تأثير مستخلصات الحبة السوداء في فعالية انزيمي اللايبيز والكيموسين

اكرم ثابت الراوي ازهار جواد الموسوي جنان رزاق الوائلي

الملخص

اجريت هذه الدراسة في مختبرات معمل البان كلية الزراعة التابع لقسم علوم الأغذية– كلية الزراعة– جامعة بغداد بهدف دراسة إمكان إضافة مستخلصات الحبة السوداء المائي والكحولي وزيتها الى الحليب قبل تصنيعه الى جبن من خلال معرفة تأثيرها في فعالية الأنزيمين اللايبيز والكيموسين لذا تضمنت الدراسة شقين شمل الشق الأول استخدام التراكيز 1، 2.5 و5% لكل من زيت الحبة السوداء *Nigella sativa* والمستخلصين الكحولي والمائي لها لمعرفة تأثيرها في فعالية انزيم اللايبيز، بلغت الفعالية الانزيمية 2.022، 2.028 و2.026 وحدة فعالية/مل للتراكيز الثلاثة من زيت الحبة السوداء على التوالي، و2.661، 2.657 و2.607 وحدة فعالية/مل للتراكيز الثلاثة من المستخلص الكحولي للحبة السوداء على التوالي، اما التراكيز نفسهامن المستخلص المائي للحبة السوداء فقد كانت الفعالية 2.504، 2.519 و2.500 عند بداية التجربة، وبعد حضن المعاملات بدرجة حرارة 37م وجد ان الفعالية بدات بالانخفاض تدريجيآ بتقدم مدة الحضن لتصل الى 0.835، 0.556 و0.278 وحدة فعالية/مل على التوالي بعد مرور 60 دقيقة من الحضن فيما يخص معاملات الزيت. والى 2.061، 1.610 و1.261 وحدة فعالية/مل على التوالي بعد مرور 60 دقيقة من الحضن لمعاملات المستخلص الكحولي وكذلك الحال حصل انخفاض بالفعالية بخصوص المعاملات الحاوية على المستخلص المائي للحبة السوداء .اما الشق الثاني فتضمن دراسة تأثير التراكيز نفسها من مستخلصات الحبة السوداء في الفعالية التخثرية لانزيم الكايموسين وقد اظهرت النتائج ان اضافة زيت الحبة السوداء والمستخلص الكحولي والمائي لها ساعدت في زيادة الفعالية التخثرية لانزيم الكايموسين بزيادة التراكيز المضافة وبتقدم مدة الحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 45 دقيقة، كما يظهرمن النتائج ان تاثير الزيت في الفعالية الانزيمية للايبيز والفعالية التخثرية للكايموسين كان اكثر من تأثير المستخلص الكحولي والمائي للحبة السوداء .

المقدمة

تعد الحبة السوداء *Nigella sativa* من النباتات العشبِية، وهي عبارةٌ عن حبوب سوداء، ذات رائحة وطعم عطْري، وتحتوي على أكثر من 30%زيوت ثابتة ، 4% %زيوتٌ طيارة و20% بروتين. وهي كذلك غنية ببعض الأملاح المعدنية والفيتامينات، وتحتوي بذور حبة البركة على حمض الأرغينين كما يحتوي زيت حبة البركة على العديد من الأحماض الدهنية الأساس. وعادة تستخدم حبة البركة بأكملها للأكل، كما تستخدم الحبة السوداء في كثير من البلدان العربية والآسيوية والإفريقية بعدها عشبة طبية وعلاجاً طبيعياً لمجموعة كبيرة من الأمراض ومنها ارتفاع مستوى الكليسيريدات الثلاثية، وكوليسترول البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة Low Density Lipoproteins (LDL) في البلازما، أيضا تـؤدى إلى حدوث زيـادة معنوية في مستوى كولسترول البروتينات الدهنية مـرتفعة الكثافة High Density Lipoproteins - HDL (11). تعد الحبة السوداء احدى المضادات للأكسدة وبهذا الصدد قام باحثون بإجراء دراسة لمعرفة تأثيرات الحبة السوداء كمضاد للأكسدة عند الفئران التي أعطيت رابع كلوريد الكربون Carbon Tetrachloride، أجريت هذه الدراسة على 60 فأرًا، أعطي عدد من الفئران زيت الحبة السوداء عبر البريتوان في البطن، وبعد مدة 45 يومًا وهي مدة الدراسة، وجد الباحثون أن زيت الحبة السوداء ينقص من معدل تأكسد الدهون Lipid Peroxidation ، كما ازداد النشاط المضاد للأكسدة. ومن المعلوم أن مضادات الأكسدة

كلية الزراعة، جامعة بغداد، بغداد، العراق

تساعد في وقاية الجسم من تأثير الجذور الحرة التي تساهم في إحداث تلف في العديد من الأنسجة، وفي عدد من الأمراض مثل تصلب الشرايين والسرطان والخرف وغيرها(12). كما أكدت دراسة أخرى نشرت في مجلة **Drug Chem Toxicol**في شهر مايو **2003** وجود التأثير المضاد للأكسدة في زيت الحبة السوداء، تحتوي حبة البركة على مادة **Nigellone** وهي أحد مضادات الأكسدة الطبيعية وكذلك الجلوتاثيون (6).أشارت دراسة كل من **Atta** و **Malik** (4) ان بذور الحبة الــسوداء تحتــوي على قلويدات خاصة بها اطلق عليها و **-Nigellimine-N oxid**و **Nigellicine Nigellidine** التي لا توجد في غيرها من النباتات الطبية الأخرى فضلا عن احتوائها على القلويدات الاخرى. وان احتواء البذورعلى التانينات والراتنجات يتفق مع ما ذكره **Chakravarty (7)** ، وأظهرت نتائج توصل لها عبد الصاحب وجماعته (3) ان بذور الحبة السوداء تحتوي على معظم المواد الفعالة مثل القلويدات والكلوسـيدات والراتنجات والـصابونيات والتانينات والكومارينات والفلوفونات . تعد المنفحة من أهم الأنزيمات المجبنة للحليب والمستخدمة عالمياً في صناعة معظم أنواع الجبن. وتوجد مصادر عديدة لإنتاج المنفحة، فقد تستخرج المنفحة من المعدة الرابعة لصغار الحيوانات المجترة قبل فطامها وهي تتضمن على نوعين من الأنزيمات: الكيموسين وهو يمثل القسم الأعظم والببسين بنسبة بسيطة. يستعمل أنزيم الرنين **Rennin** أو الكيموسين **Chymosine** (**EC.3.4.23.4**) الموجود في الخلايا المخاطية للمعدة الرابعة (الأنفحة **Abomasam**) لصغار الحيوانات المجترة الرضيعة ،وعندما يكبر الحيوان ويتوقف عن رضاعة الحليب (تتغذى على الأعلاف) يحل أنزيم الببسين **Pepsine** (**EC.3.4.23.1**) محل الرنين، كما تستخدم المنافح الميكروبية كالمستخرجة من فطر ***Mucor miehei*** او فطر ***Mucor pusillus*** المنتشرة في الاسواق وتحت مسميات تجارية مختلفة إذ وجد في دراسة أجريت في أمريكا بأنه **60%**من الجبن المصنع استخدمت فيه المنفحة الفطرية بينما أوربا وأسيا كانت قليلة ،وتختلف الأنزيمات البكترية والفطرية في فعلها ونشاطها عن الانزيم الرئيس إذ انها أكثر نشاطآ وفعالية على تحلل البروتينات أثناء الانضاج مما تنتج البتيدات والبيتونات والاحماض الامينية مقارنة مع المنفحة الحيوانية ، إن أنزيم الرنين هو بروتين من نوع الغلوبيولين وزنه الجزئي تقريآ **31.400** ونقطة تعادله الكهربائي **4.5** تقريباً.و يعد الرنين أنزيماً محللاً للرابطة البتيدية فينيل آلانين **105 – 106** في الكازين كابا ورقم الحموضة الأمثل لنشاطه هو**3.8** وهذا مايميزه عن أنزيم الببسين (**8** و **9** و**10** و**15** و **18**).ونظرا لقلة الدراسات المحلية على تأثير الحبة السوداء ***Nigella sativa*** في فعالية الانزيمات التي لبعضها عمل مهم في تصنيع الأغذية عموماً والألبان على وجه الخصوص وأن الحبة السوداء تستخدم مع العديد من الاجبان المحلية بشكل كامل فقد هدفت الدراسة الى تحديـد تـأثير المستخلـصات الخـام للحبة السوداء والمستوردة في فعالية انزيمي اللاييز والكيموسين .

المواد وطرائق البحث

أجريت هذه التجربة في مختبرات معمل ألبان كلية الزراعة التابع لقسم علوم الأغذية– كلية الزاعة– جامعة بغداد.تحضير مستخلصات الحبة السوداء: تم تحضير المستخلص المائي للحبة السوداء حصل عليها من الأسواق المحلية في محافظة بغداد بمزج الحبة السوداء بعد طحنها مع الماء بنسبة خلط **1**: **2** وزن : حجم وسخنت الى درجة حرارة **100**م لمدة **5** دقائق ، بردت لدرجة حرارة **25–27**م ورشحت من خلال قطعة قماش ململ ثم بقمع بخنر ، جمع الراشح في عبوات وحفظت في الثلاجة لحين الاستعمال. اما المستخلص الكحولي للحبة السوداء : فقد حضر بالنسب السابقة نفسها ولكن استخدم الايثانول (تركيزه **96%**) بدل الماء، ووضع في دورق على المازج المغناطيسي لمدة **24** ساعة ، بعدها رشح خلال ورق ترشيح (**Wattman No.1**) ثم وضعت في عبوات مناسبة لحين الاستعمال.واستخدمت الطريقة الباردة لاستخلاص الزيت من الحبة السوداء وذلك بطحن البذور (استعملت

الطاحونة المختبرية نوع National) ثم مزج مسحوق البذور مع مذيب الهكسان بنسبة 1 :4 (وزن : حجم) بواسطة المازج المغناطيسي لمدة 3 ساعات ، رشح المزيج باستعمال قمع بخنر تحت التفريغ ، وبخر المذيب باستعمال جهاز المبخر الدوار وبدرجة حرارة 40م وعدد دورات 100 دورة / دقيقة، تمت تعبئة الزيت المستخلص بقناني زجاجية معتمة وحفظت بالتبريد لحين الاستعمال. تحضر خزين المحلول الانزيمي لانزيم اللايبيز: وزن 0.5 غم من انزيم اللايبيز النقي في 100 مل ماء مقطر ومزج جيدا وحفظ في عبوات زجاجية معتمة لحين الاستعمال. اما المعاملات فقد تم تحضيرها كما يأتي: اخذت ثلاث احجام هي 1 و 2.5 و 5 مل من كل من المستخلص المائي والكحولي والزيت للحبة السوداء واكمل الحجم لكل معاملة الى 100 مل بالمحلول الانزيمي للايبيز .تقدير الفعالية الانزيمية : حضنت المعاملات بالنسب المذكورة آنفا من مسخلصات الحبة السوداء بدرجة حرارة 37م (وهي الدرجة الحرارية المثلى لعمل انزيم اللايبيز بوضعها في حمام مائي ذو حوض هزاز (60 دورة بالدقيقة) استمر الحضن لمدة 60 دقيقة واخذت عينات من هذه المعاملات في الأوقات 0 و 20 و 40 و60 دقيقة لتقدير الفعالية الانزيمية فيها حسب طريقة Bier (5) والمذكورة من قبل الراوي (2)، (عرفت وحدة الفعالية بانها كمية الانزيم القادرة على تحرير مايكرو مكافئ واحد من الحامض في أثناء دقيقة واحدة تحت ظروف التقدير.تقدير الفعالية التخثرية : قدرت بحسب الطريقة الموصوفة من قبل Tavaria وجماعته (17) واستخدمت المعادلة التي ذكرها كل من;Kawai Mukai (13) وعرفت وحدة الفعالية التخثرية بانها كمية الانزيم التي تخثر 10 مل من محلول الحليب الفرز بتركيز 10% المسترجع في 0.01 مولار كلوريد الكالسيوم td 40 دقيقة على درجة حرارة 35 م.

التحليل الاحصائي

استعمل البرنامج الاحصائي Statistical Analysis System – SAS (2012) في تحليل البيانات لدراسة تاثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة وفق تصميم عشوائي كامل (CRD) ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختيار اقل فرقا معنويا (LSD) (16) .

النتائج والمناقشة

أجريت هذه الدراسة على جزأين، في الجزء الاول درس تاثير استخدام تراكيز مختلفة لكل من زيت الحبة السوداء والمستخلص الكحولي والمستخلص المائي لها في فعالية انزيم اللايبيز (جدول 1)، إذ اختبرت ثلاثة تراكيز هي 1، 2.5 و5% من زيت الحبة السوداء واكمل الحجم الى 100 مل باستخدام المحلول الانزيمي للايبيز وقدرت الفعالية الانزيمية له فكانت كم يأتي 2.022، 2.028 و2.026 وحد فعالية/مل للتراكيز الثلاثة على التوالي عند بداية التجربة، وبعد حضن المعاملات بدرجة حرارة 37م لمدة 60 دقيقة وجد ان الفعالية بدأت بالانخفاض تدريجيا بتقدم مدة الحضن، اذ بلغت 1.969، 1.77 و1.734 وحدة فعالية/مل بعد مرور 20 دقيقة وانخفضت اكثر لتصل الى 1.761، 1.308 و0.801 وحدة فعالية/مل بعد مرور 40 دقيقة اما في نهاية مدة الحضن فد انخفضت الى 0.835، 0.556 و0.278 وحدة فعالية/مل على التوالي، بالمقابل تشير نتائج معاملة السيطرة وهي المعاملة الخالية من إضافة زيت الحبة السوداء الى ارتفاع واضح في الفاعلية الانزيمية لانزيم اللايبيز كلما تاخر وقت الحضن بدرجة حرارة 37م وهذا يتفق مع ما اشار اليه كل من Ozcan و Kurdal (15) بان انزيم اللايبيز ينشط عند توفر الظروف المناسبة لعمله ومنها درجة حرارة 37م، أيضا أظهرت النتائج ان زيادة التركيز المستخدم من زيت الحبة السوداء ادى الى انخفاض اكثر في فعالية انزيم اللايبيز، لذا يستدل من هذه النتائج ان لزيت الحبة السوداء تاثيرا

واضحا في تثبيط فعالية انزيم اللاييز ومن المحتمل ان يرجع سبب ذلك لاحتواء هذا الزيت على بعض المواد المثبطة لفعل اللاييز كالثيموكينون (1، 3).

جدول 1: تأثير إضافة زيت الحبة السوداء في فعالية انزيم اللاييز*

المعاملات	مدة الحضن (دقيقة)			
	0	20	40	60
السيطرة (محلول انزيمي فقط)	2.044	2.048	2.150	2.181
المحلول الانزيمي + 1% زيت الحبة السوداء	2.022	1.969	1.761	0.835
المحلول الانزيمي + 2.5% زيت الحبة السوداء	2.028	1.778	1.308	0.556
المحلول الانزيمي + 5% زيت الحبة السوداء	2.026	1.734	0.801	0.278
LSD	NS	NS	NS	NS

* القراءات تمثل معدلا لمكررين.

** NS ($p<0.05$)

بعدما حضر المستخلص الكحولي للحبة السوداء درس تاثيره في فعالية انزيم الاييز وبالتراكيز نفسها 1، 2.5 و5%، ويوضح الجدول (2) ان اضافة المستخلص الكحولي للحبة السوداء كان له تاثير واضح في خفض فعالية انزيم اللاييز، اذ كانت الفعالية الانزيمية للتراكيز المذكورة آنفا 2.661، 2.657 و2.607 وحدة فعالية/ مل على التوالي عند بداية الفحص ولكن بعد اجراء عملية حضن المعاملات لمدة 60 دقيقة وبدرجة حرارة 37م انخفضت الفعالية الأنزيمية إلى 2.061، 1.061 و1.261 وحدة فعالية/مل على التوالي بعد مرور 60 دقيقة من الحضن، في حين نجد ان الفعالية الأنزيمية لمعاملة السيطرة كانت 2.422 وحدة فعالية/مل عند بداية التجربة وارتفعت تدريجيا مع تقدم مدة الحضن لتبلغ 2.506 وحدة فعاية/مل بعد مرور 60 دقيقة من الحضن، وتظهر النتائج أيضا ان زيادة التركيز المستخدم من المستخلص الكحولي للحبة السوداء أدت الى تثبيط الفعالية الانزيمية أكثر.

جدول 2: تاثير المستخلص الكحولي للحبة السوداء في فعالية انزيم اللاييز*

المعاملات	مدة الحضن (دقيقة)			
	0	20	40	60
السيطرة (محلول انزيمي فقط)	2.422	2.435	2.496	2.506
المحلول الانزيمي + 1% مستخلص كحولي للحبة السوداء	2.661	2.412	2.378	2.061
المحلول الانزيمي + 2.5% مستخلص كحولي للحبة السوداء	2.657	2.282	2.209	2.061
المحلول الانزيمي + 5% مستخلص كحولي للحبة السوداء	2.607	2.583	1.891	1.261
LSD	NS	NS	NS	NS

* القراءات تمثل معدل لآلمكررين

** NS ($p<0.05$)

أيضا درس تأثير المستخلص المائي للحبة السوداء في تأثير فعالية انزيم اللاييز وكما في التجارب السابقة كان له تأثير جيد في تثبيط فعالية الانزيم اذ توضح النتائج في جدول 3 ان الفعالية الانزيمية انخفضت تدريجيا بزيادة التركيز المستخدم من المستخلص المائي للحبة السوداء وبزيادة مدة الحضن للمعاملات لغاية 60 دقيقة .وعند مقارنة الفعالية الانزيمية عند استخدام المستخلص المائي و المستخلص الكحولي للحبة السوداء مع تجربة استخدام زيتها يظهران تأثير الزيت في خفض فعالية انزيم اللاييز كان الاكثر وقد يرجع السبب الى ان اغلب المواد الفعالة والمثبطة تتركز في زيت الحبة السوداء كما اشار الى ذلك كل من التميمي (1) وعبد الصاحب وجماعته (3).

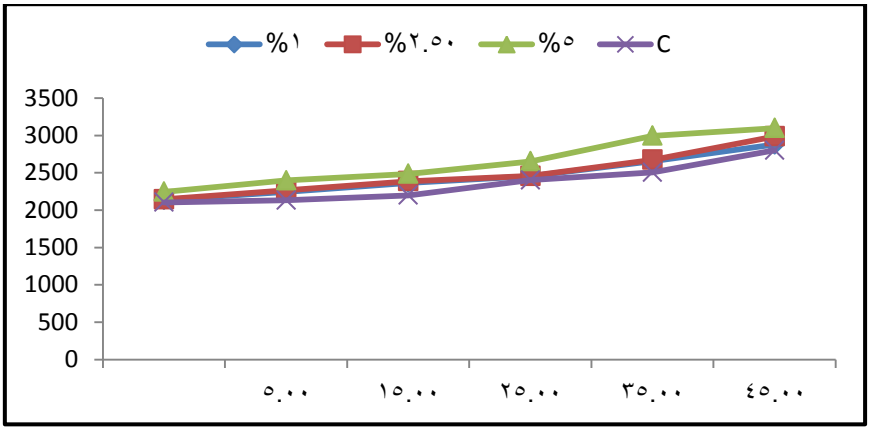
جدول 3: تاثير المستخلص المائي للحبة السوداء في فعالية إنزيم اللاييز*

المعاملات	مدة الحضن (دقيقة)			
	0	20	40	60
السيطرة (محلول إنزيمي فقط)	2.520	2.531	2.723	2.987
المحلول الأنزيمي + 1% زيت الحبة السوداء	2.504	2.503	2.410	2.137
المحلول الأنزيمي + 2.5% زيت الحبة السوداء	2.519	2.413	2.237	2.131
المحلول الأنزيمي + 5% زيت الحبة السوداء	2.500	2.270	2.119	1.690
LSD	NS	NS	NS	NS

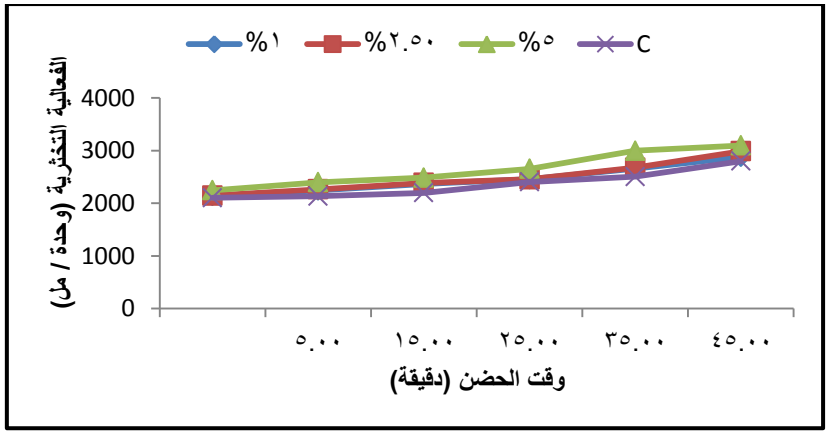
* القراءات تمثل معدلاً لمكررين.

** NS ($p<0.05$)

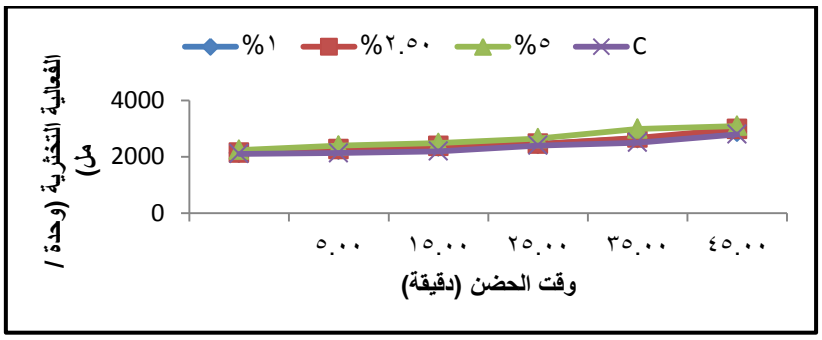
في الجزء الثاني من هذه الدراسة درس تأثير مستخلصات الحبة السوداء في الفعالية التخثرية لإنزيم الكيموسين، إذ استخدمت التراكيز السابقة نفسها (1، 2.5 و5%) من المستخلصات الثلاثة بإضافتها إلى الحليب ووضع في حمام مائي وبعد وصول درجة حرارته الى 34م أضيف محلول المنفحة (نوع Mucor miehei– المانية المنشأ– التي حضرت حسب تعليمات الشركة المجهزة) ، بعدها قدرت الفعالية التخثرية لإنزيم الكيموسين عند الأعمار 0، 5، 15، 25، 35 و45 دقيقة ، أشارت النتائج في الأشكال (1، 2 و 3) أن إضافة مستخلصات الحبة السوداء (الزيت والمستخلص الكحولي والمستخلص المائي) ساعدت في زيادة الفعالية التخثرية لإنزيم الكايموسين تدريجياً مع استمرار مدة الحضن بدرجة حرارة 34 م، كما تشير النتائج الى انه كلما زاد التركيز المستخدم من هذه المستخلصات زادت الفعالية التخثرية لانزيم الكيموسين مقارنة بمعاملة السيطرة التي تطورت فعاليتها التخثرية مع تقدم مدة الحضن ولكن بدرجة اقل من باقي المعاملات.ويمكن من خلال قراءة نتائج الاستنتاج بان استخدام المستخلص الكحولي للحبة السوداء أدى الى حصول تطور في الفعالية التخثرية لإنزيم الكيموسين بدرجة اقل مما ظهر عند استخدام الزيت، وان استخدام المستخلص المائي للحبة السوداء أدى ايضا" الى زيادة الفعالية التخثرية لإنزيم الكيموسين ولكن بدرجة اقل من الزيت والمستخلص الكحولي للحبة السوداء. ولعدم وجود دراسات في هذا المجال فانه يعتقد ان سبب التأثير الأكثر للزيت في زيادة الفعالية التخثرية للكايموسين قد يعود الى ان اغلب المواد الفعالة الموجودة في الحبة السوداء وهي كثيرة ومتنوعة تتركز في زيتها كما اشارت الى ذلك Morsi (14) وعبد الصاحب وجماعته (3).



شكل 1: تأثير زيت الحبة السوداء في الفعالية التخثرية لإنزيم الكايموسين



شكل 2: تأثير المستخلص الكحولي في الفعالية التخثرية لإنزيم الكايموسين



شكل 3: تأثير المستخلص المائي للحبة السوداء في الفعالية التخثرية لإنزيم الكايموسين

ومما سبق يمكن القول انه يمكن إضافة زيت الحبة السوداء الى الحليب قبل تصنيعه الى جبن وبالتراكيز 1، 2.5 و5%، إذ ان له عملاً في خفض فعالية انزيم اللاييز غير مرغوبة في بعض حالات تصنيع الأجبان وخصوصا الأجبان الطرية ويقلل من اكسدة وتحلل الدهون وايضا" سيحد من أثر الجذور الحرة التي لها تأثير ضار في جسم الانسان ، وفي الوقت نفسه سيعمل على زيادة فعالية إنزيم التخثر الكايموسين مما يساعد في الإسراع من عملية تخثر الحليب، أيضا" عند إضافة الزيت بهذا التركيز 5% سيساعد في الاستفادة من المواد الفعالة التي تتركز فيه وبالتالي لا داعي لإضافة الحبة السوداء كاملة الى الجبن بعد نهاية مرحلة التصنيع التي قد لاتكون مرغوبة من قبل بعض المستهلكين لا من حيث الطعم إذ انها تسبب الطعم المر ولا من حيث الشكل الذي يعود الى لونها الأسود ، اما فقدان جزء من الزيت إثناء عمليات تصنيع الجبن وخاصة عند أجراء عملية تصريف الشرش فان النسبة المتبقية منه سيكون له تأثير جيد فيما يخص فعاليتي إنزيمي اللاييز والكايموسين ، إذ كما ذكرنا سابقا" انه يكون فعال حتى في التركيز الأقل (1%).

المصادر

1- التميمي، اريج عدنان يوسف (2001). فعاليات مستخلصات الحبة السوداء المحلية ضد الاصابة المرضية ببكتريا ***E. coli*** في الفئران البيض. رسالة ماجستير –كلية التربية للبنات – جامعة بغداد ، العراق.

2- الراوي، مروان خالد حسون (2003). دراسة تاثير الخلايا البيض في تطور التحلل الدهني والبروتيني في حليب الابقار. رسالة ماجستير– كلية الزراعة – جامعة بغداد.

3- عبد الصاحب، رياض عبد الجبار؛ غازي منعم عزيز وحواء ناصر الملا (2008). تاثير المستخلصات الخام لبذور الحبة السوداء *Nigella sativa* في الاحياء المجهرية المعزولة من اصابات سريرية، المجلة العراقية للعلوم ، المجلد 49 ، العدد 2، الصفحة 72 – 81.

4- **Atta U.R. and S.O. Malik. (1995). Nigellidine, a new indazole alkaloid from seeds of *Nigella sativa*. J. Res Iinst; 36: 1993-1996.**

5- **Bier, M. (1955). Lipases . In: methods in Enzymlogy., Vol.1 (ed By Sidney, P. Colowich and Nathano, O. Kaplan). Academic press.**

6- **Burits, M. and F. Bucar. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativia* essential oil. Phytother .,Res., 914(5);323 – 328.**

7- **Chakravarty, H. ,L. (1976). Plant Weant of Iraq, (A. Dictionry of Economic Plant). Vol.1 Ministry of Agriculture and Ararian Refprm Baghdad , Iraq. P39-41.**

8- **Fox, P. F. ; T. P. Guinee, and T. M. Cogan. (2000) ."Enzymatic coagulation of milk," in Fundamentals of Cheese Science. Gaithersburg, Maryland, USA: Aspen Publishers, Inc. pp. 98-135.**

9- **Hayaloglu, A. A. B.; H. Ozer, and P.F. Fox. (2008)."Cheeses of Turkey: 2. Varieties ripened under brine," Dairy Sci. Technol., 88, (2): 225-244.**

10- **Horne, D. S. and J. M. Banks, (2004) ."Rennet-induced coagulation of milk" in Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, P. F. Fox, P. L. H., Mc Sweeney, T. M. Cogan, T. P. Guinee, Eds, vol. 1, 3rd ed., Amsterdam: Elsevier Ltd., pp.47- 70.**

11- **Kalus U., A. Pruss, J. Bystron, M. Jurecka, A. Smekalova, J.J. Lichius and H. Kiesewetter . (2003) .Effect of *Nigella sativa* (black seed) on subjective feeling in patients with allergic diseases. Phytother Res., Dec;17(10):1209-14.**

12- **Kanter M, I. Meral, S. Dede, H. Gunduz, M. Cemek, H. Ozbek and I. Uygan. (2003). Effects of *Nigella sativa* L. and Urtica dioica L. on lipid peroxidation, antioxidant enzyme systems and some liver enzymes in CCl4-treated rats., J. Vet. Med . Physiol. Pathol. Clin. Med., Jun; 50(5):264-8.**

13- **Kawai, M. and M. Mukai (1970). Studies on milk – clotting enzymes produced by Basidomycetes part 1- screening tests of Basidomycetes of milk – clotting enzymes. Agric. Biol. Chem., 34(1) : 159-166.**

14- **Morsi, N. M. (2000). Antimicrobial effect of crude extract of *Nigella Sativia* on multiple antibiotic resistant bacteria Aeta microbial pol., 49(1): 63-74.**

15- **Ozcan, T.and E. Kurdal. (2012). "The effects of using a starter culture, lipase and protease enzymes on ripening of Mihalic Cheese," Int. J. Dairy. Technol., 65(4): 585-593.**

16- **SAS. (20 12) . Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.**

17- **Tavaria, F. K., M.J. Sousa, A. Domingos, F.X. Malcata, P. Brodelius, A. Clment, and M.S. Pais. (1997). Degradation of caseins from milk of different species by extracts of Centaurea calcitrapa. Agric. Food Chem. 45 : 3760 – 3795.**

18- **Tulay , O. and E. Ufuk. (2013). Effect of Different Rennet Type on Physico-Chemical Properties and Bitterness in White Cheese. International Journal of Environmental Science and Development, 4 (1) February.**

EFFECT OF *Nigella sativa* EXRTACT IN ENZYMATIC ACTIVITY OF LIPAESES AND CHYMOSEIN

A. T. Al-Rawi A. J. AL-Mousawi J. R. Al-Waali

ABSTRACT

This study was done in the Laboratories of the Agriculture dairy plant related to Department of Food Sciences, Baghdad University, in order to study the possibility of adding the extracts of black seeds water and alcohol and its oil to the milk before it was processed into cheese by knowing its effect on the effectiveness of lipaeses and chymosein, This study included twofold , in the first one use Concentrations 1, 2.5 and 5% each for *Nigella sativa* oil and it's Alcoholic and water extracts To find out effect on lipases enzyme activity , the enzyme activity was 2.022, 2.028 and 2.026 u/ ml for three Concentrations of *Nigella Sativa* oil Consecutively, and was 2.661, 2. 657 and 2.607 u/ml for three Concentrations of Alcoholic extract , As for the same concentrations of water extract the enzyme activity was 2.504 , 2.519 and 2.500 u/ ml at the beginning of the experiment , after inception treatment at 37 ^{o}c the enzyme activity gradually began to decline with progress of incuption period to arrive to 0.835 , 0.556 and 0.278 u/ml after 60 seconds for oil treatments , and to 2.061 , 1.610 and 1.261 u/ ml after 60 seconds for alcoholic extract treatments as well happened decreasing in the activity for the water extract treatments . The second part Included study *Nigella sativa* extracts effect on coagulation activity for Chymosein enzyme , Results showed add that *Nigella Sativa* oil , alcoholic and water extracts helped to increase Coagulation activity for chymosein enzyme with increase added concentrations and increase the incuption period at 37^{o}c for 45 minutes, apparently from this results that oil effect on the lipases and chymosen activity was mor than effect of *Nigella sativa* alcoholic and water extracts.

Collage of Agric., Baghdad Univ., Baghdad, Iraq.