.67	a 0.33 ± 26.33
قيمة LSD	* 0.503	* 0.671	* 0.675

* (P<0.05).
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.

تاثير المستخلص الخام للاوراق نبات *E. japonica* في اللحم البقري المفروم

يبين الجدول 3 تاثير الخلط بمستخلص الاوراق عند تركيز 200ملغم/ مل في قيمة PH للحم البقر المفروم والمخزون بالتبريد حيث يلاحظ عدم وجود فرق معنوي بين المعاملة (اللحم المعامل) والسيطرة (اللحم غير المعامل) لمدة خزن 0 و2 و4، اذ بلغ الاس الهيدروجيني 5.60 و5.60 و5.70 للمعاملة و5.60 و5.70 و6.00 للسيطرة على التوالي يلاحظ من الجدول نفسه احتفاظ المستخلص بقيمة PH وذلك لحتواء المستخلص على بعض الحوامض مثلGalic acid بشكل استر في المواد الدباغية للاوراق وهي التانينات وهذا ما اكده حسين واخرون (13)، ان هذه المواد تؤدي الى خفض الاس الهيدروجيني والاقتراب الى نقطة التعادل الكهربائي وبالتالي تقل قوة التنافر الكهربائي بين جزيئات البروتين الحاملة للشحنة نفسها (24).

جدول 3 تاثير مستخلص الاوراق مع الوقت في درجة الاس الهيدروجين (PH) للحم المفروم البقري

الوقت	المتوسط ± الخطأ القياسي		قيمة LSD
	لحم غير معامل	لحم معامل	
صفر	0.24 ± 5.60	0.24 ± 5.60	NS 0.00
يومين في الثلاجة	0.19 ± 5.60	0.27 ± 5.70	NS 0.402
اربعة ايام في الثلاجة	0.33 ± 5.70	0.37 ± 6.00	NS 0.491
قيمة LSD	NS 0.602	NS 0.731	---

NS: غير معنوي.

اما الجدول 4 فيوضح تاثير الخلط بالمستخلص على قيمة TVN (total violate nitrogen) بالنسبة للحم حيث بلغت 15.30 و 22.40 ملغم نتروجين/ 100 غم لحم بالنسبة للسيطرة و12.60 و70. 14 ملغم نتروجين/ 100

غم لحم بالنسبة للمعاملة لمدة خزن 2 و4 ايام بالتبريدعلى التوالي حيث لوحظ وجود فروق معنوية ($P<0.05$) بين المعاملة والسيطرة لمدة خزن 2 و4 ايام بالثلاجة وذلك لان المستخلص يحتوي على مجموعة من المركبات الفعالة التي تم الكشف عنها سابقا المتمثلة بالفلافونويدات والفينولات والتربينات والتي لها فعل مثبط في النمو البكتيري وبالتالي التقليل من قيمة TVN. ان قيمة TVN هو مقياس لنتروجين الطيار المتحرر من الاحماض الامينية المتحللة نتيجة لنشاط البكتريا (20) وهذا يفسر انخفاض قيمة TVN عند المعاملة بالمستخلص وذلك لقابلية المستخلص على قتل البكتريا المسببة لزيادة TVN.

جدول 4 . تاثير مستخلص الاوراق مع الوقت في قياس TVN اللحم (ملغم نتروجين/100 غم لحم)

الوقت	المتوسط ± الخطأ القياسي		قيمة LSD
	لحم غير معامل	لحم معامل	
صفر	c 0.54 ± 10.20	b 0.54 ± 10.20	NS 0.00
يومين في الثلاجة	b 0.68 ± 15.30	ab 0.58 ± 12.60	* 2.197
اربعة ايام في الثلاجة	a 0.83 ± 22.40	a 0.62 ± 14.70	* 4.752
قيمة LSD	* 3.803	* 2.764	---

* ($P<0.05$)، NS: غير معنوي.
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.

يشيرالجدول 5الى تاثير الخلط بالمستخلص في قيمة TBA (thiobarbituric acid) حيث بلغت المعاملة 30.00 و 37.00ملغم مالون الديهايد/ 100 غم لحم في حين بلغت السيطرة 38.00 و55.00 ملغم مالون الديهايد/ 100 غم لحم لمدة خزن 2 و4 ايام على التوالي وان وجود الفروق المعنوية لمدة خزن 2 و4 بين المعاملة والسيطرة يعود الى دور المستخلص في تاخير اكسدة دهون اللحم نتيجة احتوائة على مواد مضادة للاكسدة مثل الفلافونويدات، اذ تدخل هذه المركبات في تفاعل عكسي فتعمل على ابطاء اكسدة الدهون وتثبيت الجذور الحرة بواسطة منع انتقال ذرة الهيدروجين الى الجذر الحر فتصبح هذة الجذور الحرة ثابتة وبالتالي تمنع مركبات التزنخ من التطور مثل الكيتونات والديهايدات والكاربوكسيلات (9)

جدول 5. تاثير مستخلص الاوراق مع والوقت في قياس TBA للحم المفروم (ملغم مالون الديهايد/100 غم لحم)

الوقت	المتوسط ± الخطأ القياسي		قيمة LSD
	لحم غير معامل	لحم معامل	
صفر	c 1.35 ± 27.00	c 0.87 ± 26.00	NS 3.294
يومين في الثلاجة	b 1.74 ± 38.00	b 0.94 ± 30.00	* 5.382
اربعة ايام في الثلاجة	a 2.62 ± 55.00	a 2.09 ± 37.00	* 5.968
قيمة LSD	* 3.803	* 2.764	---

* ($P<0.05$)، NS: غير معنوي.
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.

يوضح الجدول 6 تاثير الخلط بالمستخلص على عدد الخلايا البكتيرية في اللحم المفروم حيث يلاحظ انخفاض في اعداد الخلايا بين المعاملة والسيطرة اذ بلغت اعداد البكتريا بالنسبة للمعاملة 7.0×10^3 و4.5×10^3 خلية/ غم في حين بلغت السيطرة 3.7×10^3 و 5.1×10^5 خلية/ غم لمدة خزن 2 و4 على التوالي ويعود السبب في هذا الانخفاض الى احتواء المستخلص كما ذكر سابقا على المواد الفعالة التي لها القدرة على تثبيطا لنمو البكتيري

جدول6 تاثير المعاملة بمستخلص الاوراق مع والوقت في العد الكلي للبكتريا (خلية/ غم)

الوقت	المتوسط ± الخطأ القياسي		قيمة LSD
	لحم غير معامل	لحم معامل	
صفر	c ^{3} 10 x 4.8	b ^{3} 10 x 4.4	NS 23.76
يومين في الثلاجة	b ^{4} 10 x 3.7	b ^{3} 10 x 7.0	* 69.52
اربعة ايام في الثلاجة	a ^{5} 10 x 5.1	a ^{3} 10 x 4.5	* 44.90
قيمة LSD	* 38.76	* 51.61	---

* ($P<0.05$)، NS: غير معنوي.
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.

اظهرت نتائج تاثير الخلط بالمستخلص على اعداد الخلايا البكتيرية المحبة للبرودة الموجودة في اللحم المخزون بالتبريد على وجود فروق معنوية بين المعاملة والسيطرة حيث بلغت اعداد الخلايا بالنسبة للسيطرة 6.4 x 10^4 و6.6x 10^5 خلية/ غم في حين بلغت المعاملة 8.9 x 10^3 و7.1 x 10^4 خلية / مل عند 2 و 4 يوم ويرجع الانخفاض في اعداد البكتريا الى احتواء المستخلص على المواد الفعالة التي ذكرت سابقا والتي لها القدرة على النفاذية عبر غشاء الخلية واحداث التاثير المطلوب (15) جدول(7).

جدول 7 يوضح تاثير المعاملة بمستخلص الاوراق مع الوقت في البكتريا المحبة للبرودة (خلية/ غم)

الوقت	المتوسط ± الخطأ القياسي		قيمة LSD
	لحم غير معامل	لحم معامل	
صفر	c 10^3 x 5.5	b 10^3 x 5.3	NS 14.72
يومين في الثلاجة	b 10^4 x 6.4	b 10^3 x 8.9	* 59.41
اربعة ايام في الثلاجة	a 10^5 x 6.6	a 10^4 x 7.1	* 74.66
قيمة LSD	* 61.07	* 72.68	---

* (P<0.05)، NS: غير معنوي.
المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.

REFERANCES

1. Abdou, E.; Daoud, Z. and Roula, A. M. 2011. leaf and branch extract of *Eriobotry japonica* exert antibacterial activity against ESBL- producing *Escherichia COLI* and *Klebsiella pneumonia*. INT.J. phytomedicine,(3): 120-128
2. Aga, J. D.and dawod; A. D. 1991. Sustainable green fruit production, 2ed.national library for puplication. mousal university, Iraq. p.525-541.
3. Alsaraf; A.J.,Abd –karem; H.S.and khudair, T.M. 2007. effect of eucalyptus leaves extracts-*Eucalyptus camaldulensis L. in Staphylococcus aureus* outside vivo, J. Babel unvirsty (2) 14.
4. Cannel, R. 1998. Natural products Isolation. Human press. Inc.Totowa, New Jersey, pp.354-358
5. Chatterjee, S.N. and Chaudhuri, K. 2012. outer Membrane Vesicles 0f bacteria springer Briefs in Microbiology, DOI:1007/ 978-3-642-30526-9 -2
6. Cook, N. C. and C. Samman. 1996. Flavonides-chemistry, metabolism, cardio protective effect and dietary sources. J. Nutr. Biochem, (7):66-76.
7. Dey,Y.; De, S. and Ghosh, A. 2010 . Phytochemical investigation and chromatographic evaluation of the different extracts of tuber of Amorphaphall-uspaeoniifolius (Araceae) .Int.J. pharma. Biochem.Res.,1 (5):150-157
8. Egan, H.,kirk, R.S. and sawyer,R. 1981. Pearson chemical analysis of foodr.churchill Livingston
9. Geoffroy, M., P. Lambelet and P. Richerl. 1994. Radical intermediates and antioxidants: an ESRstudy of radicals formed on carsonic acid in the presence of oxidized lipids. Free Radical Res., (21):247 -258
10. Hammer, A.;Detlev, H.; Carsten, H.;Rolf, K.;Elke,L.; Richard, M.;Hans,G.B.(2003).Solar energy assessment using remote sensing technologies .Remote sensing of Environment 86p 423-432
11. Harborne, J.B. 1980. Introduction to ecological biochemistry. london, new York. Academic press, pp; 58-82
12. Harrigan, W.F.and M.E. McCance, 1976.Laboratory method in food and dairy microbiology. Academic press. INC London
13. Husan, F.H.; Almoswy, Z.A. and Abd, G.M 2008. Study and appreciation of some chemical quality and guantity charactrstic of leaves loquat plant, dyala journal, 31
14. Ju, J .H; Zhou, L; Lin, G.; Lin, D;Wang, L.W. and Yang, J.S. 2003. Studies on *Eriobotrya japonica* and anti inflammatory and antitussive effects. J. of Chin. Pharm., (38): 752-757
15. Lu ,H.; Shao ,X.; Cao ,J.; Ou,C. and Pan,D. 2016. Antimicrobial activity of eucalyptus essential oil against Pseudomonas in vitro and potential application in refrigerated storage of pork meat. Int.J. of food sci & techn., 51(4); 994-1001

16. Murakami, C.; Myoga ,K.; kasai ,R .; Othani, K.; Kurowkasca ,T.and Ishibashi, S. 1993. screening of plant constituenets for effect on glucose transpot activity in Ehrlich ascites tumour cells. chem and pharm. Bull. 41 (12): 2129-2131

17. Namba, T. 1994. the Encyclpedia of wakan-yaku (traditional sino Japanese medicines) with color pictures. VOL. 11,Hoikusha, Osaka, 80-82

18. Naimiki, M. 1990. Antioxidants antimutagens in food. Critical. Rev. in food sci. and Nutr., (29): 273-300

19. Oiye, S. O. and Muroki, N. M. 2002. Use of spices in food. The. J. of food tech. in. africa.,(7): 39-44

20. Pearson, D. 1973. The chemical Analysis of food. National collage of food technology, university of reading weybridage,surrey .U.K

21. Rashed, K. N.; and Butnaria, M; 2014. Isolation and Antimicrobial and Antioxidant Evaluation of Bio– Active compound from *Eriobotrya japonica* stems. J. Pharm. Bull, 4 (1): 75-81

22. Santhi, R.; G.; Lakshmi, A. Priyadharshinin , and L. Anandaraj, 2011. Phytochemical screening of Nerium oleander leaves and Momordica charantia leaves. Ins.Res.J. Pharma,2 (1): 131-135

23. Shi, x.k.; wang, Y. X.; Xu, H.Y. and pan, Y. H. 2004. the effect of several boiling chienes herbal medicineon intestinal microflora of mice. J. mudan. jiang. med. college (25):7-9

24. Taher, M. A. 1983. Princeple meat science, Agriculture mechanism. Albasrah university. the Republic of Iraq

25. Taskin, M. and Erdal, S. 2011. Utilization of waste loquat Eriobotrya japonica Lindl. kernel extract for anew cheap substrate for fungal fermentation. Romanian Biotechnol-ogical letters. 16, (1).

26. Tortora, G.J.;Funke, B.R. and case, C .L. 2001. Microbiology:An introduction, Benjamin Cummings. Sanfrancisco

27. Vasconcelos, M.A.; Royo, V.A.; Ferreira, D.S.; Crotti, A .E.; Andrade. E. and Silva,M.L. 2006. in vivo analgesic and anti–inflammatory activation of ursolic acid and oleanolic acid from *miconia albicans* (melastomataceae). zeitschrift fur naturforschung 61: 477-482.