تأثير إضافة زيت قشور الليمون للأغلفة المصنعة من الجيلاتين وألجينات الصوديوم في بعض الخصائص الميكروبية للحم صدر الفروج المخزّن بالتبريد

نسرين قربي [1]* وعبد الحكيم عزيزية [1] وعبد الوهاب مرعي [1] ونزار عيسى [2]

(1) قسم علوم الأغذية ، كلية الزراعة ، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

(2) قسم البيولوجيا ، كلية العلوم ، جامعة دمشق ، دمشق، سورية.

(*للمراسلة: م. نسرين قربي. البريد الالكتروني: nisreenqurabie90@gmail.com).

تاريخ الاستلام: 15/ 2021/06 تاريخ القبول: 2021/08/24

الملخَّص

أجريت هذه الدراسة في مخابر قسم علوم الأغذية–كلية الزراعة ومخابر قسم البيولوجيا في كلية العلوم بجامعة دمشق في الفترة الواقعة بين تشرين الأول 2020 ونيسان 2021م، بهدف تحديد فترة صلاحية التخزين المبرَّد للحم صدر الفروج المعبَّأ في أغلفة من الجيلاتين مع ألجينات الصوديوم القابلة للأكل والتي تحتوي على زيت قشور الليمون (LPO) بنسب مختلفة، حيث حُضّر زيت قشور الليمون بالتقطير، وحُضرت أغلفة الجيلاتين مع ألجينات الصوديوم بإضافة LPO بنسبة (0، 0.5، 1، 1.5، 2 %)، وغُلفت بها عينات شرائح لحم صدر الفروج الطازجة، وخُزنت في البراد عند درجة الحرارة (4±1 °م) ولفترات زمنية (0، 3، 7، 11، 14، 18) يوماً على التوالي، بعد ذلك تمت دراسة تأثير المعاملات المختلفة خلال فترات التخزين المذكورة سابقاً في الحمولة الميكروبية بما فيها التعداد العام للبكتريا، تعداد كل من البكتريا القولونية *Coliform*، السالمونيلا *Salmonella spp.*، تعداد الخمائر والفطريات، *Shigella spp.*، *Pseudomonas spp.*، *Clostridium botulinum*، والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*. أظهرت نتائج التحليل الميكروبي أن العينات المعبّأة بالأغلفة التي تحتوي على زيت قشور الليمون بنسبة (1.5، 2 %) قد أعطت أفضل صفات ميكروبية خلال 14 يوماً من التخزين حيث بلغ التعداد العام للبكتريا 4.9×10^{6}، 3.6×10^{6} خلية/غ على التوالي، وتعداد البكتريا القولونية *Coliform* 2.8×10^{3}، 2.3×10^{3} خلية/غ على التوالي، وتعداد الخمائر والفطريات 2.6×10^{3}، 2.4×10^{3} خلية/غ على التوالي، بينما لم يلاحظ نمو كل من بكتريا السالمونيلا *Salmonella* spp.، *Shigella spp.*، *Pseudomonas spp.*، *Clostridium botulinum*، والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* خلال مدة التخزين المبرّد.

الكلمات المفتاحية: زيت قشور الليمون، جيلاتين، الأغلفة القابلة للأكل، صدر الفروج، الخصائص الميكروبية، التخزين المبرَّد.

المقدمة:

تعرّف الأغلفة القابلة للأكل بأنها طبقة رقيقة (أقل من 0.3 مم) تستخدم لتغليف الأغذية مصنوعة من مركبات قابلة للأكل، وهي مواد قابلة للتحلل الحيوي صديقة للبيئة تزيد من جودة وسلامة المنتجات الغذائية (Bourtoom, 2008)، حيث أنها تقلل من استخدام الأغلفة البلاستيكية؛ كونها تمنع نفاذية غاز الأكسجين O_2 وغاز ثاني أكسيد الكربون CO_2 إلى داخل المنتج، كما تقلل من فقدان الرطوبة ومركبات النكهة الطيّارة والمواد الذائبة إلى خارج المنتج (Krochta, 2002)، وتقلل من التفاعلات الكيميائية والإنزيمية غير المرغوبة (Janjarasskul *et al.*, 2014) وتخفض معدل تفاعلات الأكسدة والتنفس الخلوي الذي يؤدي إلى تلف الأنسجة وتقليل مدة صلاحية الأغذية (Hambleton *et al*, 2009)، إضافة إلى أنها توفر الحماية ضد الأضرار الميكانيكية للأغذية وتحافظ على الصفات الحسية المرغوبة للمنتج الغذائي دون تغيير فيها.

تتكون هذه الأغلفة بشكل أساسي من سلاسل من السكريات المتعددة أو البروتينات أو الليبيدات أو تكون مركبة، ويتم تحضيرها من مواد يمكن تطبيقها على شكل غشاء رقيق، وقادرة على الانحلال في الماء والكحول لتشكيل محاليل مائية وأخرى كحولية (Bourtoom, 2008)، كما يمكن إضافة أنواع مختلفة من الملونات والمنكهات والملدنات (الغلسيرول والسوربيتول والغليسريدات الأحادية وغليكول عديد الإيتيلين والغلوكوز) ومضادات الأكسدة ومضادات النمو الميكروبي (Han and Gennadios, 2005, Vásconez *et al*, 2009).

الجيلاتين هو عبارة عن مزيج من البروتينات المنحلة في الماء والمشتقة من الكولاجين (البروتين الرئيسي للأنسجة الضامة) بعمليات حلمهة حرارية (Singh and Pakhale, 2006)، تتألف هذه البروتينات من الأحماض الأمينية والتي ترتبط مع بعضها بواسطة الرابطة الأميدية لتشكيل بوليمير خطي (Singh *et al*, 2002).

استخدم الجيلاتين في تحضير الأغلفة القابلة للأكل منذ عام 1960م (Hanani *et al*, 2012)، وذلك لانخفاض كلفته وتوفره، وتتميز أغشيته بأنها شفافة ذات خواص ميكانيكية وحجزية جيدة (Hanani *et al*, 2013).

تحتوي أغلفة الجيلاتين على الجيلاتين بنسبة 20–30% وعلى الملدن (غلسيرول) بنسبة 10–30% وعلى الماء بنسبة 40–70% (Hassan *et al*, 2018)، ويمكن إضافة السكريات المتعددة (الألجينات، الكاراجينات، الكيتوزان، الصمغ العربي، ...) بهدف تحقيق استقرار المستحلبات المتشكلة كما يمكن إضافة المستخلصات الزيتية للخضراوات لتحسين الخصائص الحسية والحفظية للأغلفة القابلة للأكل (Valenzuela *et al*, 2013, Pereda *et al*, 2014).

تركز الاهتمام على الأغلفة القابلة للأكل واستخدام مواد مختلفة في تحضيرها، وتم تطبيقها على اللحوم الحمراء والبيضاء، إلى أن تطورت تقنيات جديدة تضمنت إضافة مواد مضادة للأكسدة ومواد مضادة للنمو الميكروبي أو مواد مغذية ترتبط مع مكونات الغلاف وتعدّل خصائصه الأساسية، كإضافة مستخلصات زيتية طبيعية (الزيوت العطرية) (Choulitoudi *et al*, 2016).

تنتقل الأحياء الدقيقة الأساسية الملوثة للحوم من الحيوان ذاته أثناء عملية الذبح وخلال تجهيز الذبائح من قبل العمال ومن الأجهزة المستخدمة في الذبح ومنصات التقطيع والأدوات المستخدمة في التقطيع (Serraino *et al*, 2012).

تم تطبيق الأغلفة المستحلبة والتي تحتوي على الزيوت العطرية على لحوم الدواجن المخزنة بالتبريد مما أدى إلى تأخير نمو البكتريا سالبة الغرام (*S.typhimurium* و *Pseudomonas spp.*) (Göğüş *et al*, 2004).

أيضاً تمت إطالة مدة صلاحية اللحوم المخزنة بالتبريد بتطبيق الأغلفة التي تحتوي على الزيوت العطرية (Viuda-Martos *et al*, 2008)، كما أدى تطبيق الأغلفة القابلة للأكل والتي تحتوي على الكاراجينات والجيلاتين على السجق إلى منع فقدان الرطوبة (Tyburcy *et al*, 2006).

تعطي إضافة الزيوت الأساسية للحمضيات إلى أغلفة الجيلاتين نشاطاً مضاداً للنمو الميكروبي وخاصة بكتريا *S.aureus* و*Listeria monocytogenes*، كما أنها تحسن من الخصائص الفيزيوكيميائية لها (Ahmadş *et al*, 2012).

يحتوي الزيت العطري المستخلص من قشور الليمون على الليمونين limonene بنسبة 62.15%، ويتواجد على شكل سيكلو تربين وهو فحم هيدروجيني عديم اللون يتواجد على هيئة سائل عند درجة الحرارة والضغط الطبيعيين، وله القدرة على إذابة الدهون (Sikdar and Nikila, 2017)، ويحتوي أيضاً على الفالينسين valencene والأوسايمين ocimene (Moufida and Marzouk, 2003)، ويعمل كمضاد للنمو الميكروبي بفعالية أكبر من بقية الزيوت الأخرى، كما وجد أن البكتريا موجبة الغرام أكثر حساسية لهذه الزيوت من البكتريا سالبة الغرام (بدر الدين وآخرون، 2013).

أظهرت البكتريا موجبة الغرام حساسية لزيت قشور الليمون عند التركيز (0.039–1.25 مغ/مل) أما البكتريا سالبة الغرام عند التركيز (0.625–2.5 مغ/مل) (Hyldgaard *et al*, 2012).

نظراً للمشاكل البيئية الناتجة عن البلاستيك الصناعي، وزيادة الطلب على الأغلفة الطبيعية القابلة للتحلل الحيوي، وبسبب خطر استخدام المواد الحافظة الصناعية، والخصائص المضادة للأكسدة والنمو الميكروبي للأغلفة التي تحتوي على الزيوت العطرية، وقلة الدراسات المحلية التي تُعنى باستخدام الجيلاتين وألجينات الصوديوم، إضافة إلى قصر فترة صلاحية اللحوم الطازجة ومنتجاتها، **كانت أهداف البحث مايلي:**

1- تحضير أغلفة الجيلاتين مع ألجينات الصوديوم القابلة للأكل والتي تحتوي على زيت قشور الليمون LPO بنسب مختلفة.

2- معاملة شرائح لحم صدر الفروج الطازجة بهذه الأغلفة.

3- دراسة تأثير استخدام هذه الأغلفة في الصفات الميكروبية لشرائح لحم صدر الفروج المخزّن بالتبريد ودراسة صلاحيتها للاستهلاك البشري.

4- تحديد نسبة الزيت الأنسب لإطالة مدة صلاحية شرائح لحم صدر الفروج الطازجة مع المحافظة على صفات الجودة الميكروبية خلال فترة التخزين المبرد.

مواد البحث وطرائقه:

1- عينات لحم صدر الفروج الطازجة:

تم شراء عينات لحم صدر الفروج الطازجة بعد الذبح مباشرة، ووُضعت في أكياس معقمة وأُغلقت بشكل جيد، ونُقلت مبردة إلى المخبر.

تم تطبيق الأغلفة على العينات وخُزنت داخل البراد عند درجة الحرارة (4±1 °م) ولفترات زمنية (0، 3، 7، 11، 14، 18) يوماً على التوالي.

أُجريت التحاليل الميكروبية على العينات خلال فترات التخزين المذكورة سابقاً، وبمعدل ثلاثة مكررات لكل فترة حفظ.

2- تحضير أغلفة الجيلاتين والألجينات بإضافة زيت قشور الليمون LPO:

تم تحضير زيت قشور الليمون باتباع طريقة (Sikdar and Nikila, 2017)، حيث جُمعت قشور الليمون وغُسلت ثم أُخذ 100 غ منها في دورق التقطير وأُضيف لها 200 مل ماء مقطر واستمر الاستخلاص لمدة 3-4 ساعات عند درجة حرارة 96 °م، بعدها جُمع ناتج التقطير وفُصل عن الماء بالتثفيل بسرعة 6000 دورة/دقيقة مدة 20 دقيقة، وعُبّأ في عبوات عاتمة محكمة الاغلاق وحُفظ عند درجة حرارة 4 °م إلى حين الاستخدام.

تم تحضير غلاف الجيلاتين مع ألجينات الصوديوم باتباع طريقة (Adilah *et al*, 2018) مع بعض التعديلات، حيث تم تحضير محلول كربوكسي ميتيل السيللوز CMC بتركيز (2%) من خلال إذابته في الماء المقطر مع التحريك بواسطة المحرك المغناطيسي عند درجة حرارة 60 °م لمدة 20 دقيقة، بعد ذلك أضيف الغلسيرول بنسبة (35%) مع التحريك عند درجة حرارة 45 °م لمدة 15 دقيقة، ثم أضيف الجيلاتين بتركيز (4% وزن/حجم) مع التحريك عند درجة حرارة 60 °م لمدة 15 دقيقة، ثم أضيفت ألجينات الصوديوم على شكل بودرة إلى المحلول بتركيز (3%) مع التحريك الخفيف عند درجة حرارة 45 °م لمدة 20 دقيقة في حمام مائي، وفي النهاية أضيف زيت قشور الليمون LPO للمحلول بنسبة (0، 0.5، 1، 1.5، 2 %) عند درجة حرارة 25 °م مع التحريك لمدة 30 دقيقة.

تم التخلص من الفقاعات الهوائية باستخدام جهاز ultrasonic تحت التفريغ، وسكب 85 غ من المحلول في طبق بتري زجاجي دائري (قطره 22.2 سم)، جُفف الغلاف عند درجة حرارة 25 °م لمدة 48 ساعة، وخزن عند درجة حرارة 25 ± 2 °م ورطوبة نسبية 50 ± 5 % لمدة 48 ساعة قبل استخدامه.

3- التحاليل الميكروبية:

- تم إجراء التعداد العام للبكتريا باستخدام بيئة Nutrient Agar (N.A) باتباع طريقة (م.ق.س 600، 2005).
- تم التحري عن البكتريا القولونية *Coliform* باستخدام بيئة (Violet Red Bile (VRB) Agar) باتباع طريقة (م.ق.س 2382، 2009).
- تم التحري عن بكتريا السالمونيلا *Salmonella spp.* باستخدام وسط (Selenite Cestine broth) وبيئة ((Salmonella Shegilla agar (S.S.Agar) باتباع طريقة (م.ق.س2477، 2001).
- تم التحري عن الخمائر والفطريات باستخدام بيئة (Potato Dextrose Agar) باتباع طريقة (م. ق. س 2503، 2001).
- تم التحري عن بكتريا الشجيلا *Shigella spp.* باستخدام وسط (Selenite Cestine broth) وبيئة Salmonella ((Shegilla agar (S.S.Agar) باتباع طريقة (م.ق.س2477، 2001).
- تم التحري عن بكتريا البسيدوموناس *Pseudomonas spp.* باستخدام بيئة (Cetrimide Agar) باتباع طريقة (ISO 13720, 2010).
- تم التحري عن بكتريا الكلوستريديوم بوتولينيوم *Clostridium botulinum* باستخدام بيئة (Tryptose Sulfite Cycloserine (TSC) Agar) باتباع طريقة (Labbe, 2001).

– تم التحري عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* باستخدام بيئة (Baird Parker Agar) باتباع طريقة (ISO 6888-1, 2003).

النتائج والمناقشة:

1- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في التعداد العام للبكتريا في لحم صدر الفروج:

يبين الجدول (1) أن التعداد العام للبكتريا قد ارتفع مع ازدياد مدة التخزين حيث فسدت عينة الشاهد بعد 7 أيام في حين فسدت العينات المخزنة باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون بنسبة (0، 0.5، 1 % على التوالي) بعد 11 يوماً، أما عينات لحم صدر الفروج المخزنة باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون بنسبة (1.5، 2 % على التوالي) فقد ارتفع التعداد العام فيها من 10×5.6^{4} خلية/غ قبل التخزين إلى 10×4.9^{6}، 10×3.6^{6} خلية/غ على التوالي بعد التخزين حيث حافظت على جودتها الميكروبية مدة 14 يوماً وذلك اعتماداً على (المواصفة القياسية السورية 3468، 2009) والتي اعتبرت 10^{7} خلية/غ الحد الأقصى المسموح به للأحياء الدقيقة في لحوم الفروج الطازجة، وكان هذا الارتفاع أقل مع زيادة نسبة زيت قشور الليمون المضاف للأغلفة وذلك بسبب التركيب الكيميائي للزيت حيث أنه يحتوي على مواد فعّالة مثل (DL-Limonene، p-Cymene، α-Terpineol، β-Pinene، 4-Terpineol، Linalol acetate، β-Bisabolene) تعمل كمضاد للنمو الميكروبي (Viuda-Martos *et al*, 2008).

إن سبب ارتفاع التعداد العام للبكتريا يعود إلى ارتفاع درجة الـ pH حيث أنها تعتبر من العوامل الداخلية التي تؤثر في نمو الأحياء الدقيقة والتي ينمو معظمها على أوساط قلوية خفيفة تتراوح حموضتها بين (7–7.8)، وهذا يتوافق مع (Wongwicharn *et al*, 2009)، وقد أشار البعض إلى وجود علاقة طردية بين درجة الـ pH والتعداد العام للبكتريا النامية على لحوم الفروج المخزنة بالتبريد حيث أن القيمة العالية لها تشكل وسطاً مناسباً لنمو البكتريا إضافة إلى العوامل الأخرى التي ساهمت إلى جانب درجة الـ pH في زيادة التعداد العام مثل التركيب الكيميائي للحم ودرجة حرارة التخزين (Aksu *et al*, 2006).

الجدول 1. التعداد العام للبكتريا في لحم صدر الفروج أثناء التخزين باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون (خلية/غ)

المعاملة	الشاهد	% LPO				
فترة الحفظ (يوم)	(بدون تغليف)	0	0.5	1	1.5	2
0	10×5.6^{4}	10×5.6^{4}	10×5.6^{4}	10×5.6^{4}	10×5.6^{4}	10×5.6^{4}
3	10×6.3^{5}	10×9.8^{4}	10×8.5^{4}	10×8.3^{4}	10×6.9^{4}	10×6.2^{4}
7	10×8.8^{6}	10×6.6^{5}	10×4.6^{5}	10×4.2^{5}	10×8.7^{4}	10×8.2^{4}
11	++	10×7.3^{6}	10×4.4^{6}	10×3.9^{6}	10×9.1^{5}	10×6.5^{5}
14	++	++	++	++	10×4.9^{6}	10×3.6^{6}
18	++	++	++	++	++	++

* ++: نمو البكتريا بأعداد كبيرة.
* تشير الأرقام ضمن الجدول إلى متوسط ثلاثة مكررات.

2- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في تعداد البكتريا القولونية *Coliform* في لحم صدر الفروج:

يبين الجدول (2) ارتفاع تعداد البكتريا القولونية *Coliform* مع زيادة مدة التخزين من 10×1.3^{2} خلية/غ قبل التخزين إلى 10×6.6^{4}، 10×4.1^{4}، 10×3.5^{4}، 10×2.9^{4}، 10×8.8^{3}، 10×7.8^{3} خلية/غ على التوالي في عينة الشاهد وعينات لحم صدر الفروج المخزنة باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون بنسبة (0، 0.5، 1، 1.5، 2 % على التوالي) وذلك بعد 18 يوماً من التخزين، وكان الارتفاع أقل مع زيادة نسبة زيت قشور الليمون المضاف.

نتيجة عدم وضع المواصفة القياسية السورية للحد المسموح به لبكتريا الكوليفورم *Coliform* في لحم الفروج الطازج فقد اعتمدت دراسة قام بها (Saucier *et al*, 2000) حيث أشار إلى أن الحد المسموح به لبكتريا الكوليفورم *Coliform* في لحم الفروج الطازج في المواصفة الكندية يجب ألا يتجاوز 10^{3} خلية/غ، لكن جميع العينات قد تجاوزت هذا الحد خلال مدة التخزين، يعود وجودها إلى عدم اتباع أو تطبيق الشروط الصحية خلال الذبح والتجهيز والنقل وهذا يتوافق مع (Jimenez *et al*, 2003) والذي أشار إلى أن تعداد البكتريا القولونية *Coliform* يتعلق بالظروف السائدة أثناء الذبح والتجهيز، أما تفاوت تعدادها بين المعاملات فيعود إلى تأثير زيت قشور الليمون المضاف المضاد لنمو البكتريا القولونية *Coliform* سالبة الغرام وهذا ما أشار إليه (Hyldgaard *et al*, 2012).

الجدول 2. تعداد البكتريا القولونية *Coliform* في لحم صدر الفروج أثناء التخزين باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون (خلية/غ)

المعاملة	الشاهد	% LPO				
فترة الحفظ (يوم)	(بدون تغليف)	0	0.5	1	1.5	2
0	10×1.3^{2}	10×1.3^{2}	10×1.3^{2}	10×1.3^{2}	10×1.3^{2}	10×1.3^{2}
3	10×4.6^{2}	10×4.4^{2}	10×3.6^{2}	10×3.4^{2}	10×2.3^{2}	10×1.9^{2}
7	10×9.2^{2}	10×7.3^{2}	10×6.3^{2}	10×5.7^{2}	10×2.9^{2}	10×2.4^{2}
11	10×4.8^{3}	10×2.9^{3}	10×2.2^{3}	10×1.9^{3}	10×7.1^{2}	10×6.8^{2}
14	10×3.7^{4}	10×2.4^{4}	10×1.6^{4}	10×1.1^{4}	10×2.8^{3}	10×2.3^{3}
18	10×6.6^{4}	10×4.1^{4}	10×3.5^{4}	10×2.9^{4}	10×8.8^{3}	10×7.8^{3}

* تشير الأرقام ضمن الجدول إلى متوسط ثلاثة مكررات.

3- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في تعداد بكتريا السالمونيلا *Salmonella spp.* في لحم صدر الفروج:

بالنسبة لبكتريا السالمونيلا *Salmonella spp.* فقد بيّن الجدول (3) أنه لم يتم العثور عليها في عينات لحم صدر الفروج قبل التخزين، لكنها ظهرت في اليوم 14 من التخزين في عينة الشاهد فقط.

إن ظهور بكتريا السالمونيلا *Salmonella spp.* في عينة الشاهد فقط وعدم ظهورها في العينات الأخرى على الرغم من أن جميع العينات قد أُخذت من نفس الذبائح وعُوملت بنفس الأدوات المعقمة وخُزنت عند درجة الحرارة ذاتها طيلة فترة التخزين دليل على توفر الشروط المناسبة والتي أدت إلى نشاطها واكتشافها ضمن بعض العينات، أو بسبب تلوث تلك العينات خلال معاملتها قبل التخزين وعدم ملائمة درجة الحموضة لنمو البكتريا في باقي العينات (Nychas *et al*, 2008)، كما أن زيت قشور الليمون المضاف للأغلفة يمكن أن يعمل كمضاد لنمو بكتريا السالمونيلا *Salmonella spp.* سالبة الغرام (Hyldgaard *et al*, 2012).

الجدول 3. تعداد بكتريا السالمونيلا *Salmonella spp.* في لحم صدر الفروج أثناء التخزين باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون (خلية/غ)

المعاملة فترة الحفظ (يوم)	الشاهد (بدون تغليف)	% LPO				
		0	0.5	1	1.5	2
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-
14	+	-	-	-	-	-
18	+	-	-	-	-	-

* -: عدم نمو البكتريا.
* +: نمو البكتريا.

4- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في تعداد الخمائر والفطريات في لحم صدر الفروج:

نلاحظ من الجدول (4) أنه لم يتم العثور على الخمائر والفطريات في عينات لحم صدر الفروج قبل التخزين لكنها بدأت بالظهور في اليوم الثالث من التخزين بسبب التلوث خلال المعاملات المختلفة أو توفر الظروف الملائمة لنموها مثل درجة الحرارة، درجة الـ pH، الأكسجين، الرطوبة، والمواد المغذية، وبدأت بالارتفاع مع زيادة مدة التخزين وبلغت القيم 10×8.3^{5}، 10×7.1^{4}، 10×6.2^{4}، 10×4.4^{4}، 10×3.2^{4}، 10×1.0^{4} خلية/غ على التوالي في عينة الشاهد وعينات لحم صدر الفروج المخزنة باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون بنسبة (0، 0.5، 1، 1.5، 2 % على التوالي) وذلك بعد 18 يوماً من التخزين، لكن هذا الارتفاع كان أقل مع زيادة نسبة زيت قشور الليمون المضاف، وذلك بسبب احتوائه على مواد مضادة للنمو الفطري مثل الليمونين والأوسايمين (Moufida and Marzouk, 2003, Viuda-Martos *et al*, 2008).

الجدول 4. تعداد الخمائر والفطريات في لحم صدر الفروج أثناء التخزين باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون (خلية/غ)

المعاملة فترة الحفظ (يوم)	الشاهد (بدون تغليف)	% LPO				
		0	0.5	1	1.5	2
0	-	-	-	-	-	-
3	10×8.4	10×3.9	10×3.7	10×3.4	10×3.3	10×3.1
7	$^{2}10\times9.8$	$^{2}10\times2.0$	$^{2}10\times1.8$	$^{2}10\times1.6$	$^{2}10\times1.2$	$^{2}10\times1.0$
11	$^{3}10\times2.7$	$^{2}10\times7.1$	$^{2}10\times6.9$	$^{2}10\times6.5$	$^{2}10\times6.1$	$^{2}10\times5.8$
14	$^{4}10\times5.8$	$^{3}10\times4.8$	$^{3}10\times3.7$	$^{3}10\times2.9$	$^{3}10\times2.6$	$^{3}10\times2.4$
18	$^{5}10\times8.3$	$^{4}10\times7.1$	$^{4}10\times6.2$	$^{4}10\times4.4$	$^{4}10\times3.2$	$^{4}10\times1.0$

* -: عدم نمو البكتريا.
* تشير الأرقام ضمن الجدول إلى متوسط ثلاثة مكررات.

5- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في تعداد بكتريا *Shigella spp.* في لحم صدر الفروج:

بينت نتائج التحليل الميكروبي أنه لم يتم العثور على بكتريا الشجيلا *Shigella spp.* في عينات لحم صدر الفروج قبل التخزين ولم تظهر خلال فترات التخزين وتمت متابعة عملية البحث عنها وإخضاع جميع العينات للتحليل حسب الفترات

الزمنية للحفظ دون اكتشاف أي أثر لوجودها، يعود ذلك إلى خلو لحم الفروج المستخدمة في التجربة منها أو عدم توفر الشروط المناسبة لنموها واكتشافها ضمن بعض العينات أو تأثير زيت قشور الليمون المضاف إلى الأغلفة المضاد لنموها (Viuda-Martos *et al*, 2008, Mnayer *et al*, 2014).

6- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في تعداد بكتريا *Pseudomonas spp.* في لحم صدر الفروج:

أيضاً بينت نتائج التحليل الميكروبي أنه لم يتم العثور على بكتريا *Pseudomonas spp.* في عينات لحم صدر الفروج قبل التخزين ولم تظهر خلال فترات التخزين وتمت متابعة عملية البحث عنها وإخضاع جميع العينات للتحليل حسب الفترات الزمنية للحفظ دون اكتشاف أي أثر لوجودها.

يعود عدم نمو بكتريا البسيدوموناس *Pseudomonas spp.* في عينات لحم الفروج إلى خلو لحم الفروج المستخدمة في التجربة منها أو إلى التبريد السريع للحم الفروج والذي يعمل على تثبيط نمو البكتريا المحبة للبرودة البسيدوموناس *Pseudomonas spp.* وهذا يتوافق مع (Karabagias *et al*, 2011, Herbet *et al*, 2013).

7- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في تعداد بكتريا *Clostridium botulinum* في لحم صدر الفروج:

بالنسبة لبكتريا الكلوستريديوم بوتولينيوم *Clostridium botulinum* فقد أظهرت نتائج التحليل الميكروبي أنه لم يتم العثور عليها في عينات لحم صدر الفروج قبل التخزين ولم تظهر خلال فترات التخزين علماً أنه تم تحضين الأطباق ضمن ظروف لا هوائية وتمت متابعة عملية البحث عنها وإخضاع جميع العينات للتحليل حسب الفترات الزمنية للحفظ دون اكتشاف أي أثر لوجودها.

لم تظهر بكتريا الكلوستريديوم بوتولينيوم *Clostridium botulinum* في جميع العينات وذلك يتوافق مع (المواصفة القياسية السورية 3468، 2009) والتي اشترطت خلو لحوم الفروج من البكتريا الممرضة، يعود ذلك إلى أنّ أعدادها لم تصل إلى أعداد كبيرة بحيث يمكن اكتشافها، أو أنّ نمو بكتريا العصيات اللبنية *Lactobacillus spp.* قد منع نموها بسبب إنتاجها العديد من المستقلَبات (مثل الحموض العضوية كحمض اللبن وحمض الخل، وفوق أكسيد الهيدروجين وثنائي أسيتيل والبكتريوسينات)، وهذا ما توصل إليه (Gordon وزملاؤه، 2010)، أو أن إضافة زيت قشور الليمون قد أدت إلى منع نموها (Mnayer *et al*, 2014).

8- تأثير إضافة زيت قشور الليمون في تعداد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* في لحم صدر الفروج:

كما بينت نتائج التحليل الميكروبي أنه لم يتم العثور على بكتريا *Staphylococcus aureus* في عينات لحم صدر الفروج قبل التخزين ولم تظهر خلال فترات التخزين وتمت متابعة عملية البحث عنها وإخضاع جميع العينات للتحليل حسب الفترات الزمنية للحفظ دون اكتشاف أي أثر لوجودها، يعود ذلك إلى خلو عينات لحم صدر الفروج منها (Viuda-Martos *et al*, 2008, Mnayer *et al*, 2014).

الاستنتاجات:

- أدى تخزين شرائح لحم صدر الفروج عند درجة حرارة (4±1 °م)، باستخدام أغلفة الجيلاتين مع ألجينات الصوديوم القابلة للأكل والتي تحتوي على زيت قشور الليمون بنسب مختلفة إلى عرقلة نمو الأحياء الدقيقة، وبالتالي إلى زيادة مدة الحفظ بالمقارنة مع عينة الشاهد.
- تم حفظ شرائح لحم صدر الفروج لمدة 11 يوماً باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون بنسبة (0، 0.5، 1 %) ولمدة 14 يوماً باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون بنسبة (1.5، 2 %).

التوصيات:

- دراسة تأثير التخزين باستخدام أغلفة تحتوي على زيت قشور الليمون بنسب مختلفة في مؤشرات أخرى (طزاجة، كيميائية، حسية) لشرائح لحم صدر الفروج الطازجة خلال فترات التخزين.
- دراسة تأثير تطبيق الغلاف بطريقة الغمر في إطالة مدة صلاحية شرائح لحم صدر الفروج الطازجة.
- دراسة إمكانية حفظ لحوم الفروج عند درجة الحرارة (4±1 °م) باستخدام أغلفة تحتوي على أنواع أخرى من الزيوت (زيت القرفة، زيت إكليل الجبل).

الشكر:

يتقدم الباحثون بالشكر لقسم المحاصيل الحقلية في كلية الزراعة بجامعة دمشق، وقسم البيولوجيا في كلية العلوم بجامعة دمشق، لتقديمهم يد العون والمساعدة العلمية.

المراجع:

المواصفة القياسية السورية رقم 2382 لعام (2009). تحديد جراثيم الكوليفورم. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية رقم 3468 لعام (2009). اللحوم ومنتجاتها–لحوم الدواجن المفصولة عن العظم ميكانيكياً والمعدّة لعمليات التصنيع اللاحقة. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية رقم 600 لعام (2005). التعداد العام للأحياء الدقيقة. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية رقم 2477 لعام (2001). الكشف عن السالمونيلا. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية رقم 2503 لعام (2001). إرشادات عامة لعد الخمائر والفطور بطريقة عد المستعمرات عند درجة حرارة 25 °م. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

بدر الدين، رضوان، وعقلة، بسام، والأمير، لينة. (2013). دراسة التركيب الكيميائي والتضاد البكتيري للزيوت العطرية المستخلصة من قشور ثمار الحمضيات، مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، المجلد 29، العدد الثاني، ص. 83 -100.

Adilah, Z. A. M., Jamilah, B., and Hanani, Z. A. N. (2018). Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. Food Hydrocolloid. 74. 207-218.

Ahmad, M., Benjakul, S., Prodpran, T., and Agustini, T. W. (2012). Physicomechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocoll, 28 (1):189–99.

Aksu, M. I., Karaoglu, M., Esenbuga, N., and Kaya, M. M. M. (2006). Effect of meat piece, packaging and storage on pH, thiobarbituric acid reactive substances and microbial counts in broilers fed diets supplemented with ramhorn hydrolysate. Food Sci. Technol. Int. 12, 133–143.

Bourtoom, T. (2008). Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. Food Science and Technology, 15 (3), 237–248.

Choulitoudi, E., Bravou, K., Bimpilas, A., Tsironi, T., Tsimogiannis, D., Taoukis, P., and Oreopoulou, V. (2016). Antimicrobial and antioxidant activity of Satureja thymbra in gilthead seabream fillets edible coating. Food Bioprod. Process. 100. 570–577.

Göğüş, U., Bozoglu, F., and Yurdugül, S. (2004). The effects of nisin, oil-wax coating and yogurt on the quality of refrigerated chicken meat. Food Control, 15, 537-542.

Gordon, L. R. (2010). Food packaging and shelf life. University of Queensland and Food, Brisbane, Australia. Food Science and Technology, 259-272.

Hambleton, A., Debeaufort, F., Bonnotte, A., and Voilley, A. (2009). Influence of alginate\emulsion-based films structure on its barrier properties and on the protection of microencapsulated aroma compound. Food Hydrocolloids, 23, 2116-2124.

Han, J. H., and Gennadios, A. (2005). Edible films and coatings: a review. In Han, J. H (Ed). Innovations in food packaging. Elsevier Academic Press, San Diego, USA, 239-262.

Hanani, N. Z. A., Roos, Y. H., and Kerry, J. P. (2012). Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties. Food Hydrocolloid, 29 (1) 144–151.

Hanani, N. Z. A., McNamara, J., Roos, Y. H., and Kerry, J.P. (2013). Effect of plasticizer continent on the functional properties of extruded gelatin-based composite films. Food Hydrocolloid, 31 (2) 264–269.

Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., and Zia, K. M. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings. International Journal of Biological Macromolecules, (109) 1095–1107.

Herbert, U., S. Rossaint, Khanna, M. A., and Kreyenschmidt, J. (2013). Comparison of argonbased and nitrogen-based modified atmosphere packaging (MAP) on bacterial growth and product quality of chicken breast fillets. Poultry Sci. 92 (5): 1348-56.

Hyldgaard, M., Mygind, T., and Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. Front Microbiol, 3:12.

International Organization for Standardization. (2003). ISO 6887-4: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination.

International Organization for Standardization. (2010). ISO 13720:2010. Meat and meat products – Enumeration of presumptive Pseudomonas spp. Geneva, ISO.

Janjarasskul, T., Rauch, D., McCarthy, K., and Krochta, J. (2014). Barrier and tensile properties of whey protein–candelilla wax film/sheet. LWT–Food Science and Technology, 56, 377-382.

Jimenez, S. M., Tiburzi, M. C., Salsi, M. S., Pirovani, M. E., and Moguilevsky, M. A. (2003). The role of visible faecal material as a vehicle for generic *Escherichia coli*, *coliform*, and other enterobacteria contaminating poultry carcasses during slaughtering. J Appl Microbiol, 94: 65-72.

Karabagias, I., Badeka, A., and Kontominas, M. G. (2011). Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. Meat Science 88, 109-116.

Krochta, J. M. (2002). In: Gennadios (Ed.), A Protein-based Films and Coatings, CRC Press, New York, pp. 1–41.

Labbe, R.G. (2001). Clostridium perfringens. In: Downes, F.P. and Ito, K. (eds.). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4 th edition. Washington, American Public Health Association. Chapter 34, pp. 325–330.

Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X., and Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the Alliaceae family. Molecules, 19, 20034-20053.

Moufida, S., Marzouk, B. (2003). Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. Phytochemistry 62, 1283–1289.

Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. h. C., and Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. Meat Sci 78: 77-89

Pereda, M., Dufresne, A., Aranguren, M. I., and Marcovich, N. E. (2014). Polyelectro lyte films based on chitosan/olive oil and reinforced with cellulose nanocrystals. Carbohydrate Polymers, 101 (1), 1018-1026.

Saucier, L., Gendron, C., and Gariepy, C. (2000). Shelf life of ground poultry meat stored under modified atmosphere. Poultry Science, 79, 1851–1856.

Serraino, A., Bardasi, L., Rium R., Pizzamigliom V., Liuzzo, G., Galletti, G., Giacometti, F., and Merialdi, G. (2012). Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. Meat Sci, 90: 502-50.

Sikdar, D. C., and Nikila, R. (2017). Extraction of citrus oil from lemon (Citrus Limon) peels by steam distillation and its characterizations. International Journal of Technical Research and Applications, Volume 5, Issue 2, 29-33.

Singh, S., and Pakhale, S. P. (2006). Gelatin-containing formulations: changes in dissolution characteristics. Enclopedia of Pharmaceutical Technology, Third Edition, 1861-1874.

Singh, S., Rama Rao, K. V., and Manikandan, R. (2002). Alteration in dissolution characteristics of gelatin-containing formulations. Pharmaceutical Technology, 26(4), 36-58.

Tyburcy, A., Jankiewicz, A., Kozakowska, E., and Cegiełka, A. (2006). Use of multicomponent coatings to protect sausages from weight loss. Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego I Tłuszczowego, 44 (1), 149-157.

Valenzuela, C., Abugoch, L., and Tapia, C. (2013). Quinoa protein-chitosan-sunflower oil edible film: mechanical, barrier and structural properties. Journal of Food Science and Technology, 50 (2), 531-537.

Vásconez, M. B., Flores, S. K., Campos, C. A., Alvarado, J., and Gerschenson, L. N. (2009). Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible film and coatings. Food Research International, 42 (7), 762–769.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J. and Pérez-Alvarez, J., (2008). Antifungal activity of lemon (Citrus lemon L.), mandarin (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils. Food Control, V. 19 (12), pp. 1130-1138.

Viuda-Martos, M., Mohamady, M. A., Fernández-López, J., Abd El Razik, K. A., Omer, E. A., Pérez-Alvarez, J. A., Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. Food Control, 22, 1715–1722.

Wongwicharn, A., Phoolphund, S., Vongsawasdi, P., and Bomrungnok, W. (2009). Shelf-life extension of roasted red chicken meat coloured with red mould rice by modified atmosphere packaging. Journal of Agricultural and Food Industrial, 2, 183–193.

Effect of Adding Lemon Peels Oil to Gelatin-Sodium Alginate Films on Some Microbial Properties of Storage Chilled Chicken Breast Meat

Nisreen Qurabie [(1)], Abdulhakim Azizieh [(1)] Abdul-Wahhab Merai [(1)], and Nizar Issa[(2)]

(1) Food Science Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.

(2) Biology Department, Faculty of Science, Damascus University, Damascus, Syria.

(*Corresponding author: Eng. Nisreen Qurabie. E-mail: nisreenqurabie90@gmail.com.)

Received 15/6/2021 Accept24/05/2022

Abstract

This study was carried out in laboratories of the food science department, faculty of agriculture and biology department, faculty of science, Damascus University, between October 2020 and April 2021. The aim of this study is to the specific shelf life of the storage of chilled chicken breast meat by filling it with gelatin-sodium alginate edible films which contain lemon peels oil (LPO) at various final concentrations. Lemon peel oil was prepared by steam distilling, gelatin-sodium alginate edible films were prepared, and LPO was added by the following percentages (0, 0.5, 1, 1.5, 2 %). These groups were packaged in gelatin-sodium alginate edible films, then preserved at (4±1° C) for 18 days and examined after 0, 3, 7, 11, 14, and 18 days of refrigeration for microbial properties. Microbial analyses included determination of the total count of bacteria, *Coliform, Salmonella spp.*,

Yeasts and Fungi, *Shigella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Clostridium botulinum*, and *Staphylococcus aureus*. The samples treated by gelatin-sodium alginate edible films with (1.5, 2 %) LPO had the best microbial result after 14 days of storage where the total count of bacteria reached 4.9×10^6, 3.6×10^6 CFU/gr respectively, *Coliform* reached 2.8×10^3, 2.3×10^3 CFU/gr respectively, and Yeasts and Fungi reached to 2.6×10^3, 2.4×10^3 CFU/gr respectively, while no growth was observed of *Salmonella* spp., *Shigella spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Clostridium botulinum*, and *Staphylococcus aureus* during the chilled storage period.

Keywords: lemon peels oil, gelatin, edible films, chicken breast, microbial properties, storage chilled.