



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الزراعة

قسم علوم الأغذية

معاملة شرائح المرتديلا المستهلكة في السوق الأردنية بالمستخلصات المائية لأعشاب عطرية محلية وتأثيرها في صفات الجودة

**Treatment of Mortadella slices consumed in Jordan
market with water extract of aromatic local herbs and
its effect on quality**

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية

إختصاص علوم الأغذية

إعداد

نصر أحمد إبراهيم حسنين

إشراف

الأستاذ الدكتور صالح أبو الخير

الأستاذ الدكتور عبد الحكيم عزيزية

مشرفاً علمياً مشاركاً

مشرفاً علمياً

**Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Agriculture
Department of Food Science**



Treatment of Mortadella slices consumed in Jordan market with water extract of aromatic local herbs and its effect on quality

**Thesis Submitted for Doctorate Degree in
Agricultural Science (Food science)**

BY

Nasr Ahmad Ibrahim Hasanain

Under the Supervision of

Prof. Dr. Abdulhakim Azizieh

Prof. Dr. Saleh Abou-kheir

Department of Food Science

Department of Food Science

Damascus Univ. Faculty of Agriculture

Damascus Univ. Faculty of Agriculture

Supervisor

Co- supervisor

1433 / 2012

عنوان الرسالة: معاملة شرائح المرتديلا المستهلكة في السوق الأردنية بالمستخلصات المائية لنباتات عطرية محلية وتأثيرها في صفات الجودة

أعدت الرسالة من قبل: نصر أحمد إبراهيم حسنين

الدرجة العلمية المكتسبة: الدكتوراه في علوم الأغذية

مكان وتاريخ المناقشة: كلية الزراعة – جامعة دمشق 2012 / 5 / 30

المشرفون العلميون:

المشرف العلمي: أ. د. عبد الحكيم عزيزية قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة – جامعة دمشق.

المشرف العلمي المشارك: أ. د. صالح أبو الخير قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة – جامعة دمشق.

لجنة الحكم مؤلفة من السادة:

1. الأستاذ الدكتور غياث سمينة، الأستاذ في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، الإختصاص: كيمياء الأغذية عضواً .
2. الأستاذة الدكتورة صباح اليازجي، الأستاذة في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، الإختصاص: ميكروبيولوجيا الأغذية ، عضواً .
3. الدكتورة رلى يعقوب، الأستاذ المساعد في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الزراعة في جامعة دمشق ، الإختصاص: النباتات الطبية والعطرية عضواً .
4. الدكتور عبد الرحمن سماك، المدرس في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، الإختصاص: تكنولوجيا المنتجات الحيوانية (لحوم ودواجن)، عضواً .
5. الأستاذ الدكتور عبد الحكيم عزيزية، الأستاذ في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، الإختصاص: تكنولوجيا اللحوم، عضواً مشرفاً .

تصريح لجنة الحكم

نوقشت هذه الرسالة وأجيزت بتاريخ 30 / 5 / 2012

التوقيع

أعضاء لجنة الحكم

1. الأستاذ الدكتور غياث سمينة

.....

الأستاذ في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، عضواً .

2. الأستاذة الدكتورة صباح يازجي

.....

الأستاذة في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، عضواً .

3. الأستاذة الدكتورة رلى يعقوب

.....

الأستاذة في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، عضواً .

4. الدكتور عبد الرحمن سماك

.....

المدرس في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، عضواً .

5. الأستاذ الدكتور عبد الحكيم عزيزية

.....

الأستاذ في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، عضواً مشرفاً .

تصريح

" لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم أخذه بالكامل من أي عمل آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في هذه الجامعة أو في أية جامعة أخرى أو معهد تعليمي "

المرشح

نصر احمد إبراهيم حسنين

شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة " معاملة شرائح المرتديلا المستهلكة في السوق الأردنية بالمستخلصات المائية لنباتات عطرية محلية وتأثيرها في صفات الجودة " هو نتيجة بحث علمي قام به المرشح نصر احمد إبراهيم حسنين بإشراف الأستاذ الدكتور عبد الحكيم عزيزية ، من قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، والأستاذ الدكتور صالح أبو الخير، من قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق ، وبأن أية مراجع أخرى مذكورة في هذه الرسالة موثقة في النص.

المشرف العلمي المشارك
أ.د. صالح أبو الخير

المشرف العلمي
أ.د. عبد الحكيم عزيزية

المرشح
نصر احمد حسنين

Certification

It is hereby certified the work described in this thesis: " **Treatment of Mortadella slices which consumed in Jordan market with water extract of aromatic local herbs and its effect on quality** " is the results of the author's own investigation under supervision of Prof. Dr Abdelhakeem Azizieh , faculty of Agricultural Engineering, Damascus University ,and Prof. Dr.Saleh Abo Alkhair , faculty of Agricultural Engineering, Damascus University, any other references mentioned in this work are documented in the text of the treatise.

Candidate
Nasr Ahmad Hasanain

Co- supervisor
Prof. Dr. Saleh Abou-kheir

Supervisor
Prof. Dr. Abdulhakim Azizieh

الإهداء

إلى قدوتي في حياته ... ومشكاتي بعد مماته
إلى من تحضر الدمعة عند ذكره ... وأسأل المولى أن يكون في الجنة ملتقاه

والدي

إلى نور عيني

.....

إلى من أرتضي رضا ربي برضاها

ومن وُضِعَتْ جنتي تحت قدمها

من بسعادتها أسعد ... وبعطائها جَدَّ

ساهرة الليل بالدعاء ... رمز الحب والوفاء ... أمي

.....

إلى المخلصة في السراء والضراء

إلى من تحملت عبء الغربة والعناء

من كانت أكثر من حبيبة ورفيقة وصديقة

إلى أغلى الناس ... نهاد

زوجتي

.....

إلى من أرفع رأسي بذكرهم إفتخارا ... وأنحني لهم إعزازا

خالد ومحمد وعبد الرحمن وعادل وضياء

فدوى وإنتصار وسهام ونجاح وأسماء

إخوتي

.....

إلى فلذات قلبي وسبب معاشي

زيد الخير ورهام الأمل وغيداء دجلة وديمة العسل وهبة التميز

أبنائي

.....

إلى أقمار سمائي ونجومها .. أعمامي وعماتي، أخوالي وخالاتي .. أقربائي وأنسبائي وأصدقائي

شكر وتقدير



بين دمشق وعمان أنجز هذا العمل، وبين عمان ودمشق توزع العديد من الأحبة لولاهم لما قدر لهذا البحث بالتمام، شكرهم أقل من حقهم، وحقهم أقل من قدرهم وقدرهم أعلى من ذكرهم في هذا الموضوع أو غيره، وهم عندي نياشين أزين بها صدري، وتيجان أضعها بالعرفان على رأسي، راجيا من ربي العلي القدير أن يجزيهم عني أعظم الجزاء في الدنيا والاخرة. أولهم أستاذي وقرة عيني ومشرفي **الأستاذ الدكتور عبد الحكيم عزيزية**، من لازمتني ابتسامته وتوجيهاته كمصباح أنار الدرب وثبت الخطى وجدد العزم حتى أنجز العمل وتم. وثانيهم **الأستاذ الدكتور صالح أبو الخير** المشرف المشارك الذي لم يخل عليّ بتوجيهاته الأبوية ورعايته الإنسانية حتى أشعرني بحب الأهل والإخوان. وشكري موصول إلى **أساتذتي أعضاء لجنة المناقشة** كل بصفته وقدره ومكانته، لما بذلوه من جهد مشكور في المناقشة والتعديل لإخراج الرسالة بأفضل صورة لها، وبما يليق بتزيينها بأسمائهم الكريمة كما تتزين السماء بنجومها وأقمارها. ولا أنسى من ترجيه شكر خاص **للأساتذة الأفاضل رئيس وأعضاء هيئة تدريس قسم علوم الأغذية وموظفيها كافة** لما قدموه من دعم فني وشخصي لا ينكره إلا منكر ولا يقدره إلا معترف بالجميل.

والشكر مخصص لمن بالفضل اختص **أخي الكبير رفعت الحمود** والمهندسين **شادي الأحمد ولينا عبد العزيز وسميرة قطامي وعبدة وطاfer**. وزميلاتي وزملائي في القسم وفي المدينة الجامعية جميعا.

أما في الأردن فالشكر كل الشكر لعطوفة مدير عام المؤسسة العامة للغذاء والدواء السابق **الدكتور محمد الروابدة** ومدير الرقابة على الغذاء **الدكتور محمد الخريشة** لما قدموه من تسهيلات للعمل داخل مخابر المؤسسة، ولزملائي جميعا خاصا منهم دكتورنا الغالي **رجب النجار** وإخوتي المهندس **خالد قدورة** والدكتور **علاء سرحان** والدكتور **نزيه الخلايلة** والدكتور **محمد الطراونة** والدكتور **عاصم العوران** والدكتور **جهاد قاسم** والدكتورة **العزيزة سناء قموة** والمهندس **محمد شاهين**. لهم ولكل زملائي ممن سهى خاطر عن ذكرهم واستقر في القلب معروفهم أزجي شكري هذا.

قائمة المحتويات

الرقم	البيان	رقم الصفحة
1	تصريح لجنة الحكم	ب
2	تصريح ، وشهادة	ت
3	الإهداء	ج
4	الشكر والتقدير	ح
5	قائمة المحتويات	خ
6	قائمة الجداول	س
7	قائمة الأشكال	ش
8	قائمة الملاحق	ش
9	الملخص باللغة العربية	ص
المقدمة Introduction		
0.0	المقدمة وأهداف البحث	1
المراجعة العلمية Literature Review		
0.0	المراجعة العلمية	5
1.	اللحوم	6
2.	تصنيع اللحوم وأهم منتجاته	7
3.	المرتديلا	9
1 . 3	المواد الداخلة في صناعة المرتديلا	10
1 . 1 . 3	اللحم الخام	10
2 . 1 . 3	الدهن	11
3 . 1 . 3	الماء	11
4 . 1 . 3	المضافات الغذائية	11
5 . 1 . 3	مواد التعبئة والتغليف	11
2 . 3	أهم مؤشرات الجودة والفساد في المرتديلا	12
1 . 2 . 3	الصفات الحسية	12
1 . 1 . 2 . 3	اللون	12
2 . 1 . 2 . 3	القوام	12
3 . 1 . 2 . 3	النكهة (الطعم والرائحة)	13
2 . 2 . 3	المؤشرات الكيميائية	13
1 . 2 . 2 . 3	الرقم الهيدروجيني pH	13
2 . 2 . 2 . 3	تفاعلات الأكسدة وقيم حمض الثيوباربوتريك (TBA)	14
3 . 2 . 2 . 3	الفساد الميكروبي للمرتديلا	15
3 . 3	مدة صلاحية المرتديلا وعلم تطوير المنتجات	17
4.	التوابل والنباتات العطرية	18
1 . 4	النباتات العطرية كمضادات ميكروبية	20
2 . 4	النباتات العطرية كمضادات أكسدة	21
3 . 4	نباتات الدراسة	21
1 . 3 . 4	الزعتر	21
2 . 3 . 4	الزنجبيل	22
3 . 3 . 4	إكليل الجبل (حصا البان)	22
4 . 3 . 4	الكرأوية	23
5 . 3 . 4	القرفة	23
6 . 3 . 4	الكزبرة	23
7 . 3 . 4	الكمون	24

الرقم	البيان	رقم الصفحة
8 . 3 . 4	الفلفل الأسود	24
9 . 3 . 4	جوزة الطيب	25
10 . 3 . 4	الميرمية	25
4 . 4	الدراسات السابقة للنباتات العطرية كمضادات ميكروبية	25
5 . 4	الدراسات السابقة للنباتات العطرية كمضادات أكسدة	29
.5	الدراسات المتعلقة بتطوير المرتديلا والمنتجات المشابهة	32
المواد والطرق البحثية Materials and Methods		
0.0	المواد والطرق البحثية	38
.1	المرحلة الأولى: عزل وتشخيص الأحياء الدقيقة السائدة والمسببة لفساد شرائح المرتديلا الأردنية.	39
1 . 1	اختيار وتحضير العينات	39
2 . 1	اختبار تحديد مصادر الميكروبات السائدة أو المسببة للفساد	40
1 . 2 . 1	اختبار براد خزن العينات كمصدر محتمل للميكروبات	40
2 . 2 . 1	اختبار أنواع المرتديلات الثلاث كمصدر محتمل للميكروبات	40
3 . 2 . 1	طريقة عمل التعداد الكلي للبكتيريا وعد الفطور والخمائر للبراد والمرتديلا	40
1 . 3 . 2 . 1	تحضير التخفيفات المطلوبة	40
2 . 3 . 2 . 1	اختبار التعداد العام للبكتيريا	41
3 . 3 . 2 . 1	اختبار تعداد الفطور والخمائر	41
3 . 1	حفظ العينات في البراد ومراقبة مظاهر الفساد	41
4 . 1	التشخيص الأولي للنموات الميكروبية	42
5 . 1	عزل وتشخيص البكتيريا المتواجدة في شرائح المرتديلا الفاسدة	42
1 . 5 . 1	اختبار التعداد العام للبكتيريا	42
2 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Enterobacteriaceae</i>	42
3 . 5 . 1	اختبار بكتيريا الكوليفورم و <i>E.coli</i>	43
4 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>E.coli</i> O157: H7 المرضية	43
5 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Campylobacter spp.</i>	44
6 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Proteolytic Bacteria</i>	44
7 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Clostridium perfringens</i>	44
8 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Bacillus cereus</i>	45
9 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Pseudomonas spp.</i>	45
10 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Entreococcus feacalis</i>	45
11 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Staphylococcus aureus</i>	45
12 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Salmonella spp.</i>	46
13 . 5 . 1	اختبار بكتيريا <i>Listeria spp.</i>	46
6 . 1	البيئات والأجهزة والأدوات المستخدمة في الاختبارات السابقة	46
7 . 1	عزل المستعمرات المختلفة على بيئة Nutrient Agar	47
8 . 1	صبغة غرام	47
9 . 1	تشخيص المستعمرات	47
1 . 9 . 1	تشخيص المستعمرات المحتملة كلستيريا	47
2 . 9 . 1	تشخيص المستعمرات المحتملة ككمبيلوباكتري	48
3 . 9 . 1	تشخيص المستعمرات المحتملة كانتيريوكوكس	48
4 . 9 . 1	تشخيص بقية المستعمرات السالبة لصبغة غرام	48
5 . 9 . 1	تشخيص بقية المستعمرات الموجبة لصبغة غرام	49

الرقم	البيان	رقم الصفحة
10 . 1	الاحتفاظ بالمستعمرات بعد التشخيص	49
11 . 1	توثيق عمليات العزل والتشخيص	49
2.	المرحلة الثانية: مرحلة دراسة اثر التضاد بين الميكروبات المعزولة ومستخلصات نباتات الدراسة المائية.	52
1 . 2	اختيار وتحضير النباتات	52
2 . 2	تحضير مستخلصات النباتات المائية	52
3 . 2	تعقيم مستخلصات النباتات المائية	53
4 . 2	اختبار التأكد من تعقيم مستخلصات النباتات المائية	53
5 . 2	تحضير المستنبطات الميكروبية لغاية عمل التضاد الميكروبي	54
6 . 2	اختبار التضاد الميكروبي	54
3.	المرحلة الثالثة: دراسة اثر المستخلصات المائية لستة نباتات على صفات الجودة لسرايح المرتديلا الأردنية	56
1 . 3	اختيار المرتديلا وتقطيعها	56
2 . 3	معاملة سرايح المرتديلا بالمستخلصات المائية (النقع)	56
3 . 3	اختبارات الجودة الميكروبية	56
1 . 3 . 3	إعداد التخفيفات والتعداد العام للبكتيريا	56
2 . 3 . 3	عد الخمائر والفطور	57
3 . 3 . 3	اختبار بكتيريا الكوليفورم	57
4 . 3 . 3	اختبار بكتيريا <i>Staph. aureus</i>	57
4 . 3	بعض اختبارات مؤشرات الجودة الكيميائية	57
1 . 4 . 3	اختبار حمض الثيوباربوتريك (TBA) كمؤشر لأكسدة الدهون	57
2 . 4 . 3	قياس الرقم الهيدروجيني pH	58
3 . 4 . 3	تقدير الرطوبة	58
5 . 3	الاختبارات الفيزيائية والتقييم الحسي	58
4.	المرحلة الرابعة: مرحلة تحديد المستخلص الأمثل من حيث النوع والتركيز ودرجة حرارة المعاملة:	59
1 . 4	تحديد أفضل نوع مستخلص	59
2 . 4	تحديد أفضل درجة حرارة للنقع	59
3 . 4	تحديد أفضل تركيز للمستخلص	60
5.	المرحلة الخامسة: مرحلة استخدام المستخلص الأمثل في خلطة تصنيعية ودراسة صفات الجودة للمرتديلا المنتجة:	60
6.	التحليل الاحصائي	62
النتائج والمناقشة Results and Discussion		
0.0	النتائج والمناقشة	64
1.	المرحلة الأولى: نتائج عزل وتشخيص الميكروبات السائدة والمسببة لفساد سرايح المرتديلا الأردنية.	65
1 . 1	اختيار وتحضير العينات	65
2 . 1	نتائج اختبار تحديد مصادر الميكروبات السائدة أو المسببة للفساد	65
3 . 1	وصف مظاهر الفساد الحسية في المرتديلا المحفوظة في البراد	66
4 . 1	تشخيص الفطور والخمائر	67
5 . 1	تشخيص البكتيريا من خلال الاختبارات المختلفة	67
1 . 5 . 1	النتائج الأولية للاختبارات البكتيرية	67
2 . 5 . 1	نتائج التصبغ المجهرى للبكتيريا المختلفة	68
3 . 5 . 1	نتائج تشخيص البكتيريا السالبة لصبغة غرام	70

الرقم	البيان	رقم الصفحة
1 . 5 . 4	نتائج تشخيص الليستيريا <i>Listeria</i>	71
1 . 5 . 5	نتائج تشخيص بقية البكتيريا الموجبة لصبغة غرام	72
2.	المرحلة الثانية: نتائج مرحلة دراسة اثر التضاد بين الميكروبات المعزولة ومستخلصات نباتات الدراسة المائية	72
3.	المرحلة الثالثة: نتائج دراسة اثر المستخلصات المائية المنتخبة على صفات الجودة لشرايح المرتديلا الأردنية	86
1 . 3	معاملة شرائح المرتديلا بالمستخلصات المائية (النقع)	86
2 . 3	نتائج التقييم الحسي للمرتديلا المعاملة	86
3 . 3	التغيرات الظاهرية والفيزيائية للمرتديلا المعاملة خلال التخزين المبرد	87
4 . 3	نتائج الاختبارات الميكروبية للمرتديلا المعاملة خلال التخزين المبرد	88
5 . 3	نتائج الاختبارات الكيميائية للمرتديلا المعاملة خلال التخزين المبرد	91
1 . 5 . 3	نتائج اختبار حمض الثيوباربوتريك Thiobarbutric acid TBA	91
2 . 5 . 3	نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH	92
3 . 5 . 3	نتائج تقدير الرطوبة	92
6 . 3	انتخاب أفضل المستخلصات للمرحلة التالية (المرحلة الرابعة)	93
4.	المرحلة الرابعة: نتائج مرحلة تحديد المستخلص الأمثل من حيث النوع والتركيز ودرجة حرارة المعاملة	94
1 . 4	نتائج تحديد نوع المستخلص الأفضل	94
1 . 1 . 4	النتائج الميكروبية لتحديد نوع المستخلص الأفضل	94
2 . 1 . 4	النتائج الكيميائية لتحديد نوع المستخلص الأفضل	96
3 . 1 . 4	النتائج الحسية والفيزيائية لتحديد نوع المستخلص الأفضل	97
4 . 1 . 4	تحديد نوع المستخلص الأفضل	97
2 . 4	نتائج تحديد تركيز المستخلص الأفضل	98
1 . 2 . 4	النتائج الميكروبية لتحديد تركيز المستخلص الأفضل	98
2 . 2 . 4	النتائج الكيميائية لتحديد أفضل تركيز من المستخلص	99
3 . 2 . 4	النتائج الحسية والفيزيائية لتحديد تركيز المستخلص الأفضل	100
4 . 2 . 4	تحديد تركيز المستخلص الأفضل	101
3 . 4	نتائج تحديد أفضل درجة حرارة نقع	101
1 . 3 . 4	النتائج الميكروبية لتحديد أفضل درجة حرارة نقع	101
2 . 3 . 4	النتائج الكيميائية لتحديد أفضل درجة حرارة نقع	103
3 . 3 . 4	النتائج الحسية والفيزيائية لتحديد أفضل درجة حرارة نقع	104
4 . 3 . 4	تحديد أفضل درجة حرارة نقع	104
5.	نتائج المرحلة الخامسة: مرحلة استخدام المستخلص الأمثل في خلطة تصنيعية ودراسة صفات الجودة للمرتديلا النهائية المنتجة	104
1 . 5	اختيار الخلطات وتحضير شرائح المرتديلا النهائية	104
2 . 5	نتائج التقييم الحسي للمرتديلا النهائية	105
3 . 5	التغيرات الظاهرية والفيزيائية للمرتديلا النهائية	106
1 . 3 . 5	التغيرات الظاهرية والفيزيائية للمرتديلا النهائية المعبأة في عبوات عادية	106
2 . 3 . 5	التغيرات الظاهرية والفيزيائية للمرتديلا النهائية المعبأة في عبوات مفرغة	107
4 . 5	نتائج الاختبارات الميكروبية للمعاملات النهائية	107
1 . 4 . 5	نتائج الاختبارات الميكروبية للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية	107
2 . 4 . 5	نتائج الاختبارات الميكروبية للعينات النهائية المعبأة بالتفريغ	109

الرقم	البيان	رقم الصفحة
5 . 5	نتائج الاختبارات الكيميائية للمعاملات النهائية	111
1 . 5 . 5	نتائج اختبار حمض الثيوباريوتريك TBA	111
1 . 1 . 5 . 5	نتائج اختبار TBA للمعاملات النهائية المعبأة تعبئة عادية	111
2 . 1 . 5 . 5	نتائج اختبار TBA للمعاملات النهائية المعبأة بالتفريغ	112
2 . 5 . 5	نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية	112
1 . 2 . 5 . 5	نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية	112
2 . 2 . 5 . 5	نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة بالتفريغ	113
3 . 5 . 5	نتائج تقدير الرطوبة	114
6 . 5	تحديد أفضل الخلطات في المرحلة الخامسة والنهائية من الدراسة	115
الاستنتاجات Conclusions		
0.0	الاستنتاجات	116
التوصيات Recommendations		
0.0	التوصيات	120
المراجع References		
0.0	المراجع	122
.1	المراجع العربية	123
.2	المراجع الأجنبية	125
الملخص باللغة الانجليزية		
0.0	الملخص باللغة الانجليزية Abstract	151

قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
16	أهم الميكروبات المرتبطة بفساد اللحوم ومتطلبات نموها المفضلة	1.
40	وصف عينات المرتديلا من حيث النوع والمكونات ومستوى نظافة مكان التحضير	2.
65	نتائج الاختبارات الميكروبية للمسحات وعينات المرتديلا المعقمة	3.
68	النتائج الأولية للاختبارات البكتيرية الثلاث عشر	4.
69	الوصف الكامل للعزلات البكتيرية من الاختبارات المختلفة	5.
71	النتيجة النهائية لتشخيص البكتيريا السالبة لصبغة غرام	6.
71	النتيجة النهائية لتشخيص بكتيريا <i>Listeria</i>	7.
72	النتيجة النهائية لتشخيص بقية البكتيريا الموجبة لصبغة غرام	8.
74	نتائج اثر التضاد بين الميكروبات ومستخلصات النباتات المائية	9.
86	نتائج التقييم الحسي لشرائح المرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست	10.
88	نتائج التعداد الكلي للبكتيريا للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست	11.
88	نتائج التعداد الكلي للخمائر والفطور للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست	12.
89	نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست	13.
89	نتائج بكتيريا <i>Staph. aureus</i> للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست	14.
91	نتائج اختبار حمض الثيوباربيوتريك TBA	15.
92	نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH	16.
93	نتائج تقدير الرطوبة للمعاملات الست	17.
95	نتائج التعداد الكلي للبكتيريا لانتخاب أفضل نوع مستخلص مائي	18.
95	نتائج تعداد الفطور والخميرة لانتخاب أفضل نوع مستخلص مائي	19.
95	نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم لانتخاب أفضل نوع مستخلص مائي	20.
96	نتائج اختبار TBA لتحديد نوع المستخلص الأفضل	21.
98	نتائج التعداد الكلي للبكتيريا لانتخاب أفضل تركيز مستخلص مائي	22.
98	نتائج تعداد الفطور والخميرة لتحديد أفضل تركيز مستخلص مائي	23.
99	نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم لتحديد أفضل تركيز مستخلص مائي	24.
100	نتائج اختبار TBA لتحديد أفضل تركيز مستخلص مائي	25.
101	نتائج التعداد الكلي للبكتيريا لتحديد أفضل درجة حرارة نقع	26.
102	نتائج تعداد الفطور لتحديد أفضل درجة حرارة نقع	27.
102	نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم لتحديد أفضل درجة حرارة نقع	28.
103	نتائج اختبار TBA لتحديد أفضل درجة حرارة نقع	29.
105	نتائج التقييم الحسي للعينات الأربع النهائية	30.
108	نتائج التعداد الكلي للبكتيريا للمعاملات النهائية / تعبئة عادية	31.
109	نتائج التعداد الكلي للخمائر والفطور للمعاملات النهائية / تعبئة عادية	32.
109	نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم للمرتديلا للمعاملات النهائية / تعبئة عادية	33.
110	نتائج التعداد الكلي للبكتيريا للمعاملات النهائية / تعبئة مفرغة من الهواء	34.
110	نتائج التعداد الكلي للخمائر والفطور للمعاملات النهائية / تعبئة مفرغة من الهواء	35.
111	نتائج تعداد الكوليفورم للمرتديلا للمعاملات النهائية / تعبئة مفرغة من الهواء	36.
111	نتائج اختبار TBA للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية	37.
112	نتائج اختبار TBA للعينات النهائية المعبأة في عبوات مفرغة من الهواء	38.
113	نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية	39.
113	نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة بالتفريغ	40.
114	نتائج تقدير الرطوبة للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية	41.

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
50	صور لبعض مراحل عمليات العزل للميكروبات المختلفة	1.
51	صور لبعض مراحل عمليات التشخيص للميكروبات المختلفة	2.
55	مخطط عمل التضاد الميكروبي لبكتيريا واحدة مع 10 مستخلصات عشبية	3.
63	مخطط العمليات التكنولوجية لإعداد وتحضير المرتديلا المحلية بإضافة المستخلص المائي للنباتات العطرية المنتخبة	4.
75	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Enterobacter gergoviae</i>	5.
75	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Serratia marcescens</i>	6.
75	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Klebsiella oxytoca</i>	7.
76	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Salmonella arizonae</i>	8.
76	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Citrobacter freundii</i>	9.
76	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	10.
77	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Streptococcus bovis</i>	11.
77	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Lactococcus lactis</i>	12.
77	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Enterococcus hirae</i>	13.
78	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Lactococcus raffinolactis</i>	14.
78	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Enterococcus durans</i>	15.
78	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Staphylococcus simulans</i>	16.
79	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Staphylococcus lentus</i>	17.
79	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا <i>Listeria ivanovii</i>	18.
80	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وفطر <i>Penicillium</i>	19.
80	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وفطر <i>Rhizopus</i>	20.
80	التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وخميرة <i>Saccharomyces spp.</i>	21.

قائمة الملاحق

رقم الصفحة	عنوان الملحق	رقم الملحق
145	استمارة التقييم الحسي لتقييم عينات المرتديلا الست في المرحلة الثالثة	1.
146	استمارة التقييم الحسي لتقييم عينات المرتديلا الأربع في المرحلة الخامسة	2.
147	صور من البحث	3.

الملخص

هدف البحث إلى عزل وتشخيص أهم الأحياء الدقيقة السائدة والمسببة لفساد شرائح المرتديلا المستهلكة في السوق الأردنية، وإلى دراسة أثر التضاد بينها وبين عشر مستخلصات مائية لنباتات عطرية محلية. تمهيدا لدراسة أثر أفضل المستخلصات في جودة شرائح المرتديلا المقطعة في السوق الأردنية، وتحديد أفضل مستخلص أو خليط مستخلصات لاستخدامه في خلطة تصنيعية نهائية. ولتحقيق هذا الهدف تم إجراء عملية عزل الميكروبات السائدة والمسببة للفساد من خلال مجموعة واسعة من التحاليل للأحياء الدقيقة شملت إجراء اختبارات التعداد الكلي للبكتيريا و *Enterobacteriaceae* و *Coliform* و *E.coli* واختبارات عزل بكتيريا *E.coli*O157:H7 و *Campylobacter spp.* و *Proteolytic Bacteria* و *Clostridium perfringens* و *Bacillus cereus* و *Pseudomonas spp.* و *Enteococcus feacalis* و *Staphylococcus aureus* و *Listeria monocytogenes* و *Salmonella*، وعتماد عملية التشخيص المجهرى المباشر بالنسبة للنموات الفطرية، بإعتماد طرق الأيزو الدولية. كما تم تحضير مستخلصات مائية من الأجزاء النباتية الحاوية على المادة الفعالة في الزعتر والكزبرة والكمون والميرمية والفلل الأسود والقرفة والزنجبيل والكروية وجوزة الطيبوا كليل الجبل المجففة، وذلك بإضافة 10 غ من كل نبات إلى ماء بدرجة الغليان ونقعها لمدة 10 دقائق والتصفية والتعقيم بالترشيح. ودُرس التضاد الميكروبي من خلال عمل تعداد كلي لكل نوع من أنواع الأحياء الدقيقة مع المستخلصات المائية وبدونها. بعد ذلك تم اختيار أفضل المستخلصات ونقعت بها شرائح المرتديلا ودرست صفات جودتها الحسية والميكروبية والكيميائية خلال التخزين المبرد في مراحل متسلسلة للوصول إلى المستخلص الأفضل. ثم استخدم المستخلص المائي الأمثل في خلطة تصنيعية باستبدال ماء الخلطة به ودرست صفات الجودة للمرتديلا المنتجة بعد تقطيعها وتعبئتها مقارنة بعينة الشاهد خلال التخزين المبرد لغاية 22 يوم.

بينت النتائج النهائية للبحث أن أدوات التقطيع في المحال التجارية هي المصدر الرئيس لعملية نقل الميكروبات إلى شرائح المرتديلا. وبتحديد أنواع هذه الميكروبات تم عزل خمس أنواع

من البكتيريا السالبة لصبغة غرام هي: *Serratia* و *Enterobacter gergoviae* و *Citrobacter* و *Salmonella arizonae* و *Klebsiella oxytoca* و *marcescens freundii*. وتوسع أنواع من البكتيريا الموجبة لصبغة غرام هي: *Staphylococcus saprophyticus* و *Staphylococcus simulans* و *Staphylococcus Lentus* و *Streptococcus bovis* و *Lactococcus raffinolactis* و *Lactococcus lactis* و *Enterococcus hirae* و *Enterococcus durans* و *Listeria ivanovii* كما تم عزل فطور *Penicillium* و *Rhizopus* وخميرة *Saccharomyces spp.*

حقق مستخلص نبات الزعتر أفضل تثبيط لجميع الكائنات الحية الدقيقة من بكتيريا وفطور وخمائر وتميز بانفراده في تثبيط بعض أنواع البكتيريا مثل *Salmonella arizonae*، تلاه مستخلصات كل من القرفة والكزبرة في المرتبتين الثانية والثالثة بقدرتهما على تثبيط ثمانية أنواع من الأحياء الدقيقة بنسبة تزيد عن 40% من العدد الموجود في الشاهد، وجاءت الميرمية في المرتبة الرابعة لقدرتها على تثبيط احد عشر نوعاً من الأحياء الدقيقة بشكل فاعل، خمسة منها بنسبة تزيد عن 40%، وحل كل من المستخلص المائي لإكليل الجبل والفلفل الأسود في المرتبتين الخامسة والسادسة، تلتهما المستخلصات المائية للكرابوية والكمون والزنجبيل، في حين كان المستخلص المائي لجوزة الطيب هو الأضعف في عملية التثبيط.

درست نتائج أثر أفضل أول ست مستخلصات على صفات جودة شرائح المرتديلا المقطعة. وباستثناء تغيير لون سطح شرائح المرتديلا ليصبح داكنا واقل قبولا من الشاهد، فقد حقق المستخلص المائي لنبات الزعتر أفضل قدر من المحافظة على صفات جودتها خلال التخزين المبرد، تلاه كل من مستخلصات الكزبرة والقرفة. وعند استخدام المستخلصات المائية الثلاث للزعتر والكزبرة والقرفة لتحديد أفضل نوع مستخلص وجد أن المزيج المكون من كل من المستخلص المائي لنبات الزعتر والكزبرة بنسبة 1:1 قد حقق أفضل نتيجة في المحافظة على صفات جودة شرائح المرتديلا المقطعة خلال التخزين. لم يؤدي تخفيف المزيج الأمثل بنسبة 50% ماء إلى أي اثر سلبي في قدرته على المحافظة على صفات الجودة، في حين أن تخفيفه بنسبة 1 : 2 أدى لتقليل

هذه القدرة. وقد بينت نتائج نقع شرائح المرتديلا في ثلاث درجات حرارة مختلفة (4-6، وحرارة الغرفة، و45°س) أن النقع في درجة حرارة الغرفة أو التبريد يعطي النتائج ذاتها في حين أن النقع بدرجة حرارة 45°س أدى إلى ارتفاع قيم الترنخ في دهن المرتديلا.

كانت أفضل خلطة تصنيعية هي التي استبدل فيها الماء بالمستخلص الأمثل (مستخلص الزعتر والكزبرة المائي بنسبة 5%) خلال التصنيع حيث حققت أفضل صفات جودة حسية وميكروبية وكيميائية، وحافظت على صفات جودتها لمدة 10 أيام بالتعبئة العادية في حين حافظت على صفات جودتها طيلة مدة الخزن المبرد التي امتدت لاثنتين وعشرين يوما عند التعبئة تحت التفريغ.

تم إجراء التحليل الإحصائي لثلاث مكررات من كل نتيجة باستخدام برنامج SPSS ، وتحديد الفروقات المعنوية باستخدام اختبار LSD عند مستوى 0.05%، وتحديد قيم ومستويات الفروقات المعنوية باستخدام اختبار Duncan.

المقدمة

Introduction

تعد اللحوم من أهم المواد الغذائية على مائدة الطعام الأردنية، ولا تكاد تخلو وجبة طعام من اللحوم أو منتجاتها (الإحصاءات العامة، 2006)، وتستهلك اللحوم إما طازجة في عمليات الطبخ والشواء أو بعد تحضيرها وتصنيعها كاللحوم المفرومة والمجهزة والنقانق والفرانكفورتر والمرتبديلا وغيرها. تستورد الأردن معظم احتياجاتها من اللحوم، حيث قدرت واردات الأردن من اللحوم عام 2008 بحوالي 77.553 طن وهي تشكل الكمية الأكبر من الأغذية المستوردة بعد الحبوب مباشرة (الإحصاءات العامة، 2008)، وبذلك يعد الأردن من أكثر الدول استهلاكاً للحوم مقارنة بعدد السكان (الإحصاءات العامة، 2008). ينفق المواطن الأردني حوالي 36 % من دخله على الغذاء، تشكل اللحوم والحبوب والألبان أهمها على الإطلاق (الإحصاءات العامة 2006). تعد صناعة اللحوم من أهم الصناعات الغذائية في الأردن، وتمتلك معظم مصانعها شهادات جودة عالمية، وبالرغم من أن عدد مصانع اللحوم في الأردن قدر عام 2006 بحوالي 17 مصنعا (الإحصاءات العامة، 2006)، إلا أن هذه المصانع تمتاز بالحجم والإنتاج الكبيرين وعدم وجود منافسة حقيقية لها من المنتجات الشبيهة المستوردة. تعد المرتبديلا من أهم منتجات اللحوم المصنعة في الأردن، وأكثرها استهلاكاً، وتصنع من لحوم الأبقار والدواجن ودهونها منفردة أو مجتمعة بإضافة العديد من المكونات الأخرى كالبروتينات النباتية والأملاح ومواد الاستحلاب والبهارات والمواد الملونة والحافظة (Hussein, 2002). وسواء كانت المرتبديلا معبأة في علب معدنية أو في عبوات من أغلفة الكولاجين Collagen، فهي تعد للإستهلاك على شكل شرائح رقيقة لإعداد شطائر (سندويشات) حيث يشكل الأطفال وطلاب المدارس الغالبية المطلقة من المستهلكين (Hussein, 2002).

تنتج المرتبديلا في الأردن وتسوق في عبوات أسطوانية (رولات) من الأغلفة الليفية والصناعية بوزان مختلفة تبدأ من 250 إلى 2500 غرام تقريبا حيث يتم حفظها مبردة لمدة أربعة أشهر فقط.

تقطع شرائح المرتبديلا للبيوت والمطاعم الأردنية بواسطة آلات كهربائية خاصة. ويعاني هذا النمط الاستهلاكي من مشكلة التلف السريع، إذ لا تتجاوز مدة صلاحية هذا النوع من المرتبديلا

ثلاثة إلى أربعة أيام وذلك بسبب الزيادة في المساحة السطحية لها، وزيادة احتمالية التلوث العرضي الناتج عن آلات التقطيع ذاتها وعدم تعبئتها في عبوات معقمة ومحكمة الإغلاق، مما اضطر الجهات الرقابية في الأردن لإصدار تعليمات خاصة بشرائح المرتديلا المقطعة للحد من التسممات التي قد تنشأ عنها (المؤسسة العامة للغذاء والدواء، 2011).

تعد عملية تقطيع منتج المرتديلا إلى شرائح مرغوبة جدا من قبل المستهلك والمطاعم للحصول على شرائح منتظمة قبل الاستهلاك، ومع وجود مشكلة حقيقية تواجه عملية حفظها والمحافظة على ثبات جودتها لأطول مدة ممكنة يلجأ البعض لعملية شراء كمية قليلة منها على فترات زمنية متكررة كحل غير عملي، بينما يختار آخرون شراء كمية متوسطة أو كبيرة في مغامرة شبه مؤكدة بصحة المستهلك.

من جهة أخرى فإن للنباتات الطبيعية العطرية من بهارات وتوابل مكانة مميزة ضمن المجتمع الأردني، ولا يكاد يخلو بيت أردني منها، لما لها من إستخدامات متعددة طبية وغذائية وكتوابل أو لاستخدامات عديدة مختلفة. فتراها تستهلك طازجة أو على شكل مساحيق ومستخلصات مائية أو زيوت عطرية. ومن هنا فقد تعددت الأبحاث التي تستخدم هذه النباتات ومنها الأبحاث المتعلقة بمنتجات اللحوم، خاصة بما يتعلق ببدائلها للمواد الحافظة الصناعية أو دراسة أثرها في صفات الجودة المختلفة وإمكانية تطوير منتجات جديدة بإستخدامها. ولكن أياً من هذه الدراسات لم يترك لإستخدامها كبديل عملية حقيقية في شكلها كمستخلصات مائية في حفظ شرائح المرتديلا وإطالة مدة صلاحيتها خاصة بعد التقطيع. لذلك فقد تم تحديد أهداف هذا البحث كما يلي :

1- عزل وتصنيف الأحياء الدقيقة السائدة والمسببة لفساد شرائح المرتديلا الأردنية أثناء التخزين المبرد.

2- دراسة تأثير المستخلصات المائية للنباتات العطرية المدروسة على الأحياء الدقيقة المعزولة.

3- إمكانية إطالة فترة حفظ شرائح المرتديلا الأردنية بعد المعاملة بالمستخلصات المائية للنباتات العطرية في ظروف التبريد، مع المحافظة على صلاحيتها للاستهلاك البشري.

4-دراسة بعض صفات الجودة (الميكروبية والكيميائية والحسية) لشرائح المرتديلا خلال فترة الحفظ وتحسين صفاتها الحسية.

5-تحديد طريقة معاملة شرائح المرتديلا الأردنية بالمستخلصات المائية للنباتات العطرية والتركيز المناسب.

6-تعزيز النكهة بما ينعكس ايجابا على الرغبة الاستهلاكية.

الدراسة المرجعية

Literature Review

1. اللحوم :

اللحم في اللغة يعني الشيء المتداخل (هارون، 1979)، بينما يعتقد أن كلمة meat بالانجليزية اشتقت من كلمة *mete* والتي تعني في أغلب اللغات الأوروبية الطعام ^{تُوفَّ} اللحم بحسب المصادر القانونية بأنها الذبائح أو أجزائها الناتجة من الحيوانات الثديية المذبوحة مثل لحم البقر والجاموس والضأن والجمال وكذلك لحوم الدواجن كالدجاج والديك الرومي والبط والإوز، والتي يمكن استخدامها في تغذية الانسان. بينما تشمل الأحشاء والزوائد المأكولة من الذبيحة أجزاء أخرى كالقلب والكلى والطحال ولحم الرأس واللسان شريطة أن تكون جميعها صالحة للاستهلاك البشري، خالية من مسببات الامراض ومنسجمة مع عادات وتقاليد ومعتقدات مجموعة من المستهلكين (القاعدة الفنية الأردنية 79، 2009) (القاعدة الفنية الأردنية 816، 2008). ويعرف اللحم موفولوجيا بحسب مصادر علم اللحوم بأنه عن مجموعة من الأنسجة العضلية والضامة والدهنية والعصبية والظهارية والغضروفية، وأجزاء من جهاز الدوران المتكونة من اصل حيواني على هيئة معقد طبيعي يدخل البروتين في تركيبها الأساسي (Pearson and Dutson, 1990).

يختلف التركيب الكيميائي للحوم تبعا لعدة عوامل أهمها نوع الحيوان وعمره وجنسه وطريقة تغذيته وطريقة تربيته وغيرها من العوامل (Warriss, 2010). تشمل المكونات الأساسية له الماء والدهن والبروتين والكربوهيدرات بالإضافة للعناصر المعدنية والفيتامينات (Feiner, 2006).

تتغير نسبة هذه المكونات بين نوع معين من اللحوم ونوع آخر، ويؤدي هذا التغير إلى اختلاف كبير في صفات اللحوم ومحتواها الميكروبي، كما أن مصنعي اللحوم يستفيدون من هذا التغير في اختيار نوع اللحم المناسب لمنتج معين، وقد يتطلب الأمر خلطا لأكثر من نوع للحصول على القوام والطعم الأمثل للمنتج النهائي (Hui et. al, 2005). وبشكل عام تتراوح نسبة الماء في اللحم ما بين 65 إلى 80 % تقريبا بينما تتراوح نسبة البروتينات ما بين 13 إلى 21 % تقريبا وتتراوح نسبة الدهن ما بين 5 - 38 % (Feiner, 2006). في حين ان نسبة الدهن البيني تتراوح ما بين 1.5 - 5 % .

تعد اللحوم من أهم المواد الغذائية في تغذية الإنسان، وتحدد القيمة الغذائية للحوم باحتوائها على البروتينات عالية الجودة والمحتوية على جميع الأحماض الأمينية الأساسية بتركيب

متوازن، وترتفع نسبة البروتين في لحوم الدواجن مقارنة مع معظم لحوم الثدييات لاختلاط لحومها بنسبة جيدة من الدهون، ووجود الدهن في لحوم الماشية يميزها بنكهة مرغوبة لدى المستهلكين أكثر من لحوم الدواجن بالإضافة إلى إن كل 1 غرام من الدهن يعطي 34 كيلو جول من الطاقة مقارنة بـ 17 كيلو جول فقط يعطيها البروتين، مع الأخذ بعين الاعتبار محاذير الاعتبارات الصحية الناتجة عن ارتفاع الكوليسترول في اللحوم الحمراء خاصة مع ارتفاع نسبة الدهون فيها إذ تتجاوز نسبة الكوليسترول في اللحوم الحمراء 70 ملغرام / 100 غرام لحم وترتفع في أنسجة الكبد لتصل إلى 450 ملغرام / 100 غرام، وتؤخذ كل هذه العوامل بالحسبان عند اختيار نوعية اللحوم للاستهلاك أو لتصنيع المنتجات المختلفة (Hui *et. al*, 2005) (Warriss, 2010).

2. تصنيع اللحوم وأهم منتجاته :

تعرف منتجات اللحوم على أنها المنتجات المصنعة أساساً من اللحم والتي تحتاج لتحضيرها إلى ما هو أكثر من عملية التقطيع (Al-Maseimi, 2003)، وتصنع منتجات اللحوم من لحوم طازجة بعد إخضاعها إلى طرائق تحويل وتغيير مختلفة بغية الحصول على منتجات مرغوبة وشهية جاهزة للاستهلاك المباشر، وتنتج معظم مصنوعات اللحوم من لحم مفروم وغالباً من خليط لعدة أصناف من اللحوم عدا مصنوعات الفخذ والمتلة (المصنوعات الراقية أو عالية الجودة) مع إضافة مواد أخرى متممة أو مساعدة وإخضاع المنتج لطريقة أو أكثر من طرائق التصنيع المتبعة، وتتغير نسبة المكونات وفقاً لعدة عوامل أهمها العرض والطلب والسعر والتكنولوجيا المستخدمة. وتشكل هذه المنتجات ما نسبته 25 % من مجموع تجارة اللحوم العالمية (Hussein, 2002) وإن كان يصعب تحديد التاريخ الذي بدأ الإنسان فيه بصناعة اللحوم بشكل دقيق (Kerry *et. al.*, 2002)، فمن المؤكد أن هذه الصناعة بشكلها العصري بدأت مبكرة كصناعة البرغر التي ظهرت أوائل القرن العشرين (Angor, 2004).

ازداد الإقبال على اللحوم المصنعة مع تطور الحياة المعاصرة وخروج المرأة للعمل والحاجة لأغذية جاهزة أو سريعة التحضير (Murcia *et. al.*, 2003)، وتعزز هذا الطلب كونها من

الأغذية المرغوبة من قبل المستهلك نظراً لطعمها المميز وارتفاع قيمتها الغذائية وتنوعها الواسع (عزيزية، 2008).

تهدف العمليات التصنيعية المختلفة لمنتجات اللحوم إلى الحصول على منتج ثابت يصلح للاستهلاك البشري يخلو من أي نشاط كيميائي أو ميكروبي يمكن ان يسبب فساد (Mangalassary *et. al.*, 2007). وتقسم طرائق الحفظ بناء على ذلك إلى طرائق الحفظ المعتمدة على السيطرة الحرارية كالتبريد والتجميد والبسترة والتعقيم (الجليلي وآخرون، 1985) (Hui *et. al*, 2005)، وطرائق الحفظ المعتمدة على السيطرة على الرطوبة كالتجفيف والتمليح (الأسود، 1980) (Hui *et. al*, 2005)، وطرائق الحفظ المعتمدة على التأثير المباشر في عوامل الفساد كالتشعيع وإضافة المواد الحافظة والأنزيمات (أبو الخير، 1993) (Warriss, 2010). وأياً كانت طرائق الحفظ فان تقييم جودتها يعتمد على قدره في المحافظة على القيمة الغذائية من جهة، وتحقيق ثبات المنتج لأطول فترة ممكنة بأقل تكاليف إقتصادية من جهة أخرى (الجليلي وآخرون، 1985) (Hui *et. al*, 2005).

يتمثل تصنيع اللحوم بمجموعة من العمليات والإجراءات الخاصة الفيزيائية والكيميائية تؤدي إلى تشكيل المنتج النهائي وإخراجه باللون والطعم والقوام المرغوب، ويتطلب ذلك في العادة أكثر من تقنية من تقنيات التصنيع المعروفة كالفرم والتقطيع والتجنيس والتدليك والاستحلاب والتمليح والمعالجة وإضافة مواد مساعدة كالبهارات والمواد المستحلبة والحافظة ومعززات النكهة واللون، تليها عمليات التعبئة والتخمير والتجفيف والتدخين والمعاملة الحرارية بهدف البسترة أو التعقيم (Heinz and Hautzinger, 2007).

تقدمت صناعة اللحوم وتعددت منتجاتها حتى أصبح من الصعب حصرها، ولكن هذه المصنوعات تخضع في تقسيمها الى مجموعتين اساسيتين، أولهما مجموعة المصنوعات المعقمة والمبسترة المعلبة (الكونسروة)، ومن أمثلتها كونسروة اللحم والشوربات. وثانيهما مجموعة المصنوعات غير المعلبة والتي تشمل اللحوم المغلفة وغير المغلفة ومن منتجاتها مجموعة

المدخنات ومجموعة نقائق اللحم ومصنوعات الأحشاء والمصنوعات المبردة والمجمدة والمعبأة والمجهزة، ومن افضل المراجع التي أوردت تقسيمات مسهبة في هذا المجال (Feiner, 2006).

تتداخل عوامل سلامة المنتج النهائي بدءاً من المادة الخام ومواد التصنيع المضافة وطرائق التصنيع المختلفة وتقنيات وأجهزة التصنيع واليد العاملة والنقل والتخزين والعادات الاستهلاكية المتغيرة، لتشكل مع طبيعة اللحم سريعة التلف تحدياً كبيراً لدى المنتج والمستهلك في المحافظة على سلامة وجودة هذه المنتجات لحين الاستهلاك (Sofos, 2008). وتأتي أسباب الفساد الميكروبي لمصنوعات اللحوم متصدرة قائمة تحديات الجودة تليها أسباب الفساد الكيميائي التي لا تقل عنها أهمية مع تعدد المواد المضافة وارتفاع نسبها في المنتج النهائي (Lee, 2010).

3. المرتديلا :

تعرف المرتديلا بأنها المنتج المصنع من نوع واحد أو أكثر من اللحوم السليمة الصالحة للاستهلاك البشري والمطحونة مع البهارات ومكونات أخرى مسموحة، والذي تم تغليفه بأغشية طبيعية أو صناعية وبأشكال مختلفة، وهي غير معلبة وتحفظ مبردة لحين الاستهلاك (القاعدة الفنية الأردنية 79، 2009). وتعد المرتديلا إحدى منتجات اللحوم المصنعة المعتمدة على المعاملة الحرارية وتنتمي لعائلة النقانق، واشتهرت في بداية في إيطاليا حيث صنعت من لحم الخنزير أساساً (Feiner, 2006)، ولكن صناعتها من لحوم الأبقار والدواجن امتدت للوطن العربي منذ مدة (Trindade et. al., 2006)، وهي تشكل الآن أحد أهم عناصر وجبة الإفطار على مائدة الطعام في منطقتنا عامة وفي الأردن بشكل خاص، كما أن الأطفال وطلاب المدارس هم المستهلكين الأبرز لهذا المنتج (Hussein, 2002).

رغم وجود اختلافات طفيفة بين منشأة وأخرى في طريقة إنتاج المرتديلا في المنطقة الواحدة إلا أن هناك خطوات أساسية لا بد أن تتضمنها عملية التصنيع والتي تشمل على عملية تحضير وفرم اللحم ثم خلط المكونات وتجنيسها لتشكيل مستحلب، وأهم هذه المكونات: اللحم، والدهن، والماء، والأملاح، والبهارات، كما يمكن إضافة مكونات نباتية أو حيوانية أخرى كبروتين الصويا،

وأملح الاستحلاب ومواد النكهة والألوان والمواد الحافظة وبعض المكونات الثانوية الأخرى مثل الزيتون والبيض والحليب، يلي ذلك عمليات التعبئة والتشكيل، ثم المعاملات الحرارية (البسترة) والتخزين المبرد (Heinz and Hautzinger, 2007).

مدة صلاحية المرتديلا المبردة أربع شهور، وهي مدة قصيرة نسبياً (القاعدة الفنية الأردنية 816، 2008)، لذا يحاول كل مصنع أن يتميز بمنتجه من المرتديلا وذلك من خلال التحكم بنوعية اللحم المستخدم ونسبة الرطوبة ونسب المكونات المضافة خاصة البهارات والمواد الملونة والمضافات الطبيعية الأخرى كالزيتون والفسق، ولكن المنتج النهائي يخضع في النهاية لمعايير رقابية محددة، فالمواصفة القياسية الأردنية تشترط ألا تزيد الرطوبة عن 65 % ولا تقل نسبة اللحم عن 70 % ولا تزيد النسبة الوزنية للدهن عن 25 % ولا تزيد نسبة النتريت عن 125 جزء بالمليون (125 ppm) والنشا عن 7 % والملح عن 3 % (القاعدة الفنية الأردنية 79، 2009) (القاعدة الفنية الأردنية 816، 2008). ولا تختلف هذه النسب كثيراً إذا ما قورنت بالمواصفات القياسية السورية (المواصفة القياسية السورية "2721"، 2002) (المواصفة القياسية السورية "2179"، 2007).

تزيد طريقة إستهلاك المرتديلا على شكل شرائح من التحدي المستمر للمحافظة على جودتها لقابليتها المفطرة للفساد بعد التقطيع، نظراً لتركيبها من اللحم والرطوبة والدهن بالإضافة للمساحة السطحية الكبيرة الناتجة عن التقطيع، مما دعا الباحثين للبحث عن طرائق مستحدثة للحفاظ على جودة هذا المنتج المرغوب كثيراً لدى مستهلكيه (Theivendran et al, 2006).

3 . 1 : المواد الداخلة في صناعة المرتديلا :

3 . 1 . 1 : اللحم الخام:

تشكل لحوم العجل والدواجن _ الدجاج والديك الرومي خاصة _ الأنواع الأكثر شيوعاً في صناعة المرتديلا، وتستخدم لحوم الدرجة الثانية والثالثة أو ما يسمى بزوائد اللحم Trimmings وجلود الدجاج أو لحم الدجاج البياض بعد انتهاء الموسم في مثل هذه الصناعة، وتشكل نوعية هذه اللحوم تحدياً لدى المنتج في تصنيع منتج نهائي جيد نظراً لمحتواها الجرثومي العالي في أغلب الأحيان، فيلجأ البعض لزيادة المواد الحافظة، بينما يلجأ البعض الآخر لمعامله حرارية مشددة

للحصول على منتج نهائي ثابت ومستقر (Trindade et. al., 2006) (Gerber et al., 2009). ونظرا لهذه الأهمية لنوعية اللحم الداخل في صناعة المرتديلا نجد أن هناك مواصفات قياسية مختصة بهذه المواد تحديدا حتى لا تؤثر مخرجاتها على السلامة العامة للمستهلك (القاعدة الفنية الأردنية 1587، 2004).

3 . 1 . 2: الدهن:

يعد الدهن أحد أهم المكونات الأساسية في صناعة المرتديلا لكونه العامل المهم في تشكيل المستحلبات، وتصل نسبته إلى 20 % من وزن المنتج النهائي أحيانا (Al-Zoubi, 2008). يشكل دهن الأبقار ودهن الدواجن أهم مصادره المستخدمة. وللدهن دور هام في منح النكهة والقوام المرغوبين، ولكن يرتبط بالدهن عدة سلبيات كارتفاع العدد البكتيري وحدوث التأكسد غير المرغوب في المنتج النهائي، بالإضافة لارتباطه بارتفاع نسب الكولسترول (Scanga et. al., 2000).

3 . 1 . 3: الماء:

يضاف الماء إلى المرتديلا أثناء عملية التصنيع لتعديل مستوى الرطوبة بعد إضافة البروتين النباتي والنشا، ويساعد الماء ايجابيا في تحسين قوام المنتج النهائي لكونه احد العناصر الهامة في تشكيل المستحلب مع الدهن والبروتين ، ولكنه يزيد من النشاط المائي a_w مما يساعد على زيادة النشاط الميكروبي والكيميائي المرتبطين بعملية فساد المنتج (Pouttu and Puolann, 2004).

3 . 1 . 4: المواد المضافة:

تضاف لأهداف محددة كتعزيز النكهة وتعديل القوام أو كمضادات ميكروبية ومضادات أكسدة ومانحات للون ورابطة للماء. بعض هذه المضافات أساسي في صناعة المرتديلا كملح الطعام والبهارات والبروتين النباتي (بروتين الصويا) والنيتريت والنشا، وبعضها مواد اختيارية مثل بروتين الحليب ودقيق الحبوب والسكريات والمواد الملونة (Heinz and Hautzinger, 2007).

3 . 1 . 5: مواد التعبئة والتغليف:

تعبأ المرتديلا المبردة في عبوات من الأغلفة الصناعية بأوزان من 100 غرام إلى 2.5 كغم وحسب الطلب (Warriss, 2010)، ورغم تعدد أنواع ومصادر هذه الأغلفة وتتمتعها بصفات

المرونة والمقاومة فانها تلعب دور الحاجز لعوامل الفساد المختلفة وعدم التفاعل مع المنتج نفسه، كما لا يزال موضوع هذه الأغلفة وتطويرها محل الاهتمام الكبير لدى الباحثين لغاية يومنا هذا (Kerry *et. al*, 2006).

3 . 2 : أهم مؤشرات الجودة والفساد في المرتديلا :

3 . 2 . 1 : الصفات الحسية :

تعد المؤشر الأول للجودة، وعليها يعتمد المستهلك في اتخاذ قراره الأول في اختيار نوع معين من المرتديلا أو رفضه، وتتضمن هذه الصفات المظهر العام واللون والرائحة والنكهة والقوام.

3 . 2 . 1 . 1 : اللون :

يشكل العنصر الأهم في المظهر العام Appearance للمرتديلا، كما يدل تجانسه وعدم وجود تبقعات غريبة على جودة المنتج النهائي، ولون المرتديلا الأحمر الزاهي إلى الأحمر الداكن ينحدر أساسا من لون اللحم الذي تشكل صبغة المايوغلوبين العنصر الأساسي له (Maayah, 2006). (Nannerup *et. al.*, 2004)

تتحول صبغة الأوكسي مايوغلوبين الزاهية إلى صبغة الميتامايوغلوبين الداكنة أو البنية عند تأكسد الصبغة وعند ارتفاع درجة الحرارة أثناء التصنيع، لذا يتم إضافة مواد مانعة للتأكسد مانحة للون كالنتريت، وقد تضاف ألوان صناعية حمراء لتعزيز اللون، ويمكن القول بان المحصلة النهائية للون المرتديلا هي المحصلة النهائية للون اللحم الطبيعي والصبغة الصناعية (الإريثروسين) والبهارات والمواد الحافظة المضافة (Poligane *et. al.*, 2002) (Al-Maseimi, 2003).

3 . 2 . 1 . 2 : القوام :

يتميز قوام المرتديلا بالتماسك والنعومة والتجانس عند التقطيع، ويعود التماسك إلى قوام اللحم نفسه مضافا له البروتين النباتي والنشا والماء والمواد المضافة الأخرى المساعدة على الاستحلاب والتجانس للمنتج النهائي (Warriss, 2010). وتعود نعومة المنتج إلى كفاءة الطحن والتنعيم للمادة الخام وإلى نسبة الدهون و مواد الاستحلاب المضافة، إضافة إلى دور الحرارة والتدخين في زيادة تماسك وتشكيل المنتج النهائي، ومن هنا فان الخلط العام في القوام يعود بالأساس إلى

خلل في المكونات الأساسية للخلطة أو خطأ في عملية التصنيع أو لوجود مسببات فساد ميكروبية أو كيميائية (Martinez *et. al.*, 2004).

3 . 2 . 1 : النكهة (الطعم والرائحة) :

يتميز اللحم برائحة ضعيفة تشبه رائحة الدم. عند المعاملة الحرارية في صناعة المرتديلا تتطلق المركبات الطيارة كالأمينات الحموض العضوية وثاني أكسيد الكبريت، بالإضافة لطعم الدهن والمضافات المختلفة وأهمها البهارات والتدخين مكونة في مجموعها رائحة ونكهة المرتديلا (Ventanas, 2010). (Olesen *et. al.*, 2004)

تتعرض مظاهر الفساد المختلفة على الرائحة والنكهة بل إن الرائحة غير المرغوبة هي أول مؤشرات الفساد سواء أكانت ميكروبية أو كيميائية (Stivarius *et. al.*, 2002) (Carrapiso,) (2007).

3 . 2 . 2 : المؤشرات الكيميائية :

3 . 2 . 2 . 1 : الرقم الهيدروجيني pH :

يعرف بأنه سالب اللوغاريتم الطبيعي لتركيز ايونات الهيدروجين ($\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+]$)، وينخفض من رقم التعادل (pH 7) في لحم الحيوان الحي إلى (pH = 5.3 - 5.7) في اللحم الطازج ويعتمد ذلك على مقدار حمض اللاكتيك المتجمع في أنسجة اللحم بفعل التحلل اللاهوائي للغلايكوجين (الجليلي وآخرون، 1985) (Goli *et. al.*, 2012).

يؤثر ارتفاع أو انخفاض الرقم الهيدروجيني في العديد من الصفات الحسية والكيميائية والميكروبية للمرتديلا. إذ يقدر الـ pH للمرتديلا بحدود 6.1 إلى 6.5 فإن من المعروف أن النشاط الميكروبي يزداد بين 5 و 8 . وينخفض الرقم الهيدروجيني في حال تفاعلات الأكسدة غير المرغوبة بينما يرتفع بفعل النشاط الميكروبي الذي يؤدي لتحلل البروتين بواسطة الأنزيمات التي تفرزها الميكروبات (Puolanne *et. al.*, 2001) (Feiner, 2006).

3 . 2 . 2 : تفاعلات الأكسدة وقيم حمض الثيوباربوتريك (TBA) (التزنخ التأكسدي):

تعرف الأكسدة بأنها عملية إحلال أيون الأوكسجين مكان الهيدروجين في روابط الأحماض الدهنية للغذاء، وينتج عن ذلك تزنخ للدهن ورائحة غير مرغوبة وانخفاض في جودة المنتج وقيمته الغذائية (Feiner, 2006) (Al-Mrazeeq, 2008).

هناك عدة عوامل تساعد في حصول واستمرار عملية الأكسدة أهمها كمية ونوعية الدهن، وكمية الأوكسجين، وارتفاع درجة الحرارة، وانخفاض الرطوبة، ومدى التلوث ببقايا المعادن كالححاس والحديد، ونفاذية الضوء، ونوع مواد التعبئة (Al-Ismael, 2002) (Shahidi and Hong, 1991).

تعد عملية الخلط والتجنيس بوساطة آلات الاستحلاب من أهم العمليات أثناء تصنيع المرتديلا، حيث يتم من خلالها تجانس جميع المواد الداخلة، وسحقها بوجود الماء والوصول إلى حالة من المستحلبات مما يؤدي إلى زيادة قدرة اللحم المفروم على ربط الماء ورفع نوعية الناتج وكميته، وبالتالي تحسين قوام المرتديلا (Angor, 2004)، وينتج عن هذه العملية كميات كبيرة من الأوكسجين داخل الخلطة المحضرة مما قد يساعد على تسارع عمليات التزنخ والأكسدة، فإذا أضفنا لذلك كمية الدهن الداخلة في الصناعة وارتفاع درجة الحرارة في مرحلة الطبخ أو التعقيم، فإننا سنجد أنفسنا أمام ظروف مثالية لحدوث عملية الأكسدة، وتجنبنا لذلك يلجأ الكثيرون لإضافة مضادات الأكسدة للمحافظة على جودة المنتج (Gandemer, 2002) (Pussa et. al., 2009).

يمكن تعريف مضاد الأكسدة بأنه أي مركب قادر على تأخير أو تثبيط أو منع حدوث التزنخ أو تغيرات النكهة الناتجة عن الأكسدة (Pokorny et al., 2001). وهناك طيف واسع من مضادات الأكسدة الصناعية والطبيعية. فمن أشهر مضادات الأكسدة الطبيعية حمض الستريك والنباتات الطبيعية كالزعتر (Bishov et. al., 2009). بينما تتوفر العديد من مضادات الأكسدة الصناعية من أكثرها استعمالا في صناعة المرتديلا مركبات بيوتيل هيدروكسي انيسول (BHT) وبيوتيل هيدروكسي تولوين (BHA) التي أثبتت فاعلية كبيرة في المحافظة على سلامة المرتديلا من عمليات التزنخ والتأكسد، ولكن إستخدامها تراجع بعدما أشارت العديد من الدراسات إلى آثارها

السلبية على صحة الإنسان وتزداد هذه الآثار خطورة وأهمية في منتج مثل المرتديلا جل مستهلكيه من الأطفال (Weiss *et. al.*, 2010) (Pugliese and Sirtori, 2012).

يقدر التزنخ في منتجات اللحوم بقياس رقم الحموضة أو البيروكسيد، وهما مؤشران بات الاعتماد عليهما غير عملي في الدلالة على حدوث التزنخ وتعد الطريقة الأفضل بتقدير قيمة حمض الثيوباربوتريك Thiobarbituric acid (TBA) والتي تسوي عدد ملغرامات مركب مالون ألديهيد Malonaldehyde لكل كغم من العينة المستهدفة. ويعبر رقم TBA عن مقدار التزنخ الناتج من التفاعل مع المركبات الناتجة في بداية مراحل التأكسد وليس نهايتها. ويتفاعل حمض الثيوباربوتريك مع مركب مالون ألديهيد منتجا صبغة حمراء تزداد شدتها مع زيادة نواتج عملية الأكسدة (Ulu, 2004) (Al-Mrazeeq, 2008).

3 . 2 . 2 : الفساد الميكروبي للمرتديلا:

المرتديلا منتج حساس لعوامل الفساد الميكروبية لما تحتويه من عناصر غذائية متكاملة ونشاط مائي مرتفع (Bersot *et. al.*, 2008). يعتمد نوع وكمية المحتوى الجرثومي للمرتديلا على كامل السلسلة الغذائية من المادة الخام إلى طاولة المستهلك، ويبرز هنا الدور الهام لتطبيق أنظمة الجودة كالهاسب (HACCP) ولممارسات التداول وبيع التجزئة وطرائق الحفظ المنزلي والإستهلاك المحلي في تقليل أو زيادة التعرض للخطر (FAO, 2008) (Hinton, 2000).

تسود العديد من مجموعات الأحياء الدقيقة في المرتديلا في حال فسادها كبكتيريا حمض اللبن ومجموعة الكوليفورم والبكتيريا المحبة للبرودة والسالمونيلا والبكتيريا العنقودية وغيرها من البكتيريا التي يتحكم في نشاطها حرارة وحموضة المرتديلا بالإضافة لتوفر الظروف الهوائية في عبوات التعبئة (Cervený *et. al.*, 2009). ومع أهمية السلسلة الغذائية في التحكم بالنشاط الميكروبي إلا أن عملية التقطيع إلى شرائح أظهرت حساسية مفرطة كأحد أهم العوامل المؤثرة في محتوى المرتديلا على مائدة المستهلك (مصيفر، 2009). يبين الجدول (1) بعضا من أهم الأنواع الميكروبية السائدة في المرتديلا أو المتعلقة بفسادها مع أهم العوامل المرتبطة بنشاطها.

تعد مجموعة الكوليفورم من أهم المجموعات البكتيرية المرتبطة بجودة اللحوم، وهي مجموعة من البكتيريا العصوية السالبة لصبغة غرام غير المتبوعة، من أهمها بكتيريا

Ray,) *Serratia* و *Klebsiella* و *Enterobacter* و *Citrobacter* و *Escherichia* (2001)، وتنبع أهمية هذه المجموعة في كونها مؤشرا على الظروف الصحية في إعداد الطعام جدول (1): أهم الكائنات الحية الدقيقة المرتبطة بفساد اللحوم ومتطلبات نموها المفضلة

الرقم	الميكروب أو المجموعة الميكروبية	الظروف المفضلة للنمو			
		اللحم المفضل	pH	a _w	O ₂
1.	Coliform bacteria	الأحمر والدجاج	4.4 <	0.95	هوائية
2.	Salmonella	الدجاج	4.4 <	0.95	هوائية
3.	Staphylococcus	الدجاج	4.6 <	0.86	لاهوائية
4.	Streptococcus	اللحم الأحمر	4.8 <	0.91	لاهوائية
5.	Lactococcus	اللحم الأحمر	4.8 <	0.93	لاهوائية
6.	Enterococcus	اللحم الأحمر	4.8 <	0.93	لاهوائية
7.	Listeria	الأحمر والدجاج	5.0 <	0.92	هوائية/لاهوائية
8.	Bacillus	الأحمر والدجاج	4.5 <	0.96	هوائية/لاهوائية
9.	Clostridium	الأحمر والدجاج	4.9 <	0.95	لاهوائية
10.	Pseudomonas	الدجاج	4.7 <	0.80	هوائية إجبارية
11.	Rhizopus	الأحمر والدجاج	4.6 >	0.80	هوائية إجبارية
12.	Penicillium	اللحم الأحمر	4.6 >	0.80	هوائية إجبارية
13.	Saccharomyces	الأحمر والدجاج	4.6 >	0.90	هوائية إجبارية

(مصيفر، 2009) (Feiner, 2006)

وجودها يعني بالإضافة للظروف الصحية السيئة في التصنيع أو التقطيع احتمالية وجود بكتيريا ممرضة كالسالمونيلا التي تنتمي لنفس العائلة التي تنتمي لها مجموعة الكوليفورم وهي عائلة بكتيريا *Enterobacteriaceae* (Michael, 1989) (Keeratipibul et. al., 2009).

ترتبط مجموعة بكتيريا حمض اللبن باللحوم ومنتجاتها وتعد من أهم البكتيريا السائدة بها، ويعد نشاطها المحدد الأساسي للرقم الهيدروجيني للحوم بعد الذبح (ICMSF, 1986). تضم هذه المجموعة العديد من البكتيريا العصوية والكروية الموجبة لصبغة غرام سالبة الكاتاليز والأكسيداز غير المتبوغة والمحبة للظروف اللاهوائية والتي تخمر المواد الكربوهيدراتية منتجة حمض اللاكتيك (Medina et. al., 2001). تستخدم بعض أنواعها كبائنات في تخمير بعض منتجات اللحوم كبكتيريا *Lactococcus* و *Leuconostoc* و *Enterococcus faecium* و *Lactobacillus*.

بينما تعد بعض الأنواع الأخرى من هذه المجموعة مسببة للأمراض وفساد الغذاء كـ *Streptococcus* و *Enterococcus faecalis* . بالإضافة لهذه المجموعات هناك العديد من الميكروبات ترتبط باللحوم كـ *Staphylococcus* التي تسبب بعض أجناسها التسمم الغذائي بينما تستخدم أجناس أخرى منها في منتجات اللحوم المتخمرة. وبكتيريا *Clostridium* وبكتيريا *Bacillus* و *Listeria* وغيرها من البكتيريا التي تظهر تحديات مستمرة لمنتجات اللحوم مع كل تطوير يجري في هذا المجال (Rodriguez et. al., 2010) (Nychas et. al., 2008).

3.3 : مدة صلاحية المرتديلا وعلم تطوير المنتجات :

المرتديلا كأي غذاء مادة قابلة للفساد بطبيعتها، وهناك عدة نقاط حرجة في سلسلتها الغذائية، في حالة عدم ضبطها تظهر عيوب طفيفة أو متوسطة أو خطيرة في المنتج النهائي (Maayah, 2006) (اليماني، 1997). يعتمد فهم هذه العيوب على فهم تركيب الغذاء وتداخلات تفاعلات الفساد المختلفة سواء كانت كيميائية أو جرثومية أو فيزيائية حيث أن وجود عيب معين قد ينتج عن أكثر من تفاعل لعوامل الفساد، كالرائحة غير المرغوبة التي قد تكون حصيلة فساد كيميائي أو جرثومي أو فيزيائي أو جميعها معا (FAO, 2008) (الشيباني، 1985). ومن هنا فإن على أي باحث في مجال جودة المرتديلا أو غيرها الانطلاق أساسا من فهم عميق للمنتج من المادة الخام لمائدة المستهلك (Codex Alimentarius, 2005).

إن الباحث في مجال الجودة وتطوير المنتجات ينطلق بعد فهمه العميق للمنتج من تفهم رغبات المستهلك في الاختيار النهائي للغذاء من رفوف الأسواق (Hoek et. al., 2011). يحدد هذا الاختيار السعر والثقافة والصحة والمزاج العام والجنس والعادات الاجتماعية والاستهلاكية وطبيعة العمل وغيرها من العوامل. وبشكل عام فإن المستهلك يسعى إلى غذاء طبيعي وصحي بعيد عن المضافات الصناعية وقريب من ثقافته المجتمعية، يكون سعره في متناول اليد، بالإضافة للرغبة الجامعة لدى الكثيرين بتجربة ما هو جديد في الأسواق (Baker et.al., 1988) (Jin, 2008). والمنتج الجديد يكون إما أن يكون منتج قديم تم تعديله من خلال طرائق تعبئته أو تم

تغيير بعض صفاته ومكوناته كالنكهة أو نسبة الدهن مثلاً أو منتج جديد كلياً من حيث الشكل والمضمون (Baker *et.al.*, 1988) (Chen, 2010).

تمر عملية تطوير المنتجات في مراحل مختلفة أهمها مرحلة الفكرة فالتطبيق الأولي والتقييم الحسي و إختبار مدة الصلاحية في ظروف التخزين المتوقعة ثم المراحل النهائية بإختبار المستهلك والتعديل حسب الرغبات فالإنتاج النهائي (Baker *et.al.*, 1988). وتبقى عملية التطوير مستمرة على كل المنتجات لتحسين جودتها باستمرار وتلبية تغيرات رغبات المستهلكين (Nam *et. al.*, 2010) (Grunert *et. al.*, 2011).

4. التوابل والنباتات العطرية:

تعرف النباتات العطرية بأنها النباتات التي تحتوي في جزء منها أو جميع أجزائها على مادة فعالة تضاف للأغذية بهدف الحصول على رائحة وطعم مميزين (E.A.S CD/K/714, Said *et.* 2010)، وللنباتات العطرية البرية مكانة مرموقة في التراث العربي والعالمي وقد وثق (Said *et.* 2002) 129 نوعاً منها في منطقتي الجولان والضفة الغربية بفلسطين المحتلتين وهدهما، وتستخدم مثل هذه النباتات على نطاق واسع في المجالات الطبية والغذائية، فبالإضافة لدخول موادها الفعالة في الصناعات الدوائية الحديثة كمادة أولية لصناعة الدواء، قدرت منظمة الصحة العالمية أن أكثر من ثلثي سكان العالم يستخدمون النباتات العطرية كعلاج في المراحل الأولى من المرض (دهام، 2010).

كانت بدايات استخدام النباتات والبهارات في الصناعات الغذائية والأطعمة بهدف الحصول على النكهة المميزة، بينما تعرف الآن باحتوائها على العديد من الفيتامينات والمعادن والقليل من البروتينات والزيوت العطرية التي تساعد في حفظ الأغذية من الفساد الجرثومي والكيميائي (Peter, 2004). إضافة لذلك فإنها تمتاز برخص الثمن وعدم وجود قوانين صارمة لإستخدامها مقارنة بالمضافات الغذائية الصناعية كدرجة النفاوة والجرعة اليومية المقبولة ADI والثبات ضمن ظروف تحضير وحفظ وتناول المنتج (الساعد، 1995).

تعززت أهمية النباتات العطرية مع ظهور العديد من الدراسات التي تؤكد خطورة الإضافات الغذائية الصناعية على صحة المستهلكين (Hobbs *et. al.*, 2012)، فدرس الباحثون استخدام النباتات العطرية كبديل لتلك الإضافات، ولم تكن هذه العملية سهلة لتنوع هذه المواد وآثارها المختلفة، فقد يكون لبعضها أثر جيد كمضاد للأكسدة ولكنه في الوقت ذاته يمكن أن يزيد من المحتوى الجرثومي للمادة المصنعة (Alassaf, 2003). ويجب الأخذ بعين الاعتبار طبيعة المادة الغذائية وتناسب النباتات مع تركيبها الكيميائي ورقمها الهيدروجيني pH وحمولتها الميكروبية وسلسلتها الغذائية، بالإضافة للسمية المتوقعة لبعض هذه النباتات في التراكيز العالية (Tasaki *et. al.*, 2008). (Gulmez and Vatansever, 2006).

تضاف النباتات العطرية للأغذية إما طازجة أو مجففة أو على شكل زيوت عطرية أو مستخلصات باستخدام مذيبات مختلفة (Bremmess, 1994). كما تحضر منها مستخلصات مائية بعدة طرائق أهمها طريقة النقع بالماء البارد أو الساخن لمدة زمنية من 10 دقائق إلى 24 ساعة وكلما زادت مدة النقع تم الحصول على كمية أكبر من المادة الفعالة مع احتمالية زيادة الحمل الميكروبي، بينما يؤدي ارتفاع حرارة الماء إلى زيادة الاستخلاص مع تخفيض مستويات الحمل الميكروبي (Sivarrooban *et. al.*, 2006). وتحضر المستخلصات المائية بالغلي مع الماء مباشرة ولا تفضل هذه الطريقة لتأثيرها سلبا على المواد الفعالة، ولا يفضل طحن النباتات ومزج مسحوقها مع الماء لإعداد مستخلصات مائية وذلك لصعوبة تصفيتها وتطحن عادة عند استخلاص الزيوت العطرية منها (Jaksch *et. al.*, 2004).

تعود أهمية النباتات العطرية لما تحتويه من زيوت عطرية تتركز في أجزاء مختلفة من النبات، ويختلف نوع هذا الزيت باختلاف النباتات ذاتها، وتختلف نسب الزيت في النبات تبعا لعدة عوامل كاختلاف صنف النبات وظروفه البيئية ومرحلة نموه وموعد القطف وتجفيفه ونقلوته من الشوائب (Zoubiri and Baaliouamer, 2011).

4. 1 : النباتات العطرية كمضادات ميكروبية:

تتضمن آلية تثبيط النباتات العطرية للميكروبات أشكالاً مختلفة من التأثير على المادة الوراثية DNA أو على بروتين الخلية أو على فعالية أنزيمات الميكروبات ونشاطها أو على غشاء الخلية وجدارها أو على آلية نقل المغذيات، وتعود طبيعة التأثير لنوع المركب الكيميائي في الزيوت العطرية ونوع الميكروب المستهدف (دهام، 2010) (Britton and Kircher, 1998).

وأياً كان نوع التأثير وميكانيكيته فإن فعاليته تعتمد بشكل أساسي على كمية وتركيز المركب الكيميائي في الزيت العطري، بالإضافة للعوامل الفيزيائية والكيميائية المحيطة، مع الأخذ بعين الاعتبار أن التأثير يكون أكثر فعالية في بداية الطور التمهيدي للنمو الميكروبي وليس في الطور اللوغاريتمي والحمل الميكروبي العالي حيث لا يظهر أثر النباتات العطرية واضحاً عند هذه المرحلة (Adeleye et. al., 2003) (Benavides et. al., 2012).

يختلف تأثير أي مركب كيميائي في الزيوت العطرية باختلاف أنواع الكائنات الحية الدقيقة، ومع ذلك يمكن القول أن الخمائر والفطور أكثر حساسية للتثبيط من البكتيريا (El-Baroty et. al., 2010)، بينما أوردت بعض الدراسات حساسية أكبر للبكتيريا السالبة لصبغة غرام عن البكتيريا الموجبة لصبغة غرام عند استخدام مستخلصات مائية (Adeleye et. al., 2003)، في حين أن البكتيريا الموجبة أكثر حساسية من السالبة لصبغة غرام عند استخدام زيوت عطرية (Vivek et. al., 2007)، كما يمكن تحقيق فعالية تثبيطية أفضل بعمل مزيج من النباتات بهدف التأثير على أكبر طيف من الأحياء الدقيقة، علماً أنه يجب الأخذ بعين الاعتبار طبيعة الغذاء وتركيبه وتناسب حموضته مع الحموضة المناسبة لفاعلية النباتات العطرية التثبيطية (Burt, 2004).

تدرس فاعلية النباتات العطرية التثبيطية من خلال إضافتها للغذاء ودراسة المحتوى الميكروبي قبل وبعد الإضافة، كما تدرس هذه الفعالية على الميكروبات مباشرة بعدة طرائق أهمها طريقة قياس العكارة الناتجة عن الحمل الميكروبي، أو بطريقة قياس قطر الهالة المتكونة حول

أقراص منها مثبتة على بيئات تشييطية أو بإستخدام طريقة التخفيفات والعد مع وبدون إضافة المستخلص (Tassou et. al., 2000) (Oussalah et. al., 2006).

تعد المواد الفينولية والتربينية من أهم المواد التي تدخل في تركيب الزيوت العطرية كمضادات ميكروبية، ومن أهم هذه المواد α -phellandrene و α -pinene و α -limonene و Borneol و Carvacrol و Citronellol و Geraniol و Myrcene و P-cymene و Terpinen-4-ol و Thymol (الدخل الله، 2011) (Britton and Kircher, 1998).

4 . 2 : النباتات العطرية كمضادات أكسدة:

تشكل المركبات الفينولية غالبية مضادات الأكسدة الطبيعية وتعد التوكوفيرولات والفلافونويدات والحموض الفينولية من أهم مجموعات مضادات الأكسدة الطبيعية، ويتمثل عملها بشكل رئيسي في إزالة الجذور الحرة من الوسط، فعند أكسدة الدهون تقوم هذه المركبات التي تعد مانحات جيدة للهيدروجين بإعطاء ذرة هيدروجين إلى الجذور الحرة، ويتضمن عملها كمضادات أكسدة أيضاً دورها في إخماد الأوكسجين الوليد وفي تعطيل الأيونات المعدنية المساعدة على عملية الأكسدة (Maestri et. al, 2006). من هذه المركبات α -phellandrene و α -pinene و β -pinene و Camphene و 1.8-cineole و Caryophyllene oxide و Germacrene و α -terpinene و β -myrcene و α -terpinol و Thymol و β -cymene و α -cubebene (Lopez et. al., 2003) (Konan et. al., 2009).

4 . 3 : نباتات الدراسة:

4 . 3 . 1 : الزعتر:

ينتمي الزعتر Thyme واسمه العلمي *Thymus vulgaris* إلى العائلة *Lamiaceae*، تستخدم الأجزاء الهوائية منه في المجالات الغذائية والطبية سواء بتحضير مستخلصات مائية أو زيوت عطرية (Farrell, 1998). يحتوي زيت الزعتر العطري على العديد من المركبات الفعالة أهمها مركبي

Thymol و Carvacrol التي تشكل أكثر من 65% من مكونات زيتة العطري، بالإضافة لمركبات flavonoids و Biphenyls و Menthol و Menthone و Labiatin acids و 1,8-cineol و Terpenic esters (Britton and Kircher, 1998) يعد الزعتر من أشهر النباتات العطرية كمضاد للأكسدة ومثبط للنمو الميكروبي (Karagoz et. al., 2010) (Lee et. al., 2005).

4 . 3 . 2 : الزنجبيل:

الزنجبيل Ginger واسمه العلمي *Zingiber officinale*، ينتمي للعائلة الزنجبارية *Zingiberaceae*، موطنه الأصلي الصين وشرق آسيا حيث تنتج الهند نصف الإنتاج العالمي منه، يستخدم سوقه وريزومه بعد جفافه في عدة استخدامات طبية وغذائية (Kikuzaki et. al., 1994)، يحتوي على العديد من المواد الفعالة وأهمها zingiberene ويشكل 70% من زيتة العطري بالإضافة لمواد أخرى فعالة أهمها curcumene و β -sesquiphellandrene و β -phelladrene و cineol و farnesene و citral (Ravindran and Babu, 2005). بين (Pawar et. al., 2011) فعاليته كمضاد للأكسدة، بينما بين (Chen et. al., 2007) فعالية الزنجبيل كمضاد ميكروبي.

4 . 3 . 3 : إكليل الجبل (حسا البان):

ينتمي إكليل الجبل (حسا البان) Rosemary إلى العائلة الشفوية *Lamiaceae* واسمه العلمي *Rosmarinus officinalis* تستخدم أجزاءه الهوائية في المجالات الطبية والغذائية، وله عدة أسماء منها حسا ألبان وإكليل النفساء (Peter, 2004)، يحتوي زيتة العطري على مركبات α -pinene و Flavonoids و Therein و 1,8-cineol و camphor و Sesquiterpenoids و Di- and Terpenic و Monoterpenoids و Monoterpenons و Terpenic esters و Triterpenoid acids (Bremmess, 1994). وإكليل الجبل فعالية موثقة كمضاد للميكروبات ومضاد للأكسدة (Seydim and Sarikus, 2006) (Erkan et. al., 2008).

4 . 3 . 4 : الكراوية:

الكراوية Caraway تنتمي للعائلة *Apiaceae* واسمها العلمي *Carum carvi*. لثمارها المعروفة باسم بذور الكر اوية عدة إستخدامات طبية وغذائية (Bailer *et. al.*, 2001). من أهم المواد الفعالة للزيت العطري مركب carvone بنسبة تتراوح بين 50 و 85% يليه مركب limonene التي تشكل ما نسبته 10 إلى 20% من الزيت العطري، بالإضافة لاحتوائه على مركبات α - & β -pinene و sabinene و dihydrocarveol و carveol (Shaw, 2002). بالإضافة لإستخدامات الكراوية الطبية كمادة مهدئة تعد الكراوية مضاد أكسدة فعال في حين أن إستخدامها كمضادات ميكروبية يعد متواضعا في تأثيره (Peter, 2004) (Polovka and Suhaj, 2010).

4 . 3 . 5 : القرفة:

تنتمي القرفة Cinnamon واسمها العلمي *Cinnamomum zeylanicum* للعائلة *Lauraceae*، يشكل الورق واللحاء الجزء النباتي الفعال بها والذي يحوي المادة العطرية (Peter, 2004). يقدر الزيت العطري بحوالي 4% ، أهم مكوناته Cinnamaldehyde و Eugenol ويشكلان ما نسبته 75 إلى 85% منه، بالإضافة لمركبات أخرى أهمها Benzaldehyde و Methyl eugenol و Cinnamyl alcohol و Cinnamyl acetate و caryophyllene و eugenol acetate و hydrocarbon و monoterpene و linalool و benzyl benzoate (Archer, 1988). تمتاز بفعالية كمضاد للأكسدة (Shan *et. al.*, 2005). وفعالية كمثبط للنمو الميكروبي (Lopez *et. al.*, 2005).

4 . 3 . 6 : الكزبرة:

الكزبرة Coriander واسمها العلمي *Coriandrum sativum* تنتمي للعائلة *Apiaceae* تتركز المواد الفعالة في الثمار الجافة والأجزاء الخضرية (Farrell, 1998). يحتوي زيتها العطري على العديد من المركبات أهمها Linalool بنسبة 50 إلى 60% و Terpenes بنسبة 20 % بالإضافة لمركبات Phellandrenes و Pinene و γ -Terpinene myrcene و Camphene

و α -Terpinene و Limonene و Cymene (Britton and Kircher, 1998). تعمل مواده
الفعالة كمضادات للأكسدة (Wangensteen, 2004) ومثبطات ميكروبية (Kubo, 2004).

4 . 3 . 7 : الكمون:

ينتمي الكمون Cumin واسمه العلمي *Cuminum cyminum* لعائلة *Apiaceae*
الخيمية وهي نفس العائلة التي تنتمي لها الكزبرة (Bremmess, 1994). تتركز المواد الفعالة في
ثمارها، ومن أهمها *p-isopropyl-benzaldehyde* و *furthermore perilla aldehyde*
و cumin alcohol و α - and β -pinene و β -phellandrene و dipentene (Heravi *et. al.*,
2007). لهذه المواد فعالية كمضادات ميكروبية ومضادات للأكسدة (Nicola *et. al.*,
2005) (Rebey *et. al.*, 2012).

4 . 3 . 8 : الفلفل الأسود:

ينتمي الفلفل الأسود Black pepper واسمه العلمي *Piper nigrum* L. إلى العائلة
الفلفلية *Piperaceae*. تعد ثمارها الجافة ذات اللون الأسود والمسماة بكرات الفلفل الأوسع إنتشارا
كبهارات عالميا (Britton and Kircher, 1998)، يحتوي زيتة العطري على العديد من المواد
الفعالة من أهمها sabinene و β -pinene و limonene و terpinene و α -pinene
و myrcene و 3-carene و borneol و carvone و carvacrol و 1,8-cineol و linalool
والتي تشكل ما يقرب من 80% من زيتة العطري بالإضافة لمركبات أخرى مثل β -
caryophyllene و β -bisabolone و caryophyllene oxide و myristicin و α -
Phellandrene، وتشكل نكهة الفلفل الأسود بشكل أساسي كل من مركبات linalool و
limonene و myrcene و α -pinene (Miller *et. al.*, 2009). أثبتت الدراسات وجود فعالية
لمستخلصات الفلفل الأسود كمضاد للأكسدة (Khalaf *et. al.*, 2008) وكمضاد للأحياء الدقيقة
(Pundir and Jain, 2010).

4 . 3 . 9 : جوزه الطيب:

جوزه الطيب (*Nutmeg (Myristica fragrans H.)* تنتمي للعائلة *Myristicaceae*، تتركز المواد الفعالة في ثمارها المميّزة (Farrell, 1998)، من أهم مكونات زيتها الفعال الذي يشكل 10% من الثمار مركبات Terpene hydrocarbons مثل Sabinene و Pinenes و *p*-Cymene ومركبات Terpene derivatives مثل Linalool و Geraniol ومركبات Phenylpropanoids مثل Myristicin و Elemicin ومركبات Myristicin مثل Methoxy-safrole و Typically (Bremmess, 1994). أثبتت الدراسات أثر زيت العطر كضاد للأكسدة (Misharina *et. al.*, 2009)، وأثره أيضا كضاد للحياة الدقيقة (Firouzi *et. al.*, 2007). أشار (Forrester, 2005) لآثاره السمية عند استخدامه بتركيزات عالية.

4 . 3 . 10 : الميرمية:

الميرمية أو الميرمية Sage واسمها العلمي *Salvia officinalis L.* تنتمي للعائلة الشفوية *Lamiaceae*، تستخدم أجزاؤها الهوائية المحتوية على المواد الفعالة في مجالات طبية وغذائية واسعة (Dawson, 2000)، تعد من أكثر النباتات العطرية استخداما في البيت الأردني والفلسطيني خاصة في فصل الشتاء حيث تضاف إلى الشاي، يتكون زيتها العطري الذي تبلغ نسبته 2.5 % من العديد من المركبات أهمها Thujone الذي تتراوح نسبته بين 35 إلى 60% من المواد الفعالة بالإضافة إلى 1,8-Cineol و Camphor و Borneol و Bornyl esters و α -Pinene و Salvene (Generalic *et. al.*, 2012). لزيتها العطري اثر كضاد للأكسدة (Walch *et.al.*, 2011)، كما له اثر كضاد للبكتيريا (Lixandru *et. al.*, 2010).

4 . 4 : الدراسات السابقة للنباتات العطرية كمضادات ميكروبية:

استهدفت العديد من الأبحاث دراسة أثر النباتات العطرية كمضادات ميكروبية وأثرها على البكتيريا والخمائر والفطور بشكل مباشر، ولتنوع هذه الدراسات وتعددتها سننظر هنا لأمتثلة على الدراسات التي تناولت النباتات المستخدمة في هذا البحث فقط.

تفوق زيت الزعتر العطري نوع *Corydothymus capitatus* المحتوي على مادة الكارفاكروول بنسبة تزيد عن 75% من بين ستين زيت عطري مختلف في تثبيط بكتيريا *Pseudomonas putida* المعزولة من اللحم، وكان صنفان من الزعتر البلدي *Thymus vulgaris* من بين أفضل سبعة زيوت عطرية في التثبيط، وقد شملت الدراسة زيوت العديد من الحمضيات وزيت القرفة والبقدونس والكزبرة والكمون وإكليل الجبل وغيرها من الزيوت العطرية المختلفة. واعتمدت الدراسة في قياس درجة التثبيط على الانخفاض في العدد الميكروبي بتحضير تراكيز مختلفة من الزيوت العطرية ومزجها ضمن بيئة BHI agar ومن ثم نشر 0.4 مل من تخفيفات مختلفة من البكتيريا على سطح البيئة والحضن 48 ساعة على 35°س واعتبار التخفيف الذي لم تنمو فيه أي نموات بقيمة التركيز الدنيا التي يستطيع الزيت العطري عندها تثبيط كل النموات البكتيرية (Minimum Inhibitory Concentration (MIC)، واعتبار التخفيف الذي لم يؤثر به الزيت العطري كتركيز مقاوم (Maximal Tolerated Concentration MTC) (Oussalah et. al., 2006).

أظهرت دراسة على مستخلص الزنجبيل المائي والعسل الطبيعي أن له فعالية تقارب فعالية المضاد الحيوي جنتاميسيس Gentamycin ضد مجموعة من البكتيريا منها و *Lactobacillus acidophilus* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus mutans*. وقد اعتمدت الدراسة طريقة عمل الفجوات داخل البيئة الصلبة الملوثة بمسحات من تراكيز معينة من البكتيريا، وملء الفجوات بالمستخلصات المائية والحضن 37°س لمدة 24 ساعة وقياس قطر الهالة غير المحتوية على نموات والتي يعبر قطرها عن قوة التثبيط. حيث بينت الدراسة أيضا أن أفضل فاعلية للزنجبيل كانت ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* وزادت هذه الفاعلية بمزج العسل ومستخلص الزنجبيل سويا (Patel et.al., 2011).

أظهر مستخلص إكليل الجبل فاعلية ضد بكتيريا *Campylobacter jejuni* في دراسة أجريت على الدجاج المجمد في مرحلة التبريد السريع قبل عملية التجميد النهائي، حيث خفض الأعداد البكتيرية بأربع أضعاف العدد الموجود في الشاهد، وكان للتبريد أثر مؤازر لزيت إكليل

الجلب العطري في عملية التثبيط رغم أن التبريد ذاته من العوامل المساعدة على بقاء بكتيريا *Campylobacter jejuni* حية، وثبت ضمن هذه الدراسة أن التبريد مع إكليل الجبل خفّض العدد الميكروبي بحدود $2.0 \log$ في حين لم يتجاوز التخفيض $1.0 \log$ في النيسين Nisin كمضاد بكتيري والذي لم تتأثر فعاليته بانخفاض درجة الحرارة (Piskernik et. al., 2011).

أكد (Mohsenzadeh, 2007) في دراسة تقييمية لبعض الزيوت العطرية لنباتات عطرية إيرانية شملت بالإضافة لزيت الكراوية زيت الزعتر والشمر والننع والطرخون الفعالية المتوسطة لزيت الكراوية وزيت الننع والطرخون ضد كل من بكتيريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* مقارنة بفاعلية عالية لزيت الزعتر ومنخفضة لزيت الطرخون Tartagon، وخلصت الدراسة للتوصية باستخدام الزيوت العطرية الفعالة في مجال حفظ الأغذية.

بين (Lopez et. al., 2003) في دراسة واسعة لتقييم الأثر الميكروبي شملت ست زيوت عطرية منها زيت القرفة والقرنفل وإكليل الجبل والزنجبيل على أربع من البكتيريا الموجبة لصبغة غرام هي *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* و *Listeria* و *Bacillus cereus* وأربعة سالبة لصبغة غرام هي *Escherichia coli* و *monocytogenes* و *Yersinia enterocolitica* و *Salmonella choleraesuis* و *Pseudomonas aeruginosa* ونوعان من الفطور هما *Penicillium* و *Rhizopus* وخميرة *Candida* أن زيت القرفة والقرنفل كانت الأقوى في عملية التثبيط بينما كانت زيوت كل من الشبت Dill والزنجبيل هما الأضعف في عملية التثبيط، في حين أكدت الدراسة التي اعتمدت طريقة الهالة الفارغة كما في الدراسة السابقة على أن البكتيريا السالبة لصبغة غرام أكثر مقاومة للتثبيط من الموجبة في حين أن الخمائر والفطور أكثر حساسية لهذه الزيوت العطرية.

ولم يكن زيت الكزبرة العطري أقل أثراً من غيره في تثبيط الميكروبات، فقد كان إلى جانب زيت الريحان والزعتر من أفضل ثمانية زيوت عطرية بينها زيت الميرمية وإكليل الجبل والكراوية في تثبيط أحد عشر نوعاً من البكتيريا منها *Salmonella* و *Salmonella enterica* و *enteritidis* والبكتيريا الأخرى المسؤولة عن فساد الأغذية كبكتيريا *Wisteria*

monocytogenes و *Bacillus cereus* و *Escherichia coli* وغيرها، بالإضافة لفطور البنسيليوم والاسبارجالس وخميرة الكانديدا (Lixandru et. al., 2010).

أجريت دراسة في تونس على زيت الكمون التونسي قام خلالها الباحثون بتحليل المواد الفعالة الموجودة في هذا الزيت، ثم دراسة الفعالية الميكروبية والمضادة لبكتيريا *Vibrio spp.* وكذلك الفعالية ضد الفطور تبين وجود أثر مثبت عال لزيت الكمون على بكتيريا *Vibrio spp.* حيث بلغ قطر هالة التنشيط من 11 إلى 23 ملم. ومع الفعالية ضد الفطور وكمضاد أكسدة فقد أوصت الدراسة بإستخدام هذه الثمار ومستخلصاتها في مجال حفظ وتصنيع الأغذية (Hajlaoui et. al., 2010).

إستخدمت مستخلصات مائية وكحولية للفلل الأسود والكرم لدراسة فعاليتها الميكروبية ضد بكتيريا *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* وضد نوعين من الفطور هما *Rhizopus stolonifer* و *Mucor spp.* ، حيث بينت النتائج أن لمستخلص الفلفل الأسود المائي فعالية قوية ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* وعدم وجود فعالية له ضد بكتيريا *Bacillus subtilis* في حين كان له فعالية كبيرة كمستخلص كحولي ضد النوعين من البكتيريا تفوق فيها على مثيله من الكرم. ولكن الكرم حقق تميزا بفاعليته المنفردة ضد الفطور كمستخلص كحولي وفعالية ضعيفة كمستخلص مائي ضد بكتيريا *Bacillus subtilis* (Pundir and Jain, 2010).

أثبت زيت جوزة الطيب العطري فعالية أعلى عند مقارنته بزيت الأوريغانو العطري في تنشيط بكتيريا *Listeria monocytogenes* في حين تفوق الأخير في حال بكتيريا *Yersinia enterocolitica*، بينما منع كلا الزيتين زيادة عدد نوعي البكتيريا عند إضافتهما لدجاج الباريكا الإيراني خلال فترات التخزين على درجات حرارة التبريد لمدة تصل إلى 72 ساعة (Firouzi et. al., 2007).

قام (Generalic *et. al.*, 2012) بدراسة على نبات الميرمية في فصول السنة المختلفة قدر من خلالها مكونات ونسب زيتة العطري وأثره في النكهة والقدرة المضادة للأكسدة والميكروبات، حيث وجد لزيت الميرمية العطري أثر فعال على بكتيريا *Salmonella Infantis* و *Escherichia coli* و *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus* خاصة عند القطاف في شهر أيار مايو من كل عام.

4 . 5 : الدراسات السابقة للنباتات العطرية كمضادات أكسدة:

في دراسة مقارنة للفعل المضاد للأكسدة بين كل من زيت الميرمية و إكليل الجبل العطريين من جهة وبين Butylated hydroxyanisole (BHA) كمضاد أكسدة صناعي من جهة أخرى، أضيف كل من المواد الثلاث إلى عينات من باتيه (عجين) الكبد المبرد، وتم خزن المنتج مع شاهد أعد بدون أي إضافات على درجة حرارة 4°م لمدة 90 يوم، قيس خلالها نسب الأحماض الدهنية غير المشبعة وقيم حمض الثيوباربيوتريك (TBA) الدالة على مقدار الأكسدة الحاصلة في باتيه الكبد المبرد، وقد بين البحث تفوقا واضحا لكلا الزيتين العطريين على مضاد الأكسدة الصناعي Butylated hydroxyanisole (BHA) حتى بعد 60 و 90 يوم من التخزين، وانعكس ذلك إيجابا على الصفات الحسية للمنتج (Estevez *et. al.*, 2007).

بين (Aazza *et. al.*, 2011) في دراسة قام بها على بعض الزيوت العطرية المنتجة من شركة محلية وقدرتها على العمل كمضادات أكسدة بإستخدام عدة طرائق مخبرية تفوق زيت الزعتر العطري على زيوت كل من النارنج والصنوبر والشومر وزيوت بعض الأشجار الصمغية، وعزا الباحثون ذلك إلى احتواء زيت الزعتر على مواد الثايمول و الكارفاكرول.

أجريت دراسة شاملة على ريزومات الزنجبيل الطازج المنتج في اليونان، حيث استخلص زيتة العطري وتم عزل 29 مركب كيميائي فيه، ثم درست خصائص هذه المواد الطبية والمضادة للأكسدة. فبالإضافة لثبوت خصائص طبية علاجية في تجارب الفئران المختلفة، أثبتت هذه المواد قدرة مميزة على تعطيل الجذور الحرة المسببة لأكسدة الدهون عند إجراء تجارب عليها مثل

DPPH (2,2-diphenyl -1-picrylhydrazyl) و xanthine-oxidase و monoamine oxidase ، مع ملاحظة أن فعالية هذه المواد كانت أكثر على DPPH من بقية المواد (Peng *et.al.*, 2012).

بخصوص زيت الكراوية والكزبرة العطريين، تبين في دراسة مخبرية وتطبيقية تهدف لدراسة الخصائص المتعلقة بقدرتها الكيميائية كمضادات أكسدة باستخدام طريقة قياس قدرتها على تثبيط واحتواء الجذور الحرة المتسببة في أكسدة الدهون من أمثال جذر OH و DPPH أن لكلا الزيتين قدرة على احتواء جذر DPPH ومعادلة جذر OH (H₂O₂) بنسبة تصل إلى 50%، مع الأخذ بعين الاعتبار أن زيت الكراوية كان فاعلا في كلا النظامين من التثبيط في حين أن زيت الكزبرة عمل من جانب على تثبيط أحد أنواع الأكسدة وتشجيع محفزات الأوكسجين من جهة أخرى، وبالاستناد لهذه النتيجة خلص الباحثون للتوصية باستخدام الكراوية في الإستخدامات الطبية والغذائية أفضل من زيت الكزبرة (Samojlik *et.al.*, 2010).

تميز زيت القرفة العطري مع زيت الريحان وزيت ثمار النانخة (الكمون الملوكي) Ajowan من بين 25 زيت عطري تم دراسة أثرها المضاد للأكسدة في تثبيط الجذور الحرة المسببة للأكسدة الدهون من أمثال DPPH، وجاء زيت النانخة في المقدمة تبعه زيت القرفة والريحان، وقد عزا الباحثون هذا التميز في تثبيط الأكسدة إلى المركبات الفعالة في زيت كل من هذه النباتات (Huang *et. al.*, 2011).

في دراسة تجاوزت العرف السائد بأن المواد الفعالة للكمون موجودة في الثمار، قام (Bettaieb *et. al.*, 2010) بدراسة أجزاء أخرى من نبات الكمون كالجذور والسوق والأوراق والأزهار ومحتواها من الزيوت العطرية ودراسة أثر هذه الزيوت المضادة للأكسدة. إحتوت الأزهار على أعلى نسبة من زيت الكمون العطري، وكان تركيب الزيت العطري متشابها باختلاف نسب بعض المركبات، وبإستخدام إختبار DPPH و β -carotene/linoleic acid و reducing power و chelating power assays تبين أن الزيت المستخلص من الأزهار كان الأكثر فعالية في حين أظهرت الزيوت المستخلصة من بقية أجزاء النبات أثرًا متوسطًا كمضادات أكسدة.

شُدْصَ 54 مركب فعال في زيت الفلفل الأسود عند الاستخلاص بنوعين من المواد الكحولية بإستخدام جهاز السوكسوليت، وقيم الأثر المضاد للأكسدة لكل زيت مستخلص بواسطة نوع معين من الكحول بقياس مقدار رقم TBA في زيت الخردل المعامل بها وبمضادات الأكسدة الصناعية (BHA و BHT)، حيث أثبت الزيت العطري للفلفل الأسود أثرًا كبيرًا لفعاليته كمضاد للأكسدة مقارنة بمضادات الأكسدة الصناعية، كما أثبت فعالية في إحتواء الجذور الحرة بإختبار DPPH واختبار قوة الاختزال reducing power (Kapoor *et. al.*, 2009).

في دراسة للخصائص المضادة للأكسدة لزيوت اليانسون والقرفة و الزنجبيل، وعرق السوس، والنعناع، وجوزة الطيب، والفانيليا تفوق زيت جوزة الطيب على مضاد الأكسدة الصناعي BHT في حين تفوق عليه في ترتيب القوة المضادة للأكسدة بقية الزيوت العطرية ومضادات الأكسدة الصناعية، ولكن زيت جوزة الطيب أثبت تميزًا مع زيت كل من عرق السوس واليانسون في إحتواء جذور OH الحرة عن بقية الزيوت العطرية (Murcia *et. al.*, 2004).

ولا بد من التوضيح أنه ومع وجود ميزات لكل زيت عطري أو عشبة عطرية من نباتات الدراسة في النشاط المضاد للأحياء الدقيقة والأكسدة، إلا أن هذا النشاط يختلف أثره من دراسة لأخرى. فقد أوردت دراسات مختلفة أثرا مختلفا لنبات معين أو مستخلصه المائي أو زيتة العطري في نشاطه المضاد للبكتيريا والفطور أو المضاد للأكسدة، ويعود ذلك في الحقيقة إلى الفروقات بين الدراسات المختلفة في نوعية الميكروب المستهدف أو المادة الغذائية التي أجري عليها الإختبار، ولكن ومع تباين هذه الدراسات إلا أنها تتفق جميعا على وجود هذا الأثر لهذه النباتات العطرية وغيرها بما يسمح بمواصلة الدراسة لإستخدامها في مجال حفظ وتصنيع الأغذية وتعزيز جودتها.

5. الدراسات المتعلقة بتطوير المرديلا والمنتجات المشابهة:

تناولت العديد من الدراسات المنتجات المفرومة المغلفة كالمرديلا والمنتجات المشابهة مثل المنتجات المفرومة الناعمة كالنقانق والمفرومة متوسطة النعومة كالفرانكفورت بهدف تحقيق متطلبات المنتجين والمستهلكين من تخفيض الكلفة وتحسين القيمة الغذائية أو جعلها متلائمة مع

متطلبات بعض المستهلكين كالحمية مثلا، أو تحسين جودتها وإيجاد بدائل صحية للمضافات الغذائية وغيرها من المتطلبات.

ففي دراسة لاستبدال محتوى المرتديلا من الدهن بزيت الزيتون في المرتديلا بهدف تقليل خطر الدهون الحيوانية العالية صحيا وإستخدام زيت الزيتون بما له من خصائص تغذوية مميزة في هذا المنتج، أضيف زيت الزيتون باستبداله جزئيا بالدهن الحيواني بنسب 3 و 5 و 8% ودرست خصائص المنتج النهائي حسيا وكيميائيا وميكروبيا. تبين أن زيت الزيتون لم يكن له أي أثر يذكر في المحتوى الميكروبي، ورغم أن الشاهد كان الأكثر قبولا حسيا فإن إضافة 3 و 5% من زيت الزيتون لم تقلل من قبول المنتج النهائي معنويا، في حين كان لإضافة زيت الزيتون أثر سلبي على قيمة حمض الثيوباريوترك TBA مما يدل على أن هذه الإضافة أدت لزيادة فرص تزنخ الدهن في منتج المرتديلا النهائي. وخلص الباحث إلى التوصية بإمكانية إستخدام زيت الزيتون كبديل جزئي للدهن الحيواني بنسب 3% وعلى أن لا تتجاوز 5% في حدها الأعلى (Hussein 2002).

وفي دراسة قام بها (عزيزية، 2008) استبدل جزء من اللحم في خلطة المرتديلا المدخنة بمسحوق الصويا منزوع الدسم بنسبة 4% في الخلطة الأولى و 3% من مركز بروتين الصويا في الخلطة الثانية، و 2% من كل من معزول بروتين الصويا وكازئينات الصوديوم في الخلطتين الثالثة والرابعة ومقارنتها بالشاهد. تبين من خلال النتائج زيادة نسبة البروتين والمردود وانخفاض نسبة الدهون في المرتديلات الحاوية منتجات بروتين الصويا وكازئينات الصوديوم. وخلص البحث إلى إمكانية إستخدام مركز بروتين الصويا و معزول بروتين الصويا وكازئينات الصوديوم في هذا النوع من المرتديلا بما يعزز قيمتها الغذائية بزيادة البروتين دون التأثير السلبي على صفات الجودة النهائية للمرتديلا.

بينت دراسة إستخدمت فيها خلطات من كلوريد الكالسيوم والمغنيسيوم والبوتاسيوم كبديل جزئي لملح الطعام في صناعة المرتديلا قليلة الدسم لأهداف تغذوية أن إستخدام نسب عالية من الكالسيوم تصل إلى نصف كمية الملح أدى إلى انخفاض في المردود وتماسك الخلطة وإلى صلابة في المنتج النهائي، في حين أن خلطة مكونة من 50% ملح طعام و 25% من كل من كلوريد

البوتاسيوم والمغنيسيوم أعطت أفضل ثباتية وأساء نكهة، ولكن أفضل خلطة كانت بتخفيض نسبة ملح طعام إلى 50% واستبدال النسبة المتبقية بمقدار 25% من كل من كلوريد البوتاسيوم وكلوريد الكالسيوم (Horitaa et. al., 2011).

استخدمت تراكيز مختلفة من زيت أحد أنواع الزعتر البري العطري winter savory (*Satureja montana* L.) هي 0.78 و 1.56 و 3.125% مع توافق مختلفة من النترت هي صفر و 100 و 200 جزء بالمليون (ppm) في خلطات نقانق المرتديلا الملوثة ببكتيريا *Clostridium Perfrengens* لدراسة الأثر المثبط للزيت العطري للنمو الميكروبي. أظهرت الدراسة زيادة الأثر التثبيطي لكل من الزيت العطري والنترت مع ارتفاع تركيز كل منهما، وبكل الأحوال استطاعت أقل التراكيز من الزيت العطري بوجود نترت بتركيز 100 جزء بالمليون تثبيط بكتيريا *Clostridium Perfrengens* طيلة فترة الخزن وبأثر معنوي فعال، وهذا يدل على إمكانية استخدام الزيت العطري لتخفيض استخدام المواد الحافظة الصناعية دون التأثير على جودة المنتج النهائي بما يتفق مع الاتجاه العالمي في هذا المجال (Oliveiraa et. al., 2011).

وفي دراسة تبدو وكأنها استكمال للدراسة السابقة قام (Oliveiraa et. al., 2012) بإعادة استخدام نفس الزيت العطري للزعتر البري winter savory مع نسب متفاوتة من نترت الصوديوم بهدف دراسة أثر ذلك على لون وأكسدة نفس النوع من المرتديلا بعد تخزينه على درجة حرارة 25°س لمدة 30 يوم. تبين أن استخدام تراكيز من زيت الزعتر البري تزيد عن 15.6 ميكروليتر/غ لم يؤد للحفاظ على لون المنتج الأحمر بل وتحول لون المنتج إلى الأصفر غير المرغوب، في حين أن 100 ملغم / كغم من النترت كانت كافية لذلك. من جهة أخرى فقد أثبتت الدراسة قدرة الزيت العطري للزعتر البري كمضاد للأكسدة في المنتج النهائي وأدى استخدامه لتقليل كميات النترت المستخدمة (Oliveiraa et. al., 2012).

بينت دراسة لمقارنة القوة المضادة للأكسدة في منتجات المرتديلا وسلامي ميلانو باستخدام خمس أنواع من مضادات الأكسدة الطبيعية هي: تركيزين من سكوربات الصوديوم ومجموعة من المركبات العضوية الفعالة التي تستخلص أساساً من بعض النباتات مثل حمض الفايستيك

Sesamol و Catechin عدم ظهور أي اختلاف في إستجابة المرتديلا والسلامي لهذه المضادات الطبيعية، وكان حمض الأسكوربيك ذو أثر واضح في خفض قيم TBA والحفاظ على ثباتية في اللون. لعب السيسامول وحمض الأسكوربيك دورا في تثبيط أكسدة الكولسترول في حين لم يحقق الكاتشين مثل هذا الأثر. وبشكل عام فقد خلصت الدراسة إلى أن أي من الإضافات لم يكن لها اثر كاف للإستخدام وحدها في إنتاج المرتديلا وسلامي ميلانو لغاية تثبيط الأكسدة في المنتج النهائي (Ghiretti et.al., 1997).

أنتجت عدة خلطات من نقانق بولونا بإستخدام 1% من ألياف البرتقال و0.02% من الزيت العطري لكل من نباتي إكليل الجبل والزعرر بهدف دراسة أثرها على فترة صلاحية المنتج النهائي وصفات الجودة فيه من خلال تحليل الرطوبة والرماد واللون والبكتيريا المحبة للبرودة ومجموعة بكتيريا *Enterobacteriaceae* بالإضافة لتعداد بكتيريا حمض اللبن. وكانت الملاحظة الأولى في النتائج بأن هذه الإضافات قامت بخفض النترت المتبقي إلى نسبة تصل إلى 57%، وفي حين لم تعزل أي ميكروبات من تلك المحبة للبرودة أو مجموعة *Enterobacteriaceae* وكان التعداد الميكروبي للعينات المعبأة في عبوات مفرغة من الهواء اقل من التعبئة العادية. وأوصت الدراسة بإستخدام مثل هذه الزيوت في صناعة المرتديلا (Martos et. al., 2010).

غلقت أحد أنواع المرتديلا بطبقة من الشيتوزان Chitosan - أحد أنواع الكربوهيدرات الصحية- المحتوي على زيت نبات الزعرية الإيراني *Zataria multiflora* و/أو مستخلص بذور العنب بهدف دراسة أثرها على الصفات الكيميائية والميكروبيولوجية خلال التخزين المبرد لمدة 21 يوم. أظهر مستخلص الزعرية أثرا أقوى ضد البكتيريا من مستخلص العنب، في حين أن خليطا من كليهما أظهر أثرا قويا ضد بكتيريا *Listeria monocytogenes* حيث اختفت بعد 6 أيام من خزن المرتديلا. في المقابل خفّض الخليط أكسدة الدهون بمقدار 23% عن الشاهد خلال مدة الخزن، ومن هنا استدل الباحثون على أن إستخدام هذه الخلطات له أثر مباشر في إطالة مدة حفظ المرتديلا (Moradi et. al., 2011).

وبهدف إيجاد بدائل لدهن المرتديلا المرتفع، قام (Garcia et. al., 2006) بإضافة أحد أنواع الكربوهيدرات الخاصة والمسمى إينولين Inulin إلى المرتديلا الإسبانية ودراسة أثر ذلك على الصفات الحسية لها. خفض الدهن في خلطة المرتديلا من 23 إلى 10% بما يقلل الطاقة بنسبة 33% وأضيف الإينولين بنسب 2.5 و 5 و 7.5% من المنتج النهائي على شكل جلي ومسحوق. أدى إضافة الإينولين إلى زيادة صلابة المنتج النهائي حتى مع أقل التراكيز، ولكن القوام كان مقبولا في حال إضافة الإينولين كجلي وليس مسحوق حتى مع أعلى التراكيز، وهنا حقق المنتج قبولاً جيداً لدى المقيمين عند استخدام اختبار Hedonic scale الحسي.

بهدف زيادة تقبل المرتديلا الألمانية Bologna وتقليل المحاذير الصحية من تناولها بصفتها غذاء عالي الدهن، أجري بحث باستبدال الدهن بجلي الإينولين المجمد بنسب من 3 إلى 12% من وزن الخلطة النهائية وبالتالي خفض الطاقة إلى 47.5%. أجريت اختبارات ميكروبية وحسية وكيميائية على شرائح المنتج النهائي المعبأة في عبوات معدلة ومبردة لمدة 23 يوم. زادت صلابة المنتج النهائي وأصبح اللون داكناً أكثر مع زيادة الإينولين، وتم معالجة ذلك باستبدال فوسفات الصوديوم بستررات الصوديوم وكانت النتيجة فعالة بالحصول على منتج انخفضت فيه الطاقة بنسبة 22% دون تأثر الصفات الحسية الكيميائية والجراثومية خلال التخزين عند استخدام 6% من الإينولين مع السترات (Nowak et. al., 2007).

قيمت صفات الجودة لخمس أنواع من المرتديلا المعلبة (اللانшон) الأردنية تختلف في طبيعة المواد الخام المستخدمة في التصنيع، حيث وجد تباين ملحوظ بين هذه الأنواع رغم أن جميعها كانت مطابقة للمواصفات القياسية. لم تسجل فروق معنوية في التحليل القياسي لأنواع المرتديلا المختلفة في حين إرتفعت قيم TBA بارتفاع نسب لحم الدجاج المنزوع ميكانيكياً ضمن المادة الخام (Mechanical Deboned Meat MDM)، وكان أفضل تقبل للون والعصيرية للمرتديلا المحتوية على لحم قلب البقر، في حين أن أفضل تقييم حسي كان للمرتديلا المصنعة من لحوم النوعية العالية ك لحم الكتف والقص (الظهر) (Abdullah, 2007).

لم يغلب العامل الإقتصادي عن البحوث العلمية، وبهدف تقليل الكلفة استخدمت ألياف رخيصة صحية للبندورة والشمندر بالإضافة للإينولين في صناعات مختلفة لمنتجات الدواجن المطبوخة. كانت النتائج المميزة لإضافة ألياف البندورة الشمندر في تخفيض الرقم الهيدروجيني وزيادة إمتصاص الماء وصلابة المنتج النهائي وقللت أكسدة الدهون في حين أن الإينولين زاد من قيم TBA الذي يعد أحد أهم مؤشرات الأكسدة في منتجات اللحوم. وكانت ألياف البندورة هي الأكثر تميزا في الصفات السابقة من ألياف الشمندر بالإضافة لإفرادها بتقليل فاقد الخلطة وتعزيز اللون الأحمر للمنتج النهائي (Cava et. al., 2012). وذهب بحث آخر لإستخدام ألياف نوعين من العنب المتحصل عليها كنواتج ثانوية لصناعة النبيذ في منتجات الدواجن المصنعة واستخدامها كمضادات أكسدة طبيعية، حيث أظهرت الدراسة قدرة هذه الألياف على العمل كمضادات أكسدة توازي قدرة مادة BHT الصناعية عند الإستخدام بمقدار 40 إلى 60 ملغم (Shirahigue et. al., 2010).

في بحثين منفصلين إستخدم نبات الميرمية ومستخلصاته في حفظ منتجات اللحوم، إستخدم في الأول الميرمية والثوم بإضافتهما إلى لحم الدجاج المجمد بهدف تقييم أثرهما عليه أثناء الخزن والمعاملة الحرارية. أظهرت نتائج هذا البحث فعالية الميرمية كمضاد أكسدة فعال في خفض أكسدة الدهون والكولسترول بدرجات عالية خاصة عند إستخدام 100 ملغرام / 100 غ لحم دجاج حتى عند المعاملة الحرارية للحم المعد، في حين لم تكن نتائج الثوم في هذا المجال واضحة أو مؤثرة (Mariutti et. al., 2011). واستخدم في البحث الثاني مستخلص الميرمية لوحده وكخليط مع أيزوسوربات الصوديوم في حفظ كرات لحم الحبش المبردة المفرغة من الهواء. وبعد خزن المنتج على 3°س لمدة 15 يوم تبين من خلال النتائج فعالية الميرمية الميكروبية والحسية، ولكن الفعالية الأكبر كانت لخليط مستخلص الميرمية مع أيزوسوربات الصوديوم الذي عمل على تخفيض الرقم الهيدروجيني والنشاط المائي، في حين أن التعداد العام للبكتيريا وعدد بكتيريا الكوليفورم إنخفض أيضا، ورغم ذلك ورغم تحسين الخليط للمظهر العام إلا أن الخليط كان أقل قبولا لدى المستهلك بسبب الطعم المر للميرمية (Tymoszczyk, 2007).

وفي دراستين إستخدام فيهما زيت إكليل الجبل، أضيف في الدراسة الأولى إلى لحم البرغر البقري هُتَ بخلطه مع فيتامين "هـ" E أثرا مضادا للأكسدة يعادل مضادات الأكسدة الصناعية خاصة عند تعبئة البرغر في عبوات معدلة بإستخدام غازي CO_2 و N_2 (Nuala *et. al.*, 2007). بينما منع إضافة زيت إكليل الجبل في الدراسة الثانية تأكسد البروتين في منتج الفرانكفورتر القريب من المرتديلا عند إضافته بمقدار 300 و 600 جزء بالمليون، بالإضافة لتحسين العديد من صفات الجودة كالقوام والعصيرية وتقليل الصلابة (Esteves *et. al.*, 2007).

المواد والطرائق البحثية

Materials and Methods

لا بد قبل الخوض في مواد وطرائق البحث من شرح مختصر لطبيعة العمل ليسهل متابعته سواء في هذا الفصل، أو في فصل النتائج والمناقشة الذي يليه. لغاية تحقيق أهداف البحث فقد أجريت الدراسة على خمس مراحل، تعد كل مرحلة عملاً مستقلاً كاملاً تم الحصول على نتائجه التي استخدمت كمعطيات أولية للمرحلة التي تليها.

بدأت المرحلة الأولى بعزل وتشخيص الكائنات الحية الدقيقة السائدة والمسببة لفساد شرائح المرتديلا الأردنية المقطعة في الأسواق التجارية، ومن ثم تحضير عزلات نقية منها لإستخدامها في المرحلة الثانية التي تضمنت دراسة أثر التضاد بين هذه الميكروبات والمستخلصات المائية المختلفة للنباتات العطرية المدروسة. وبناء على نتائج هذه المرحلة استخدمت المستخلصات المختارة في مرحلة العمل الثالثة على شرائح المرتديلا ذاتها لإختيار أفضلها من حيث الحفاظ على شرائح المرتديلا وجودتها. عندها ومن خلال نتائج هذه المرحلة تم الانتقال للمرحلة الرابعة لإختيار المستخلص النهائي، ومن خلاله أجريت تجارب المرحلة الخامسة بالتطبيق العملي على خلطة مصنعية واختبارها. وكانت حصيلة العمل هي حصيلة نتائج جميع المراحل التي أنجزت في مخابر قسم علوم الأغذية في كلية الزراعة / جامعة دمشق وفي مخابر الأغذية التابعة للمؤسسة العامة للغذاء والدواء الأردنية.

1. المرحلة الأولى: عزل وتشخيص الأحياء الدقيقة السائدة والمسببة لفساد شرائح المرتديلا الأردنية.

1 . 1: إختيار وتحضير العينات:

حضرت ست عينات من المرتديلا من ثلاث أنواع واسعة الإنتشار، والمستهلكة في السوق الأردنية مصنعة بدون إضافات عشبية Herbs والمعروفة في الأردن بإسم (مرتديلا سادة). جمعت من ثلاث محال مختلفة. قطعت إلى شرائح بسمك (0,25 سم). العينات (1 إلى 3) قطعت في المحلات التجارية الثلاث، بينما العينات (4 إلى 6) قطعت في المخبر والجدول (2) يوضح تفاصيل العينات الستة.

جدول (2) : وصف عينات المرتديلا من حيث النوع والمكونات ومستوى نظافة مكان التحضير

الرقم	رمز الماركة	وزن العبوة (غ)	تاريخ الإنتاج	تاريخ الإنتهاء	مستوى النظافة
1	أ	850	2009/8/26	2012/8/26	دون الجيد
2	ب	1000	2010/3/9	2010/7/8	جيد
3	ت	1000	2010/3/13	2010/7/12	جيد جدا
4	أ	850	2009/8/26	2012/8/26	حضرت العينات
5	ب	1000	2010/3/9	2010/7/8	الثلاث في المخبر
6	ت	1000	2010/3/13	2010/7/12	في ظروف معقمة

*حيث العينة رقم 1 و 4 لانشون سادة معلبة مصنوعة من لحم البقر والدواجن

*حيث العينات 2 و 3 و 5 و 6 مرتديلا سادة مصنوعة من لحم البقر والدواجن مبردة ومعبأة في غلاف صناعي

1 . 2 : إختبار تحديد مصادر الميكروبات السائدة أو المسببة للفساد:

1 . 2 . 1 : إختبار براد خزن العينات كمصدر محتمل للميكروبات:

أخذت عشر مسحات من أماكن مختلفة من البراد الذي حفظت فيه العينات قبل عملية الحفظ بإتباع طريقة (Swab Contact Method (SCM) (ISO 18593, 2004) بواقع 10سم² لكل مسحة، وحفظت المسحات في 10 مل من بيئة الببتون المعقمة السائلة Pepton Water Broth (PW) لعمل التعداد العام للبكتيريا وعد الفطور والخمائر وإختبار الكشف عن بكتيريا *Pseudomonas spp.* لها بالطرائق المبينة تاليا.

1 . 2 . 2 : إختبار أنواع المرتديلات الثلاث كمصدر محتمل للميكروبات:

تم إختبار عينات المرتديلا 4 إلى 6 بعد تقطيعها مباشرة ضمن ظروف المخبر المسيطر عليها والمعبأة في عبوات بلاستيكية معقمة نوع (Seward . U.K.) بعمل التعداد العام للبكتيريا وعد الفطور والخمائر لها.

1 . 2 . 3 : طريقة عمل التعداد الكلي للبكتيريا وعد الفطور والخمائر للبراد والمرتديلا:

1 . 2 . 3 . 1 : تحضير التخفيفات المطلوبة:

حضرت التخفيفات بإتباع طريقة (ISO 6887.2, 2003) بوزن 25 غ من عينات المرتديلا في أكياس (Seward . U.K.)، وأضيف لها 225 مل من بيئة Buffer Peptone Water (BPW) المعقمة والتريك جيدا لتحضير التخفيف الأول (10⁻¹). نقل 1 مل من

التخفيف الأول إلى أنبوب يحتوي 9 مل PW للحصول على التخفيف الثاني (10^{-2}) فالثالث وهكذا. حضرت من المرتديلا ست تخافيف متسلسلة. أما تخافيف المسحات فإن وضع المسحات التي تمثل 10 سم² في 10 مل من بيئة PW يمثل واقعا التخفيف الأول (1سم² / مل)، ومنه تم نقل 1 مل إلى الأنابيب المتتالية لعمل التخفيفات المختلفة وقد أعدت أربع تخفيفات من المسحات.

1 . 2 . 3 : إختبار التعداد العام للبكتيريا:

أجري الإختبار بالإعتماد على المواصفة الدولية (ISO 4833, 2003) بنقل 1مل من كل تخفيف من التخفيفات الست للمرتديلا و التخفيفات الأربع للمسحات إلى طبق بتري. تم صب بيئة التعداد الكلي (Plate Count Agar (PCA إلى الأطباق بمعدل 15 مل تقريبا لكل طبق بعد تبريدها إلى حوالي 50 °س. حركت الأطباق أصولا وتركت لتتصلب. حضنت على درجة حرارة 35°س لمدة 48 ساعة وقراءة النتائج. تم عمل ثلاث مكررات من كل تخفيف لتأكيد النتيجة.

1 . 2 . 3 : إختبار تعداد الفطور والخمائر:

أجري الإختبار بالإعتماد على المواصفة الدولية (ISO 6611, 2004) بنقل 1مل من تخفيفات المرتديلا والمسحات إلى 3 أطباق بتري يحتوي كل منها على بيئة Dichloran Rose Bengal agar (DRBC) محضرة مسبقا بواقع 0.3 و 0.3 و 0.4 مل لكل طبق. نشرت التخفيفات على أطباق DRBC وتركت ليتشربها، وحضنت على درجة حرارة 25°س لمدة 72 ساعة وقرئت النتائج. تم عمل ثلاث مكررات من كل تخفيف لتأكيد النتيجة والتثبت منها.

1 . 3 : حفظ العينات في البراد ومراقبة مظاهر الفساد:

حفظت العينات الست في البراد عند درجة 4 - 6 °س، وتم مراقبة صفاتها الحسية من حيث اللون والرائحة واللزوجة والجفاف وأي نموات ميكروبية خاصة الفطور على السطح. أخرجت العينات من البراد بعد 7 أيام وقيمت ووصفت جميع صفاتها الحسية والظاهرية. بما في ذلك أشكال النموات الفطرية في العينات الفاسدة. وصفت مظاهر الفساد من حيث اللون والقوام والرائحة ووجود الفطريات وأي مظاهر غير طبيعية ناتجة (Thawatchai and Arunee, 2007).

1 . 4: التشخيص الأولي لنموات الأحياء الدقيقة:

للنموات الفطرية الظاهرة على شكل فطور أو كتل مخاطية أو حبوب جافة ونصف جافة على سطح العينات الفاسدة (العينات 1 إلى 3 فقط) تم عمل شريحة مجهرية، وشخصت الفطريات بطريقة التحميل بالنشر بواسطة اللاكتوفينول (Fischer and Dott, 2002)، ومن ثم نشطت الفطور النقية على بيئة DRBC وحفظت مبردة مع التنشيط المستمر من طبق لآخر كل أسبوع ولحين الإستخدام في المرحلة التالية. بينما عزلت مستعمرات الخميرة بعد تشخيصها مجهريا على بيئة DRBC. شخصت المستعمرات النقية للخميرة بإستخدام نظام API 20 C AUX (Perera *et. al.*, 2004) حفظت المستعمرات النقية كما ورد في الفطور أعلاه.

1 . 5: عزل وتشخيص البكتيريا الموجودة في شرائح المرتديلا الفاسدة:

أجري ثلاث عشر اختبارا وتحليلا ميكروبيا مختلفا للعينات الفاسدة الثلاث (1 إلى 3 فقط)، لتشخيص البكتيريا المحتمل وجودها في هذه الشرائح من المرتديلا، حيث أجريت جميع الزراعات المطلوبة للاختبارات المختلفة في نفس اليوم وتم متابعتها حسب متطلبات مخططات العزل التي امتدت من يوم واحد (24 ساعة) كالبكتيريا المحللة للبروتين إلى 10 أيام كما في عزل بكتيريا *E.coli*. وخلال تلك المدة عزلت المستعمرات النامية على بيئة Nutrient agar أولا بأول واحتفظ بها في البراد، أما الإختبارات فهي كما يلي:

1 . 5 . 1: إختبار التعداد العام للبكتيريا:

أجري إختبار التعداد الكلي للبكتيريا بنفس الطريقة الواردة في (1 . 2 . 3) أعلاه وبإستخدام التخفيفات لغاية التخفيف السادس (ISO 4833, 2003).

1 . 5 . 2: إختبار بكتيريا *Enterobacteriaceae*:

إستخدمت تقنية Most Probable Number بالاعتماد على المواصفة الدولية الأيزو (ISO 4831, 2006) لتخافيف 10^{-2} ، 10^{-3} ، 10^{-4} بإستخدام بيئة (BPW) للتخفيف الأول

و(PW) للتخافيف التالية. نقل 3 مل من كل تخفيف لثلاث أنابيب تحوي 9 مل من بيئة Laurayl treptose broth (LTB) المتضمنة أنبوب درهم. حضنت الأنابيب على 37°س / 48 ساعة. زرع من الأنابيب الموجبة المحتوية على غاز وعكارة لقاحة على Loop على بيئة Violate Red Bile Agar (VRBA) التي حضنت بدورها على 37°س / 24 ساعة وتم الاحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الاختبارات الأخرى.

1 . 5 . 3: إختبار بكتيريا الكوليفورم و*E.coli*:

يعد إختبار الكوليفورم وعزل بكتيريا *E.coli* خطوة مكملية لإختبار بكتيريا مجموعة *Enterobacteriaceae*. لذلك وبالإعتماد على نفس الطريقة (ISO 4831, 2006) نقل جزء من محتوى أنابيب LTB الموجبة في الإختبار السابق إلى أنابيب بيئة Brilliant green bile (BG) broth المحتوية على أنبوب درهم وحضنت على 37°س / 48 ساعة. زرع من الأنابيب الموجبة المحتوية على غاز وعكارة لقاحة Loop على بيئة Violate Red Bile Agar (VRBA) التي حضنت بدورها على 37°س / 24 ساعة وتم الاحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى.

أما بكتيريا *E.coli* فقد استكملت خطوات عزلها بزراعة الأنابيب الموجبة من بيئة LTB على أنابيب بيئة EC broth المحتوية أنابيب درهم أيضاً، وحضنت في حمام مائي على 44.2°س / 48 ساعة. زرع من الأنابيب الموجبة المحتوية على غاز وعكارة لقاحة Loop على بيئة Eosin Methylene Blue Agar (EMB) التي حضنت بدورها على 37°س / 24 ساعة وتم الاحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى.

1 . 5 . 4: إختبار بكتيريا *E.coli O157: H7* الممرضة:

لعزل بكتيريا *E.coli O157:H7* إستخدمت بيئة Modified Tryptone Soya (TSB) Broth للتنشيط الأولي على 41.5°س / 24 ساعة بعدها زرعت على أطباق معدة

مسبقا من بيئة CT-SMAC التي حضنت بدورها على 37°س / 24 ساعة، وتم الاحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى (ISO 16654, 2001).

1 . 5 . 5: إختبار بكتيريا *Campylobacter spp.*

لعزل بكتيريا *Campylobacter spp.* إستخدمت بيئة Bolton broth للتنشيط الأولي على 37°س / 4 ساعات ثم على 41.5°س / 44 ساعة. تم التنشيط الأولي (الإغناء) في ظروف لاهوائية معدلة بإستخدام وعاء لاهوائي ونظام Gas Generating Kits for *Campylobacter* (GGKC-BR0056A). زرعت البيئة بعد التنشيط على أطباق معدة مسبقا من بيئتي mCCD agar و Columbia blood agar التي حضنت بدورها على 41.5°س / 48 ساعة في ظروف لاهوائية معدلة بإستخدام وعاء لا هوائي ونظام (GGKC-BR0056A)، وتم الاحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى (ISO10272-1, 2006).

1 . 5 . 6: إختبار بكتيريا *Proteolytic Bacteria*

تم إختبار البكتيريا المحللة للبروتين بإستخدام بيئة Soft Gelatin agar وزراعة لقاحه من التخفيف الأول عليها والحضن على 37°س / 24 ساعة وملاحظة المستعمرات النامية ومدى قدرتها على تحليل البروتين الموجود في البيئة (American P.H.A., 1984)، وتم الإحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى.

1 . 5 . 7: إختبار بكتيريا *Clostridium perfringens*

إعتمد في عزل بكتيريا *Cl. perfringens* على الطريقة الدولية (ISO 7937, 2004) بنقل 1 مل من ثلاث مكررات من التخفيفات 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} إلى أطباق بتري الفارغة وصب بيئة (SC) Sulfite Cycloserine agar عليها وتركها لتتصلب ومن ثم صب طبقة ثانية من نفس البيئة عليها، والحضن 37°س / 24 ساعة في ظروف لاهوائية بإستخدام وعاء لا هوائي و النظام اللاهوائي Anairobic Kit. وتم الاحتفاظ بأطباقها مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى.

1 . 5 . 8: إختبار بكتيريا *Bacillus cereus*:

تم إختبار بكتيريا *Bacillus cereus* بنشر 1 مل من ثلاث مكررات من التخفيفات 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} إلى أطباق بتري المحتوية بيئة Mannitol-Egg-yolk-Polymyxine-Agar (MYP)، والحضن على 30°C / 24 ساعة، والإحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى (ISO 7932, 2004).

1 . 5 . 9: إختبار بكتيريا *Pseudomonas spp.*:

تم إختبار بكتيريا *Pseudomonas spp.* بنشر 1 مل من ثلاث مكررات من التخفيفات 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} إلى أطباق بتري المحتوية بيئة Cetrimide Fucidin Cephalosporin Agar (CFC)، والحضن على 37°C / 24 ساعة، والإحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى (Jeppesen, 1995).

1 . 5 . 10: إختبار بكتيريا *Enterococcus faecalis*:

تم إختبار بكتيريا *Enterococcus faecalis* بنشر 1 مل من ثلاث مكررات من التخفيفات 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} إلى أطباق بتري المحتوية بيئة KF streptococcal agar، والحضن على 37°C / 24 ساعة، والإحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى (American P.H.A., 1984).

1 . 5 . 11: إختبار بكتيريا *Staphylococcus aureus*:

تم إختبار بكتيريا *Staphylococcus aureus* بنشر 1 مل من ثلاث مكررات من التخفيفات 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} إلى أطباق بتري المحتوية بيئة Baird-Parker agar، والحضن على 37°C / 48 ساعة، والإحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى (ISO 6888-1, 2003).

1 . 5 . 12: إختبار بكتيريا *Salmonella spp.*:

حضن التخفيف الأول الذي حضر بإستخدام بيئة (BPW) على 37°س / 24 ساعة لعمل الخطوة الأولى في عملية عزل السالمونيلا والتي تعرف بالتنشيط الأولي (الاغناء) Pre-enrichment، بعدها نقل ما يقرب من 1 مل من التخفيف الأول المنشط إلى بيئتي Selenite Cycstine Broth و Tetrathionate Brilliant Green Broth اللتان حضنتا على 37°س / 24 ساعة للتنشيط الإنتقائي. بعدها زرعت لقاحه منها على أطباق بيئتي Hektoen Enteric agar و XLD agar للعزل الإنتقائي بالحضن على 37°س / 24 ساعة أخرى (ISO 6579, 2002). والإحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى.

1 . 5 . 13: إختبار بكتيريا *Listeria spp.*:

أجري إختبار عزل بكتيريا *Listeria spp.* بالإعتماد على الطريقة القياسية الدولية (ISO 11290-1, 2004 و ISO 11290-2, 2004) وذلك بعمل تنشيط أولي بإستخدام بيئة Half Fraser broth التي حضنت على 30°س / 24 ساعة، والعزل على أطباق بيئتي Oxford agar و CHR agar الانتقائيتين بالحضن على 37°س / 24 ساعة أخرى. وتم أيضا الاحتفاظ بأطباقها لتشخيص المستعمرات النامية مع بقية نتائج الإختبارات الأخرى.

1 . 6: البيئات والأجهزة والأدوات المستخدمة في الإختبارات السابقة:

لإجراء إختبارات العزل السابقة تم إستخدام العديد من البيئات ضمن مخططات التحليل المختلفة وهي من إنتاج شركات Oxoid الأمريكية و LAB الإنجليزية و HIMEDIA الهندية و CONDA الإسبانية، بشكل أساسي. إستخدمت الأنظمة اللاهوائية Anaerobic Kits على شكل مغلفات خاصة تحضر بفتحها وإضافة الماء لها ووضعها مع العينات المستهدفة في الأوعية اللاهوائية داخل الحاضنات وهي من إنتاج شركة Oxoid، كما إستخدمت حاضنات نوع Memmert الألمانية ومعقم عامودي (LAB.Tech) الكوري و (Raypa) الإسباني، بالإضافة والزجاجيات المختلفة من دوارق وأنابيب وبيشرات وغيرها.

1 . 7: عزل المستعمرات المختلفة على أطباق بيئة Nutrient Agar:

عزلت جميع المستعمرات المختلفة من جميع الأطباق الحاوية على نموات بكتيرية وعددها سبع وستون عزلة بشكل مستقل إلى بيئة Nutrient agar، وأعطيت أرقام متسلسلة (1،2،...) وثبتت صفاتها ومصدرها. تم العزل باستخدام إبرة التلقيح إلى أطباق بيئة Nutrient agar المعدة مسبقا والحضن على 37°س / 24 - 48 ساعة. أخذت جميع الصفات المورفولوجية اللازمة للتفريق بين المستعمرات لتحديد اختلافها عن بعضها البعض قبل زراعتها (FDA, 2003).

1 . 8: صبغة غرام Gram's Stain:

أجري التصبغ المجهرى لجميع العزلات السبلعة والسنتين. اتبعت خطوات التصبغ بصبغة غرام بمزج مستعمرة من طبق بيئة Nutrient agar على الشريحة الزجاجية مع قطرة من ماء مقطر معقم، ونشرها بشكل جيد على الشريحة، ثم القيام بعملية التجفيف فوق مسافة مناسبة من لهب بنسن، فالتثبيت بتمرير الشريحة ثلاث مرات سريعة على اللهب. أضيفت للشريحة صبغة Crystal Violet لمدة دقيقة واحدة غسلت بعد بتيار ماء خفيف، فمحلول اليود المُنَبَّبُ لدقيقة أخرى فالغسل، فالكحول الإيثيلي 70% لنصف دقيقة، والانتهاء بصبغة السفرانين لدقيقة أخيرة، غسلت بعدها الشريحة وجففت بورق ترشيح واختبرت تحت المجهر (Abbas et. al., 2012).

1 . 9: تشخيص المستعمرات:

1 . 9 . 1: تشخيص المستعمرات المحتملة كبكتيريا *Listeria spp.*:

إستخدم نظام Oxoid Microbact 12A *Listeria* identification System من Oxoid، الذي يحتوي على 2 إختبار تشخيصيا تترجم نتائج الموجبة والسالبة على شكل رقم من أربع خانات يتم قراءته من خلال برنامج محوسب مرتبط بالنظام يعطي نوع البكتيريا وحتماليتها. والمستعمرات التي تم تشخيصها هي تلك التي نمت بالأساس على الأطباق الانتقائية لعزل هذه البكتيريا وهي بيئتي Oxford agar و CHR agar (McLauchlin, 1997).

1 . 9 . 2: تشخيص المستعمرات المحتملة كبكتيريا *Campylobacter spp.*:

إستخدم طقم الكشف *Campylobacter Test Kit* من Oxoid، الذي يحتوي على ثلاث عبوات أحدها يعطي نتيجة إيجابية للمقارنة والإثتان الآخران يعطيان تفاعلا منتجا للتخثر عند مزج محتوياته على الشريحة الخاصة به للمستعمرات الموجبة. والمستعمرات التي تم تشخيصها هي تلك التي نمت بالأساس على الأطباق الإنتقائية لعزل هذه البكتيريا وهي بيئي mCCD agar و Columbia blood agar (Al-Akhras, 2010).

1 . 9 . 3: تشخيص المستعمرات المحتملة كبكتيريا *Enterococcus spp.*:

إستخدم طقم الكشف Oxoid Biochemical Identification System، الذي يحتوي على سبع عبوات أحدها كدليل للنتيجة الإيجابية والست الأخريات تمثل كواشف لتمييز مجموعات بكتيريا *Enterococcus* (A, B, C, D, F and G) بإتباع طريقة مزج المحتويات على الشريحة السداسية الخاصة به للمستعمرات المستهدفة، والتي تعطي نتيجة إيجابية بدورها على شكل تخثرات. والمستعمرات التي تم تشخيصها هي تلك التي نمت بالأساس على البيئة الإنتقائية لعزل هذه البكتيريا KF streptococcal agar (Stephen et.al., 2006).

1 . 9 . 4: تشخيص بقية المستعمرات السالبة لصبغة غرام:

أجري للبكتيريا السالبة لصبغة غرام إختبار Oxidase test بإستخدام شرائح محتوية على كاشف لوني يتغير في حال الفحص الإيجابي من عديم اللون إلى اللون الأزرق أو البنفسجي. إستخدم نظام Microbact 12A Gram-negative identification System للتشخيص النهائي للمستعمرات النقية. يتضمن النظام 12 إختبارا تشخيصيا تترجم نتائجه الموجبة والسالبة على شكل رقم من أربع خانوات يتم قراءته من خلال برنامج محوسب مرتبط بالنظام يعطي نوع البكتيريا وإحتماليتها (Becker et. al., 2009).

1 . 9 . 5: تشخيص بقية المستعمرات الموجبة لصبغة غرام:

شخصت البكتيريا الموجبة لصبغة غرام بإستخدام نظام تشخيص شركة BD الأمريكية المعروف باسم BBL CRYSTAL Gram-Positive Identification system للتشخيص النهائي للمستعمرات النقية. يتضمن النظام ثلاثون اختباراً تشخيصياً، ويحتاج لدقة وحذر أكثر من غيره كما يحتاج لقراءة بعض نتائجه تحت الأشعة فوق البنفسجية لملاحظة الفلورة Fluorescence. تترجم نتائجه الموجبة والسالبة على شكل رقم من عشر خانات يتم قراءته من خلال برنامج محوسب مرتبط بالنظام يعطي نوع البكتيريا واحتماليتها (Balows *et. al.*, 1991).

1 . 10: الإحتفاظ بالمستعمرات بعد التشخيص:

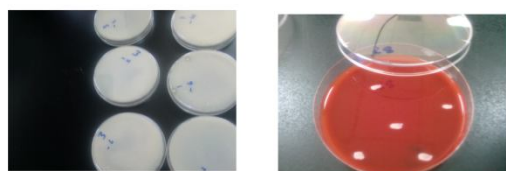
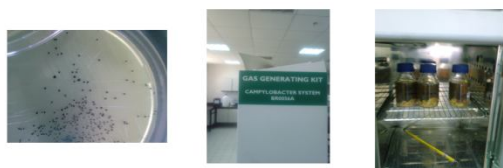
زرعت المستعمرات التي تم تشخيصها على أطباق وأنابيب تحتوي بيئة Nutrient agar وتجديدها باستمرار، كما تم الإحتفاظ بجزء آخر منها بالتجميد على -80°س بإستخدام الجليسرول. حيث تم إستخدام مستعمرات منشطة في المرحلة الثانية من العمل.

1 . 11: توثيق عمليات العزل والتشخيص:

يبين الشكل (1) صوراً لبعض مراحل عملية عزل الميكروبات من العينات المختلفة، التي تضمنت كما ورد عمل العديد من الإختبارات بأحدث الطرائق العلمية المتوفرة، كما يبين الشكل (2) صوراً لبعض مراحل عملية التشخيص التي بدأت بصبغة غرام وانتهت بإستخدام أنظمة التشخيص المختلفة.



المرتديلا قبل عزل الميكروبات منها



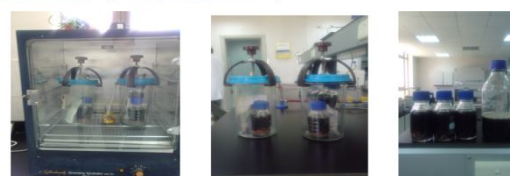
تنشيط اللستيريا وعزل مستعمرات أخرى



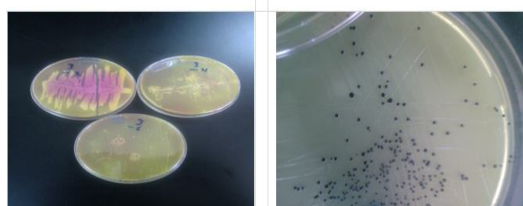
بيئة BG لعزل وتشخيص الكوليفورم



المرتديلات المستخدمة في الدراسة

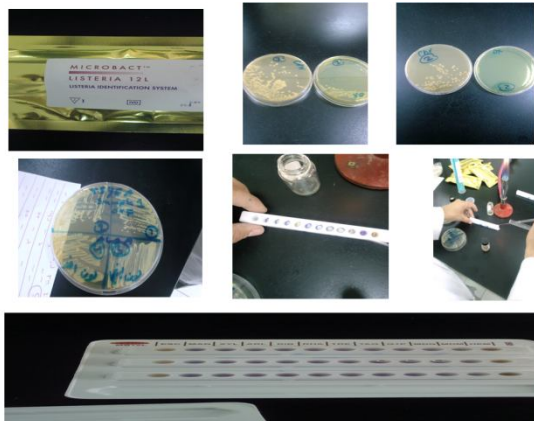


تحضير بعض التخفيفات والحضن اللاهوائي



عزلات مختلفة

شكل (1): صور لبعض مراحل عمليات عزل الميكروبات المختلفة



تشخيص اللستيريا



تشخيص بكتيريا كاميلوباكتر



تشخيص البكتيريا السالبة لصبغة غرام



أول مراحل التشخيص بعمل صبغة غرام



تشخيص الانتيروكوكس



تشخيص البكتيريا الموجبة لصبغة غرام

شكل (2): صور لبعض مراحل التشخيص للميكروبات المختلفة

2. المرحلة الثانية: تأثير المستخلصات المائية للنباتات العطرية المائية المدروسة على الأحياء الدقيقة المعزولة:

2 . 1: إختيار وتحضير النباتات:

إستخدمت النباتات العطرية بصورتها الجافة حيث تم شراء نوعيات جيدة من السوق المحلي تمتاز بلون طبيعي ولا تحتوي شوائب غريبة وتحتوي في أجزائها النباتية على المادة الفعالة. شملت النباتات الأجزاء الهوائية من إكليل الجبل Rosemary والمريمية Sage والزعتر thyme، وعودان القرفة Cinnamon وثمار جوزة الطيب Nutmeg وريزومات الزنجبيل Ginger، وثمار كل من الكزبرة Coriander والكمون Cumin والكراوية Caraway وثمار الفلفل الأسود Black pepper التي تسمى أحيانا بثمار الفلفل. جميع النباتات جافة غير مطحونة حفظت في أكياس محكمة الإغلاق لحين الإستخدام. تم شراء كميات كافية للدراسة من كل عشبة وعلى دفعة واحدة (Said et. al., 2002).

2 . 2: تحضير المستخلصات المائية للنباتات:

حضرت مستخلصات النباتات العطرية حسب الخطوات التالية:

1. وزن 10 غم من كل نبات على حده (بإستخدام ميزان حساس نوع Sartorius صناعة كندية). جميع النباتات وزنت كما هي عدا ثمار جوزة الطيب فقد تم تهشيمها لتصبح قطع خشنة كبيرة الحجم، وكذلك فقد تم تكسير عودان القرفة جزئيا لتتاسب عملية النقع.

2. وضع 100 مل من ماء الشرب الاعتيادي في بيشر حجم 500 مل، وتسخينه بإستخدام سخان مخبري (IKA ألماني) حتى الغليان.

3. إضافة العينة النباتية المراد تحضيرها إلى الماء الساخن وتحريكها جيدا وتغطيتها لمدة 15 دقيقة.

4. تصفية المستخلص المائي من البيشر بإستخدام شاش مخبري.

5. تصفية المستخلص المائي من الشوائب العالقة إلى زجاجة Duran نظيفة باستخدام ورق ترشيح Whatman No1 مباشرة أو باستخدام الترشيح تحت التفريغ إذا اقتضت الحاجة كما في حالة الزعتر والقرفة، باستخدام جهاز الترشيح تحت التفريغ (Theivendran *et al*, 2006) (Said *et. al.*, 2002).

2 . 3: تعقيم المستخلصات المائية للنباتات العطرية:

عقمت المستخلصات المائية للنباتات باستخدام جهاز الترشيح تحت التفريغ Vacuum Filtration Unit (موديل JE- DY- I شنغهاي) باستخدام أوراق الترشيح الميكروبية Membrane filter Papers (0.45 ميكرومتر) نوع سيلولوز _ نيتريت ماركة Sartorius stedim الألمانية (Reddy *et. al.*, 2005). يتكون الجهاز من دورق زجاجي مزود بفوهة جانبية يمتد من خلالها أنبوب بلاستيكي إلى المضخة التي تعمل على سحب الهواء من الدورق لعمل التفريغ. تثبت على فوهة الدورق قطعتين زجاجيتين يغلقان فوهة الدورق بإحكام يتخللهما ورقة الترشيح الميكروبية. يعمل الجهاز بصب السائل من خلال القطعة الزجاجية الأسطوانية العلوية فيمر عبر ورقة الترشيح حصرا إلى الدورق. تم تعقيم الأجزاء الزجاجية على 170°م / ساعتين في فرن Memmert صناعة ألمانية (Kiss, 1984). حفظت المستخلصات المائية على درجة حرارة 20 °م في زجاجات Duran الألمانية المعقمة لحين الاستخدام (Theivendran *et al*, 2006).

2 . 4: إختبار التأكد من تعقيم مستخلصات النباتات المائية:

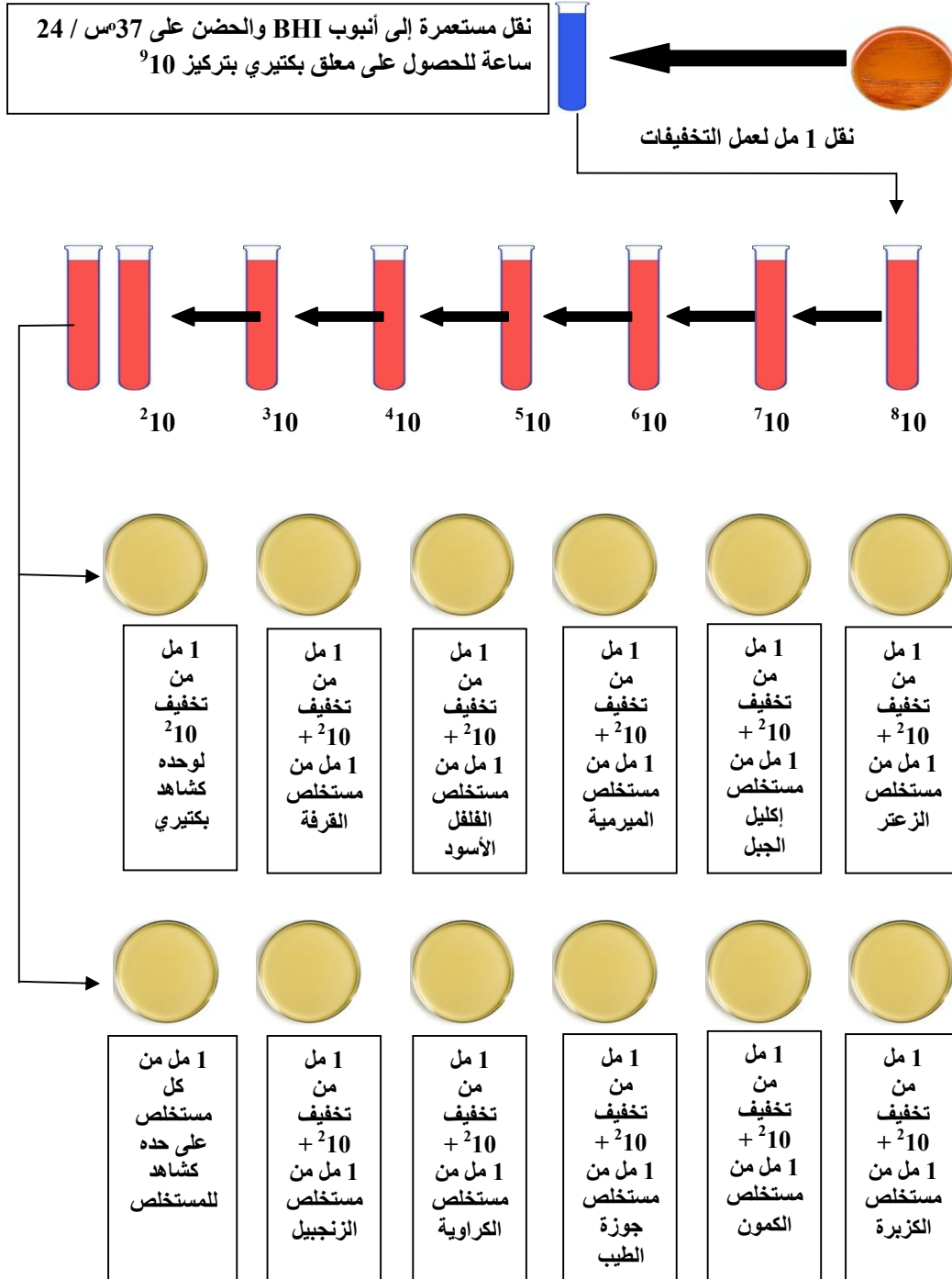
أجري إختبار التأكد من تعقيم المستخلصات المائية بإجراء التعداد الكلي للبكتيريا. أضيف 3 مل من كل مستخلص مائي بعد التعقيم لثلاث أطباق بتري فارغة (1 مل/ طبق). وأضيف عليها بيئة Plate count agar (PCA) وحضنت الأطباق على 37°س / 48 ساعة. النتيجة السلبية تثبت تعقيم هذه المستخلصات (ISO 4833, 2003). كررت العملية عند إجراء أي تجربة لاحقة بعمل شاهد من كل مستخلص مائي للتأكد من تعقيمه وعدم تلوثه بنفس الطريقة.

2 . 5: تحضير المستنبتات الميكروبية لغاية عمل التضاد الميكروبي:

نقلت المستعمرات البكتيرية والفطرية من الأطباق الخاصة بها وهي نشطة إلى أنابيب تحوي 9 مل من بيئة Brain Hart Infusion broth (BHI). حضنت الأنابيب على درجة 37°س لمدة 24 ساعة بالنسبة للبكتيريا و 25°س لمدة 72 ساعة بالنسبة للفطور والخميرة لنحصل على نموات ميكروبية نشطة بتركيز 10^9 خلية / مل (Oussalah *et al.*, 2006). إستخدمت هذه الأنابيب في عمل التخفيفات اللازمة لعمل التضاد الميكروبي. حددت التخفيفات المناسبة بالتجربة المباشرة والتكرار بحيث تساوي أو تزيد عن التثبيط الكامل (Minimum Inhibitory Concentration (MIC وتقل عن أقصى تركيز محتمل (Maximal Tolerated Concentration MTC).

2 . 6: إختبار التضاد الميكروبي:

أجري إختبار التضاد الميكروبي بداية بعمل تخفيف للأحياء الدقيقة (وعدها سبعة عشر منها 14 بكتيريا وفطرين وخميرة واحدة) من تخفيف 10^9 وصولا لتخفيف 10^2 بإستخدام أنابيب تحتوي 9 مل من بيئة BHI broth. أضيف 1 مل من تخفيف 10^2 من كل بكتيريا وفطر وخميرة إلى أحد عشر طبق بتري فارغة (1 مل / طبق)، أضيف لكل طبق من الأطباق العشرة 1 مل من كل مستخلص بينما ترك الطبق الحادي عشر يحتوي على الميكروب فقط، وتم ذلك بعمل ثلاثة مكررات لكل ميكروب مع كل مستخلص مائي. أضيف 1 مل من كل مستخلص مائي إلى طبق بتري فارغ كشاهد للمستخلص نفسه. لعد البكتيريا تم إضافة بيئة Plate count agar (PCA) لأطباق عد البكتيريا وبيئة Dichloran Rose Bengal agar لعد الفطور والخميرة، وحضنت الأطباق الخاصة بالبكتيريا على درجة حرارة 37°س لمدة 48 ساعة بينما حضنت الأطباق الخاصة بالفطور والخميرة على 25°س لمدة 72 ساعة (Oussalah *et al.*, 2006) (Theivendran *et al.*, 2006). إستخدم في هذا الإختبار 600 طبق بتري وعملت المكررات الثلاث على مدار أسبوع. الشكل (3) يوضح مخططا لتضاد ميكروب واحد مع النباتات العشرة.



شكل (3): مخطط عمل التضاد الميكروبي لبكتيريا واحدة مع 10 مستخلصات عشبية

3. المرحلة الثالثة: دراسة أثر المستخلصات المائية لستة نباتات على صفات

الجودة لشرائح المرتديلا الأردنية:

تم إجراء هذه المرحلة على ست مستخلصات مائية وليس خمسة كما في مخطط البحث الأولي، وذلك بناء على نتائج المرحلة السابقة ومراعاة لدقة النتائج النهائية للدراسة. المستخلصات الست هي مستخلصات الزعتر، كليل الجبل والميرمية والفلل الأسود والقرقة والكزبرة.

3 . 1: إختيار المرتديلا وتقطيعها:

اختيرت العينة الثانية من عينات المرتديلات الثلاث المستخدمة في المرحلة الأولى وهي مرتديلا أردنية خالية من الإضافات العشبية والبهارات تعرف بالمرتديلا السادة. إستخدمت عبوات وزن 1 كغم وقطعت بسماكة 0.25 سم في محل يتصف بالنظافة الجيدة نسبيا وعبئت في عبوات البيع المباشر قبل نقلها للمخبروا إجراء التجارب عليها.

3 . 2: معاملة شرائح المرتديلا بالمستخلصات المائية (النقع):

في أكياس بلاستيكية معقمة أضيفت شرائح المرتديلا المقطعة إلى كمية مناسبة من المستخلص المائي. تم التحريك بهدوء لمدة دقيقة للتأكد من ملاصقة المستخلص المائي لكل السطح الخارجي لهذه الشرائح. تم تصفية الكيس من المستخلص المائي. نقلت الشرائح المعاملة بعد تصفيتها إلى ست أكياس بلاستيكية معقمة. أجريت عملية النقع لكل مستخلص مائي على حده. أعدت جميع العينات في نفس الوقت. حفظت جميع الأكياس في براد على درجة 4 إلى 6°س وأجريت الاختبارات بعد 0 و 3 و 7 و 10 و 15 يوم من الحفظ. عبئت شرائح من المرتديلا بدون إي معاملة بالمستخلصات كشاهد. أجري الاختبار الحسي في نفس اليوم.

3 . 3 إختبارات الجودة الميكروبية:

3 . 3 . 1: إعداد التخفيفات والتعداد العام للبكتيريا:

حضرت التخفيفات بإتباع طريقة (ISO 6887.2, 2003) بوزن 25 غ من عينات المرتديلا في أكياس (Seward . U.K.)، وأضيف لها 225 مل من بيئة Buffer Peptone

Water (BPW) المعقمة والتحرك جيدا لتحضير التخفيف الأول (10⁻¹). إستخدمت أنابيب تحتوي 9 مل من بيئة PW لعمل التخفيفات حتى التخفيف الخامس. أجري التعداد العام بإستخدام بيئة Plate Count Agar (PCA) وحضن الأطباق على 35°س لمدة 48 ساعة وكما ورد في المواصفة القياسية الدولية (ISO 4833, 2003).

3. 3. 2: عد الخمائر والفتور:

أجري الإختبار بإستخدام أطباق بيئة Dichloran Rose Bengal agar (DRBC) المعدة مسبقا، حيث تم نشر كل 1 مل من كل تخفيف على سطح 3 أطباق. والحضن على 25°س لمدة 72 ساعة (ISO 6611, 2004).

3. 3. 3: إختبار بكتيريا الكوليفورم:

أضيف إلى كل 1 مل من التخفيفات السابقة في طبق بتري بيئة Violate Red Bile Agar (VRBA) وتركنت لتتصلب ومن ثم أضيف طبقة رقيقة من نفس البيئة، بعدها حضنت الأطباق على 37°س / 24 ساعة. ومن ثم قراءة النتائج (FDA, 2003).

3. 3. 4: إختبار بكتيريا *Staphylococcus aureus*:

تم الإختبار بنشر 1 مل من كل تخفيف على 3 أطباق بتري المحتوية بيئة Baird-Parker agar، والحضن على 37°س / 48 ساعة (ISO 6888-1, 2003).

3. 4: بعض إختبارات مؤشرات الجودة الكيميائية:

3. 4. 1: إختبار حمض الثيوباربوتريك (TBA) كمؤشر لأكسدة الدهون:

أجري الإختبار كما يلي: (Cheah and Hasim, 2000) (Al-Zoubi, 2008):

1. وزن 10 غم من كل عينة داخل كيس الرجاج Stomacher Bag
2. إضافة 25 مل من محلول ثلاثي كلور حمض الخل (TCA) تركيز 20 % و 20 مل ماء مقطر دافئ

3. الخض بالرجاج Stomacher (موديل AES) لمدة 30 ثانية
 4. الفلتر على ورق ترشيح Whatman No1
 5. في أنابيب جافة أضيف إلى 2 مل من المادة الراشحة، 2 مل من حمض الثيوباريوتريك (TBA) 0.02 عياري (0.2 M) .
 6. الحضان على 22°س لمدة 20 ساعة
 7. قراءة الامتصاص للعينات على جهاز Spectrophotometer على طول موجة 532 نانوميتر .
 8. أخذ القراءات للعينات والشاهد الذي أعد بنفس الخطوات بدون احتوائه على عينات.
- 3 . 4 . 2: الرقم الهيدروجيني pH: (Kirk and Sawyer, 1991) (Alassaf, 2003).
- وزنت 10 غرامات من كل عينة وأضيف لها 100 مل من الماء المقطر ومزجت جيدا وقيس الرقم الهيدروجيني باستخدام جهاز موديل WPA الألماني.
- 3 . 4 . 3: تقدير الرطوبة:
- قدرت الرطوبة بتجفيف 10 غ من كل عينة على 102°م لمدة 18 ساعة باستخدام فرن نوع Memmert الألماني (AOAC, 2000).
- 3 . 5: المؤشرات الحسية والتقييم الحسي:
- أجري التقييم الحسي باستخدام إختبار Hedonic Scale وإعطاء كل صفة من الصفات الحسية 9 درجات. طلب من المقيمين وعددهم 12 وهم في الأساس مختصون في علوم الأغذية تقييم اللون والرائحة والقوام والطعم والتقييم العام من خلال نموذج أعد لهذه الغاية (ملحق رقم 1)، وأعطيت العينات أرقام متسلسلة دون الإشارة إلى أي معلومات عن طبيعة معاملتها سواء أكانت شاهدا أو معاملة بالمستخلصات الأخرى (Lawless and Heymann, 1999). أجرى التقييم

الحسي في اليوم الأول من المعاملة بالمستخلصات المائية. تم تقييم وتوثيق التغيرات الحسية المترافقة مع التغيرات الكيميائية والميكروبية من حيث اللون والرائحة والقوام وغيرها كل 5 أيام.

4. المرحلة الرابعة: مرحلة تحديد المستخلص الأمثل من حيث النوع والتركيز ودرجة حرارة المعاملة:

إستخدم في هذه المرحلة ثلاث مستخلصات مائية هي مستخلص الزعتر والكزبرة والقرفة. تم تحديد هذه المستخلصات بناء على نتائج المرحلة السابقة.

4 . 1: تحديد أفضل نوع مستخلص:

عوملت شرائح المرتديلا بسبع أنواع من المستخلصات شملت المستخلصات منفردة ومزيج لأكثر من نوع منها وكما يلي:

1. مستخلص الزعتر	4. مستخلص الزعتر والكزبرة بنسبة 1 : 1
2. مستخلص بذور الكزبرة	5. مستخلص الزعتر والقرفة بنسبة 1 : 1
3. مستخلص القرقة	6. مستخلص الكزبرة والقرقة بنسبة 1 : 1
7. مستخلص الزعتر والقرقة والكزبرة بنسبة 1 : 1 : 1	

أجريت الاختبارات الجرثومية والكيميائية، كما تم توثيق الملاحظات الحسية للعينات المعاملة بهذه المستخلصات عند التخزين المبرد بعد 0 و 3 و 7 أيام. أجريت نفس التحاليل الواردة في المرحلة السابقة وبنفس الطريقة.

4 . 2: تحديد أفضل درجة حرارة للنقع:

أجريت عملية النقع بمستخلص الزعتر والكزبرة (بنسبة 1 : 1) لشرائح المرتديلا لمدة دقيقة واحدة في مستخلصات درجة حرارتها الأولية 4 - 6°س وهي درجة حرارة البراد، وفي حرارة الغرفة

(20 - 25°س)، وفي درجة حرارة 45°س حيث وضع المستخلص في حمام مائي قبل إضافته. أجريت الاختبارات الجرثومية والكيميائية، كما تم توثيق الملاحظات الحسية للعينات المعاملة بهذه المستخلصات عند التخزين المبرد بعد 0 و 3 و 7 أيام. أجريت نفس التحاليل الواردة في المرحلة السابقة وبنفس الطريقة.

4 . 3: تحديد أفضل تركيز للمستخلص:

حضر من المستخلص المركز الأمثل من حيث النوع ودرجة حرارة النقع، وهو المستخلص المحضر بإضافة 10 غ من النباتات إلى 100 مل ماء ثلاث تراكيز وكما يلي:

1. مستخلص بدون تخفيف

2. مستخلص مخفف بالماء المعقم المقطر بنسبة 1 : 1

3. مستخلص مخفف بالماء المعقم المقطر بنسبة 1 (مستخلص) : 2 (ماء)

أجريت الاختبارات الجرثومية والكيميائية، كما تم توثيق الملاحظات الحسية للعينات المعاملة بهذه المستخلصات عند التخزين المبرد بعد 0 و 3 و 7 أيام. أجريت نفس التحاليل الواردة في المرحلة السابقة وبنفس الطريقة.

5. المرحلة الخامسة: مرحلة استخدام المستخلص الأمثل في خلطة تصنيعية ودراسة

صفات الجودة للمرتديلا المنتجة:

طبقت العملية في مصنع الشركة التقنية للصناعات الغذائية في منطقة الكسوة في ريف دمشق. تم تحضير ثلاث خلطات من المرتديلا بمعدل 10 كغم من كل نوع. الخلطة الأولى مثلت خلطة مرتديلا "هنا" دون أي تغييرات واستخدمت كشاهد. بينما استبدل ماء الخلطة الثانية بالمستخلص الأمثل. في حين استبدل نصف ماء الخلطة الثالثة بالمستخلص المائي الأمثل واستبدل نصف البهارات المستخدمة بخليط من مسحوق الزعتر والكزبرة بنسبة 1 : 1 .

قطعت شرائح المرتديلا داخل المصنع بإستخدام ماكينة التقطيع الخاصة به وعبئت في صحنون بلاستيكية تحاكي طريقة البيع المباشر المعمول بها في الأردن. قطعت مع هذه المرتديلا شرائح للمرتديلا الأردنية التي إستخدمت في مراحل الدراسة الثالثة والرابعة لتمثل شاهدا ثانيا.

عبئت الأنواع الأربعة من المرتديلا المقطعة في عبوات عادية ومفرغة من الهواء. بحيث أصبح لدينا ثمانية أنواع من العينات وكما يلي:

1. شرائح مرتديلا صنعت في المصنع بدون إضافة ومعبئة تعبئة عادية.
2. شرائح مرتديلا مستبدل كامل الماء بالمستخلص ومعبئة تعبئة عادية.
3. شرائح مرتديلا مستبدل نصف الماء بالمستخلص ومستبدلة نصف بهاراتها معبئة تعبئة عادية.
4. شرائح المرتديلا الأردنية المستخدمة في الدراسة معبئة تعبئة عادية.
5. شرائح مرتديلا صنعت في المصنع بدون إضافة معبأة بالتفريغ.
6. شرائح مرتديلا مستبدل كامل الماء بالمستخلص معبأة بالتفريغ.
7. شرائح مرتديلا مستبدل نصف الماء بالمستخلص ومستبدلة نصف بهاراتها معبأة بالتفريغ.
8. شرائح المرتديلا الأردنية المستخدمة في الدراسة معبأة بالتفريغ.

أجريت الإختبارات الجرثومية والكيميائية، كما تم توثيق الملاحظات الحسية للعينات المعاملة بهذه المستخلصات عند التخزين المبرد بعد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم. أجريت نفس التحاليل الواردة في المرحلة السابقة وبنفس الطريقة. للعينات المفرغة من الهواء تم استثناءها من الإختبارات بعد 3 أيام من التخزين المبرد.

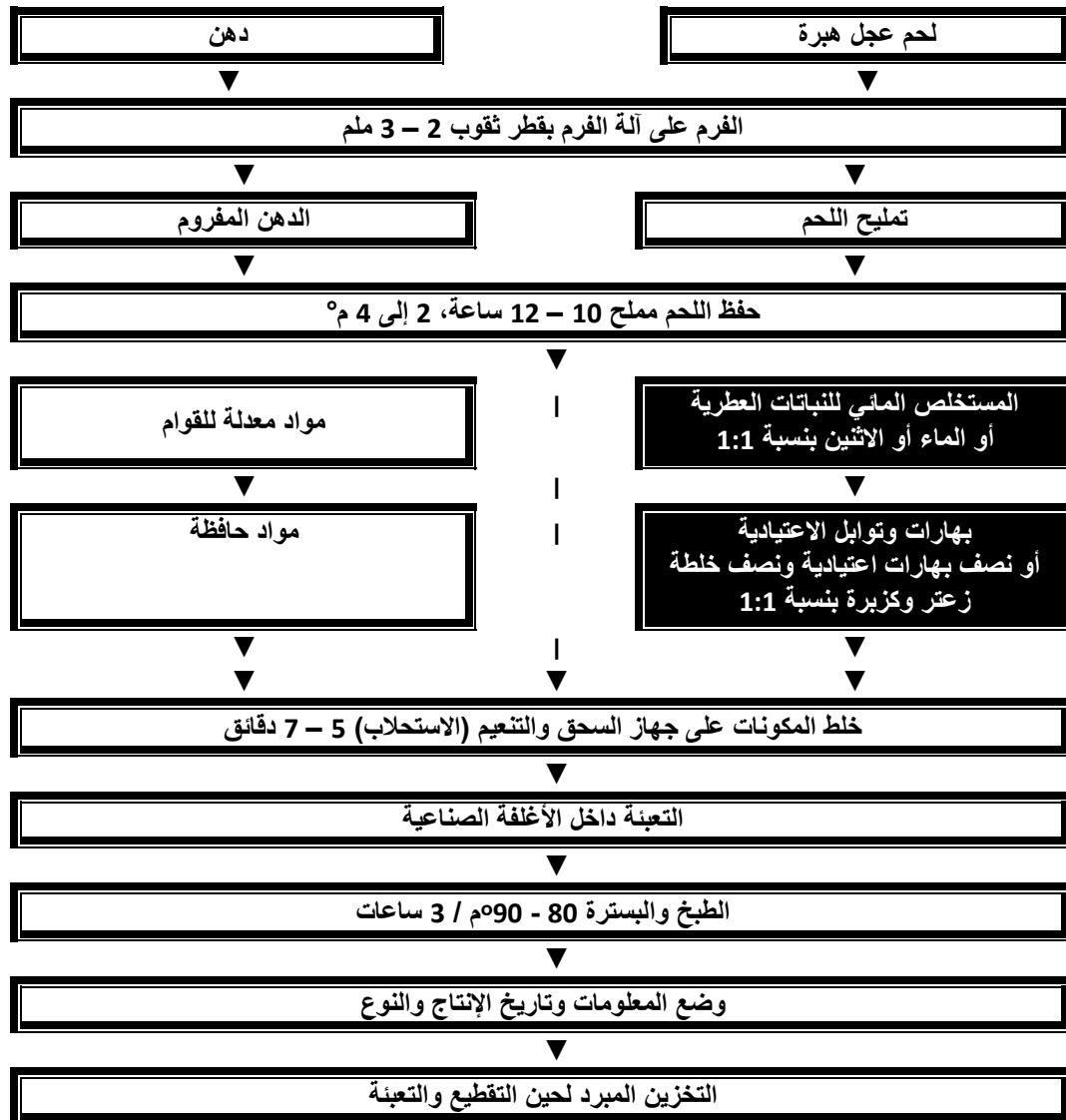
أجري التقييم الحسي للعينات الأربع (الخلطات الثلاث المصنعة والممرتديلا الأردنية) بعد التصنيع مباشرة وفي قسم علوم الأغذية التابع لكلية الزراعة / جامعة دمشق بإستخدام إختبار Hedonic Scale، عطاء كل صفة من الصفات الحسية 9 درجات. طلب من المقيمين وعددهم

12 وهم في الأساس مختصون في علوم الأغذية تقييم اللون والرائحة والقوام والطعم والتقييم العام من خلال نموذج أعد لهذه الغاية (ملحق رقم 2)، وأعطيت العينات أرقام متسلسلة دون الإشارة إلى أي معلومات عن طبيعة معاملتها سواء أكانت شاهداً أو معاملة بالمستخلص المائي لوحده أو مع البهارات (Lawless and Heymann, 1999).

يوضح الشكل (4) مخططاً لطريقة التصنيع التي تم إتباعها لإنتاج الخلطات الثلاث.

6. التحليل الإحصائي:

تم إجراء التحليل الإحصائي لنتائج المراحل من الثانية حتى الخامسة باستخدام المكررات الثلاث لكل نتيجة، وإدخالها إلى البرنامج المحوسب SPSS إصدار رقم 16، حيث تم اختيار التحليل الوصفي Descriptive Statistics في تحليل البيانات، وتحديد الفروق المعنوية باستخدام إختبار LSD عند مستوى 0.05%، وتحديد قيم ومستويات الفروق المعنوية باستخدام إختبار Duncan. بالإضافة لإختبار البيانات من خلال تحديد الانحراف المعياري عن المعدلات وتحليل التباين Analysis of Variance (ANOVA) للتأكد من دقة البيانات وصحتها (البلداوي، 2009) و (Sheridan and Lydall, 2001).



شكل (4): مخطط العمليات التكنولوجية لإعداد وتحضير المرتديلا المحلية بإضافة المستخلص المائي للنباتات العطرية المنتخبة

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

1. المرحلة الأولى: نتائج عزل وتشخيص الأحياء الدقيقة السائدة والمسببة لفساد

شرائح المرتديلا الأردنية.

1 . 1: إختيار وتحضير العينات:

تم اختيار أنواع المرتديلات الثلاث بحيث تمثل نتيجة هذا البحث الأحياء الدقيقة السائدة والمسببة لفساد معظم شرائح المرتديلا المستهلكة في السوق الأردنية، ذلك أن العينات من الأنواع الأوسع إنتشارا والتي تشكل أكبر نسبة إستهلاك محلي، كما تمثل الظروف المختلفة المتعلقة والمؤثرة في فساد المرتديلا من حيث المكونات وطرائق التصنيع وبيئة الحفظ والتقطيع، وما لذلك من تأثير مباشر في طبيعة الحمل الميكروبي الأولي (Feiner, 2006). من حيث المكونات إحتوت العينات على لحوم حمراء ولحوم الدواجن معا لعزل الأحياء الدقيقة من المصدرين، وبدون إضافات عشبية حتى لا يتم تثبيط نوع معين من الأحياء الدقيقة بسبب هذه البهارات. ومثلت اللانشون و المرتديلا المحفوظة في أغلفة صناعية، حضرت من أماكن بيع عالية ومتوسطة ومنخفضة النظافة، وفي ظروف المخبر المعقمة. قطعت بسماكة 0.25 سم كونها السماكة الدارجة لدى المستهلكين. استخدمت اشتراطات المؤسسة العامة للغذاء والدواء الأردنية لتصنيف توفر شروط النظافة في المحال المختلفة (المؤسسة العامة للغذاء والدواء، 2011).

1 . 2: نتائج إختبار تحديد مصادر الميكروبات السائدة أو المسببة للفساد:

يبين الجدول (3) نتائج الإختبارات الميكروبية للمسحات وعينات المرتديلا رقم 4 و 5 و 6

التي قطعت في ظروف المخبر المعقمة.

جدول (3): نتائج الإختبارات الميكروبية للمسحات وعينات المرتديلا المعقمة

الرقم	المادة التي اختبرت	التعداد الكلي للبكتيريا*	تعداد الكوليفورم*	تعداد الخمائر والفطور*	<i>Pseudomonas spp.*</i>
1.	عشر مسحات من البراد	10 إلى 20	10 >	10 إلى 10	10 > إلى 10
2.	عينة 4 مرتديلا	10 >	10 >	10 >	10 >
3.	عينة 5 مرتديلا	10 >	10 >	10 >	10 >
4.	عينة 6 مرتديلا	10 >	10 >	10 >	10 >

* العدد البكتيري لكل الإختبارات هو وحدة مكونة للمستعمرات / غ (سم²)

بينت نتيجة المسحات Swaps من البراد إحتوائها على بكتيريا *Pseudomonas spp.* بأعداد منخفضة في مسحتين من أصل عشرة وفطر *Rhizopus* بأعداد قليلة في مسحة واحدة من أصل عشرة، بينما لم تحتو المسحات العشرة على بكتيريا كوليفورم، وكان العدد البكتيري لها منخفضا (Garrido et. al., 2010) (Jackson et. al., 2007).

أظهرت نتائج الإختبارات الميكروبية للعينات (4 و 5 و 6) المقطعة داخل المخبر سلامتها العامة من حيث التعداد الكلي للبكتيريا والخمائر والفطور وغيرها من الإختبارات التي أعطت نتيجة سلبية. يتبين لنا من خلال هذه النتيجة أن مصدر التلوث الأساسي للعينات هو من أدوات وظروف التقطيع المتعلقة بالمحلات التجارية المختلفة. حيث أن لمصدر البكتيريا السائدة والمسببة لفساد هذه الشرائح ثلاث إحتتمالات فقط: الأول أن يكون المرتديلا نفسها، والثاني أن يكون البراد هو مصدر هذه الميكروبات، والثالث أن يكون التقطيع هو المصدر سواء أكان الأدوات أو العاملين أو عبوات التعبئة المستخدمة. وبني أن تكون المرتديلا نفسها أو البراد بدرجة كبيرة، يتبين أن التقطيع هو المصدر الأساس للتلوث، كما أورد (Heinz and Hautzinger, 2007).

1 . 3: وصف مظاهر الفساد الحسية في المرتديلا المحفوظة في البراد:

من خلال مراقبة تطور مظاهر الفساد الحسية في البراد للعينات الست، تبين أن هذه المؤشرات بدأت بالظهور بعد 4 إلى 5 أيام على العينات 1 - 3، وتعرزت هذه المظاهر بشدة بعد مرور 7 - 8 أيام، في حين أن العينات 4 - 6 لم يظهر عليها أي مؤشر حسي للفساد. تركت العينات ثلاث أيام إضافية في البراد لتعزيز مظاهر الفساد بهدف الحصول على نموات فطرية واضحة وحمل ميكروبي تسهل معه عملية التشخيص. من أهم مؤشرات الفساد الحسي التي رصدت وجود نموات لشكلين مختلفين من الفطور، ونموات لخميرة تم تمييزها من حيث الرائحة (Robert and Ellen, 1995). لوحظ إنتشار مادة مخاطية لزجة بين شرائح المرتديلا، وحببيات دائرية مختلفة الحجم واللون في مواقع مختلفة من الشرائح تدل جميعها على الحمولة الميكروبية العالية (ICMSF, 2005). تميزت جوانب المرتديلا بتغير اللون إلى اللون البني الداكن مع الجفاف المتوسط إلى الشديد في هذه الأماكن ، وهذا يدل على أكسدة صبغة الأوكسي مايوغلوبين وتحولها

إلى صبغة الميتامايوغلوبين (الجليلي و آخرون، 1985). وبالإضافة لرائحة الخميرة والفطور إنبعثت من شرائح المرتديلا روائح تحلل البروتين والدهن. وجدت مؤشرات الفساد في العينات الثلاث جميعها مع إختلاف شدتها من عينة لأخرى، حيث كانت في العينة الأولى شديدة جدا، وكانت متوسطة في العينة الثانية، وقليلة نسبيا في العينة الثالثة، وهذا عائد إلى مستويات النظافة العامة في المحلات المختلفة ومنسجم معها (ارجع للجدول 2)، وقد يعود إلى نسبة المواد الحافظة التي تحتويها كل عينة وطبيعة تركيبها وتغاير نسبة الرطوبة والدهون وغيرها من المكونات (Rodriguez et. al., 2010). وبهذه النتيجة تم متابعة هذه المرحلة بإستخدام العينات الثلاث الأولى المقطعة في المحال التجارية وإهمال العينات التي تم تقطيعها في المخبر لعدم احتوائها على مظاهر فساد.

1 . 4: تشخيص الفطور والخمائر:

بتشخيص الفطور بالفحص المجهرى المباشر بإستخدام اللاكتوفينول تبين وجود نوعين منهما، نما الأول على شرائح المرتديلا بلون أخضر مزرق ونما الآخر بشكل هيفات بيضاء يختلط فيها اللون الأسود. قورنت أشكال الفطور تحت المجهر بالأشكال القياسية وشخصت بوضوح على أنها فطور *Penicillium* و *Rhizopus* (Robert and Ellen, 1995). بينت نتيجة الإختبار التأكدي API 20 C AUX أن الخميرة تمثل نوعا واحدا هو *Saccharomyces spp.* حيث أعطت رقما للنتائج الايجابية هو 2044020 (Barnett et. al., 2000). عزل الفطرين والخميرة من عينات المرتديلا الثلاث، ومع ذلك فلا بد من الإشارة إلى أن إنتشارها كان متفاوتا من عينة لأخرى بحيث أن العينة الأولى كانت الأكثر إحتواء عليها في حين أن العينة الثالثة كانت الأقل.

1 . 5: تشخيص البكتيريا من خلال الإختبارات المختلفة:

1 . 5 . 1: النتائج الأولية للإختبارات البكتيرية:

كانت نتائج الإختبارات الثلاث عشر التي أجريت على العينات الثلاث من المرتديلا سلبية للبكتيريا المستهدفة، واختلفت الأطباق من حيث وجود مستعمرات عليها من عدمه. كذلك من حيث

شكل هذه النموات. يبين الجدول (4) نتائج الإختبارات الثلاث عشر على البكتيريا من حيث احتواء الأطباق على نموات، وأهم الملاحظات على هذه النتائج.

جدول (4) : النتائج الأولية للإختبارات البكتيرية الثلاث عشر

رقم الإختبار	رقم العينة	اسم الإختبار	نتيجة الإختبار	ملاحظات عامة
1		التعداد الكلي للبكتيريا	10×5.6 (cfu / gm) ⁹ 10×2 (cfu / gm) ⁹ 10×2.4 (cfu / gm) ⁸	يتناسب العدد مع حجم مظاهر الفساد من عينة لأخرى
2 + 3		<i>Enterobacteriaceae</i> والكوليفورم و <i>E.coli</i>	LTB ايجابي على 37م EC سلبي على 44.5م EMB سلبي	وجود <i>Enterobacteriaceae</i> وعدم وجود كوليفورم برازية أو <i>E.coli</i>
4	1 +	<i>E.coli</i> O157:H7	نموات لا تحمل مواصفات البكتيريا المستهدفة	عزلت المستعمرات ورقمت لإجراء عملية التشخيص
5 +	2	<i>Campylobacter</i> و <i>Ent. feacalis</i>	نموات لا تحمل مواصفات البكتيريا المستهدفة	اختبرت بـ Kit التشخيص وأعطى نتيجة سلبية
6 +	3	<i>Proteolytic Bac.</i> و <i>Cl. perfringens</i>	لا يوجد نموات	أهملت الأطباق
7 +	*	<i>B. cereus</i> و <i>Pseud. spp.</i>	نموات لا تحمل مواصفات البكتيريا المستهدفة	تم عزل هذه المستعمرات وترقيمها لتشخيصها
8 +		<i>Staph. aureus</i> + السالمونيلا + اللستيريا	نموات لا تحمل مواصفات البكتيريا المستهدفة	تم عزل هذه المستعمرات وترقيمها لتشخيصها
9 إلى 13				

*حيث: العينات 4 و5 و6 لم تتابع لعدم وجود مظاهر فساد بها

1 . 5 . 2: نتائج التصيبغ المجهرى للبكتيريا المختلفة:

عزلت من أطباق بتري المستعمرات المختلفة النامية عليها. عدد المستعمرات 67 مستعمرة مختلفة من حيث وسط النمو والحجم والشكل والرطوبة أو الجفاف واللون وتخمر الوسط أو تغيير لونه وموقع النمو إن كان على السطح أو في وسط وأسفل البيئة، وأي اختلافات مورفولوجية أخرى. أعطيت المستعمرات أرقام متسلسلة من 1 إلى 67 ووصفت من حيث الشكل والمصدر (أي البيئة والعينة التي احتوتها) لكي يسهل متابعتها في عمليات التشخيص اللاحقة. يبين الجدول (5) نتائج التصيبغ المجهرى مع أهم المعلومات عن المستعمرات المعزولة (Jiang and Sun, 2010).

جدول (5) : الوصف الكامل للعزلات البكتيرية من الإختبارات المختلفة

العزلة	العينة	الإختبار	البيئة	وصف المستعمرة	نتيجة التصبغ Gram stain
1	1	T.count	PCA	حجم كبير تنمو على السطح	عصوية سالبة لصبغة غرام
2	1			حجم كبير تنمو على السطح	عصوية سالبة وكروية موجبة
3	1			حجم متوسط تنمو على السطح	كروية موجبة لصبغة غرام
4	1			حجم متوسط تنمو على السطح	كروية موجبة لصبغة غرام
5	1			حجم صغير تنمو داخل البيئة	لا نموات على Nutrient agar
6	1			حجم صغير تنمو داخل البيئة	كروية موجبة لصبغة غرام
7	2			حجم كبير تنمو على السطح	عصوية سالبة لصبغة غرام
8	2			حجم كبير تنمو على السطح	كروية موجبة لصبغة غرام
9	2			حجم متوسط تنمو على البيئة	عصوية سالبة وكروية موجبة
10	2			حجم متوسط تنمو على البيئة	كروية موجبة لصبغة غرام
11	2			حجم صغير تنمو داخل البيئة	كروية موجبة لصبغة غرام
12	2			حجم صغير تنمو داخل البيئة	عصوية سالبة وكروية موجبة غرام
13	3			حجم كبير تنمو على السطح	عصوية سالبة لصبغة غرام
14	3			حجم كبير تنمو على السطح	لا نموات على Nutrient agar
15	3			حجم متوسط تنمو على السطح	لا نموات على Nutrient agar
16	3			حجم متوسط تنمو على السطح	لا نموات على Nutrient agar
17	3			حجم صغير تنمو داخل الوسط	لا نموات على Nutrient agar
18	3			حجم صغير تنمو داخل الوسط	كروية موجبة لصبغة غرام
19+20	1	B.cereus	MYP	مستعمرة بيضاء بدون تخمر	عصوية سالبة وكروية موجبة غرام
21	1			مستعمرة بيضاء مع تخمر	كروية موجبة لصبغة غرام
22+23	1+2			مستعمرة بيضاء مع تخمر	كروية موجبة لصبغة غرام وخمائر
24+25	2			مستعمرة بيضاء مع تخمر	كروية موجبة لصبغة غرام
26	2			مستعمرة بيضاء مع تخمر	خمائر
27-29	3			مستعمرة بيضاء مع تخمر	كروية موجبة لصبغة غرام
30	3			مستعمرة بيضاء مع تخمر	كروية موجبة لصبغة غرام وخمائر
31	1	Salmonella	Hek-ton	مستعمرة بيضاء صغيرة (الوسط اصفر)	عصوية سالبة لصبغة غرام
32	1			مستعمرة بيضاء كبيرة (الوسط اصفر)	عصوية سالبة وكروية موجبة لصبغة غرام
33+34	1			مستعمرة بيضاء صغيرة (الوسط اصفر)	عصوية سالبة لصبغة غرام
35	1		XLD	مستعمرة برتقالية صغيرة والوسط اصفر	عصوية سالبة لصبغة غرام
36	2		Hek-ton	مستعمرة بيضاء صغيرة (الوسط اصفر)	عصوية سالبة لصبغة غرام
37	2		XLD	مستعمرة صفراء برتقالية متوسطة والوسط اصفر	عصوية سالبة لصبغة غرام
38	3			مستعمرة متوسطة لون المركز اسود والوسط شفاف	عصوية سالبة لصبغة غرام
39	3			مستعمرة متوسطة لون المركز اسود والوسط شفاف	عصوية سالبة لصبغة غرام
40	3		Hek-ton	مستعمرة بيضاء متوسطة والوسط اصفر	عصوية سالبة وكروية موجبة لصبغة غرام
41	3			مستعمرة متوسطة لون المركز اسود والوسط احمر	عصوية سالبة وكروية موجبة لصبغة غرام

يتبع جدول (5) : الوصف الكامل للعلزلات البكتيرية من الإختبارات المختلفة

العزلة	العينة	الإختبار	البيئة	وصف المستعمرة	نتيجة التصبغ Gram stain
42	1	<i>E.coli</i> <i>O157</i>	CT	مستعمرة حمراء كبيرة	عصوية سالبة لصبغة غرام
43	1		S.M	مستعمرة وردية كبيرة	عصوية سالبة وكروية موجبة غرام
44	1		CT	مستعمرة حمراء كبيرة	عصوية سالبة لصبغة غرام
45	2		CT	مستعمرة وردية كبيرة	عصوية سالبة لصبغة غرام
46	3		S.M	مستعمرة وردية كبيرة	عصوية سالبة وكروية موجبة غرام
47	3		CT	حمراء إلى وردية كبيرة	عصوية سالبة لصبغة غرام
48	2		S.M	مستعمرة حمراء باهتة كبيرة	عصوية سالبة وكروية موجبة غرام
49	2		CT	مستعمرة حمراء كبيرة	عصوية سالبة وكروية موجبة غرام
50-53	1-3	<i>Staph.</i>	B.P	مستعمرات سوداء متوسطة لامعة لا تحيط بها أي هالة	كروية موجبة لصبغة غرام
54	1	<i>Pseudo</i> <i>monas</i>	CFC	مستعمرات شفافة منكسرة صغيرة جافة	كروية موجبة لصبغة غرام
55+56	2-3			مستعمرات كريمية لزجة كبيرة	كروية موجبة لصبغة غرام
57	1	<i>Listeria</i>	OX	مستعمرة صفراء حجم متوسط	عصوية موجبة لصبغة غرام
58	1		OX	مستعمرة صفراء حجم متوسط	عصوية موجبة لصبغة غرام
59	1		OX	مستعمرة خضراء حجم كبير	عصوية موجبة لصبغة غرام
60	1		OX	مستعمرة بيضاء حجم كبير	عصوية موجبة لصبغة غرام
61	2		CHR	مستعمرة بيضاء حجم كبير	عصوية موجبة لصبغة غرام
62	2		CHR	مستعمرة بيضاء حجم صغير	عصوية موجبة لصبغة غرام
63	2		CHR	مستعمرة بيضاء حجم صغير	عصوية موجبة لصبغة غرام
64	2		OX	مستعمرة صفراء حجم صغير	عصوية موجبة لصبغة غرام
65	3		OX	مستعمرة صفراء حجم صغير	عصوية موجبة لصبغة غرام
66	3		CHR	مستعمرة بيضاء حجم كبير	عصوية موجبة لصبغة غرام
67	3		CHR	مستعمرة بيضاء حجم صغير	عصوية موجبة لصبغة غرام

*حيث: العينات 4 و5 و6 لم تتابع لعدم وجود مظاهر فساد بها

1 . 5 . 3: نتائج تشخيص البكتيريا السالبة لصبغة غرام:

يبين الجدول (6) نتيجة التشخيص النهائي لإختبار البكتيريا السالبة لصبغة غرام بإستخدام نظام Gram-negative identification System Microbact 12 A، بعد الحصول على نتيجة سلبية لإختبار Oxidase Test. يتضح من خلال الجدول أن العزلات العشرة تمثل خمس أنواع من البكتيريا تنتمي جميعها لمجموعة *Enterobacteriaceae* وهي من البكتيريا المسببة لفساد شرائح المرتديلا. يبين الجدول (6) أن البكتيريا شخصت بنسب احتمالية عالية وذلك يدل على دقة العزل والتشخيص وعدم وجود متداخلات سلبية أثرت على العمل. أربع أنواع من البكتيريا التي شخصت هي من مجموعة الكوليفورم وهذا يدل على مستوى النظافة المتدني لتحضير العينات. بينما البكتيريا الخامسة هي *Salmonella arizonae* المقاومة للعوامل البيئية والتي

تسبب أمراض للإنسان والدواجن (Schneider et. al., 2009) (Reinders et. al., 2003).

جدول (6): النتيجة النهائية لتشخيص البكتيريا السالبة لصبغة غرام

نسبة الاحتمالية Probability	اسم البكتيريا من المرجع المحسوب	الرقم التشخيصي Octal Code	رقم العزلة
98.01 %	<i>Enterobacter gergoviae</i>	6156	13+7+1
98.01 %	<i>Enterobacter gergoviae</i>	7556	31
99.69 %	<i>Serratia marcescens</i>	6046	35
99.89 %	<i>Klebsiella oxytoca</i>	4176	37
83.77 %	<i>Salmonella arizonae</i>	7152	39
99.84 %	<i>Citrobacter freundii</i>	1742	47+45+42

1 . 5 . 4: نتائج تشخيص اللستيريا *Listeria*:

يبين الجدول (7) نتائج التشخيص باستخدام نظام *Listeria identification System*

Microbact 12A. إذ يتضح أن البكتيريا هي *Listeria ivanovii* بإحتمالية عالية لجميع

المستعمرات العشرة المحتملة، وبدون وجود تداخلات فنية وبدقة عالية.

جدول (7): النتيجة النهائية لتشخيص بكتيريا *Listeria*

نسبة الاحتمالية Probability	اسم البكتيريا من المرجع المحسوب	الرقم التشخيصي Octal Code	رقم العزلة
%96.33	<i>Listeria ivanovii</i>	4001	57
%96.33	<i>Listeria ivanovii</i>	4001	58
%63.47	<i>Listeria ivanovii</i>	2041	59
%84.20	<i>Listeria ivanovii</i>	0041	60
%84.20	<i>Listeria ivanovii</i>	0041	61
%84.20	<i>Listeria ivanovii</i>	0041	62
%84.20	<i>Listeria ivanovii</i>	0041	63
%96.33	<i>Listeria ivanovii</i>	4001	64
%96.33	<i>Listeria ivanovii</i>	4001	65
%84.20	<i>Listeria ivanovii</i>	0041	66
%84.20	<i>Listeria ivanovii</i>	0041	67

رغم أن بكتيريا *Listeria monocytogenes* هي الأهم في مجال التسممات الغذائية،

فإن وجود بكتيريا *Listeria ivanovii* يعد مؤشرا سلبيا لإحتمال وجود أجناس أخرى من هذا النوع

لما لهذه البكتيريا من قدرة على الإنتشار الواسع في العديد من الأغذية حول العالم (Foschino

(et. al., 2003) (Bouayad and Hamdi, 2012).

1 . 5 . 5: نتائج تشخيص بقية البكتيريا الموجبة لصبغة غرام:

يبين الجدول (8) نتائج تشخيص البكتيريا الموجبة لصبغة غرام عدا اللستيريا بإستخدام

نظام BBL CRYSTAL Gram-Positive Identification system.

جدول (8): النتيجة النهائية لتشخيص بقية البكتيريا الموجبة لصبغة غرام

نسبة الاحتمالية Probability	اسم البكتيريا من المرجع المحوسب	الرقم التشخيصي Octal Code	رقم العزلة
99 %	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0340671065	3
95 %	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0200671075	4
99 %	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0250673075	6
99 %	<i>Enterococcus hirae</i>	3741773633	8
98 %	<i>Streptococcus bovis</i>	3761751613	10
98 %	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0340671075	11
95 %	<i>Lactococcus lactis</i>	3660551763	18+21+24
99 %	<i>Enterococcus hirae</i>	3741773633	25
72 %	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	2450773777	27+28
99 %	<i>Enterococcus durans</i>	2540451613	29
99 %	<i>Staphylococcus simulans</i>	0100661175	50+51
60 %	<i>Staphylococcus simulans</i>	0100671075	52
99 %	<i>Staphylococcus lentus</i>	2434777653	53
99 %	<i>Staphylococcus lentus</i>	2434777757	54
99 %	<i>Staphylococcus lentus</i>	2434777753	55+56

يتضح من خلال الجدول أن هذه البكتيريا من الأنواع الشائعة في اللحوم ومنتجاتها. وتتنوع

الأنواع ما بين بكتيريا حمض اللبن مثل *Lactococcus lactis* وبكتيريا قد تسبب فسادا للحوم

وتدخل ضمن البكتيريا المرضية مثل *Staphylococcus simulans* و *Streptococcus*

bovis (Heinz and Hautzinger, 2007) (Luesink et. al., 2003).

2. المرحلة الثانية: نتائج مرحلة دراسة أثر التضاد بين الميكروبات المعزولة

ومستخلصات نباتات الدراسة المائية:

يبين الجدول (9) نتائج التضاد الميكروبي بين الميكروبات المختلفة ومستخلصات النباتات

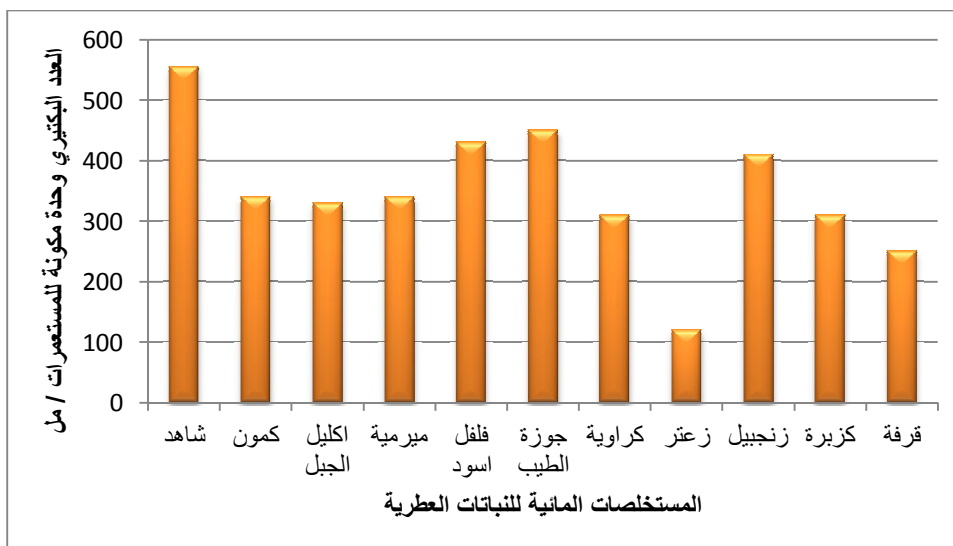
المائية العشرة، مع بيان الفروق المعنوية للتنشيط في حال وجودها. حيث أن العدد الميكروبي

للشاهد هو للبكتيريا أو للفطر أو للخميرة بدون إضافة المستخلص المائي، بينما العدد الميكروبي

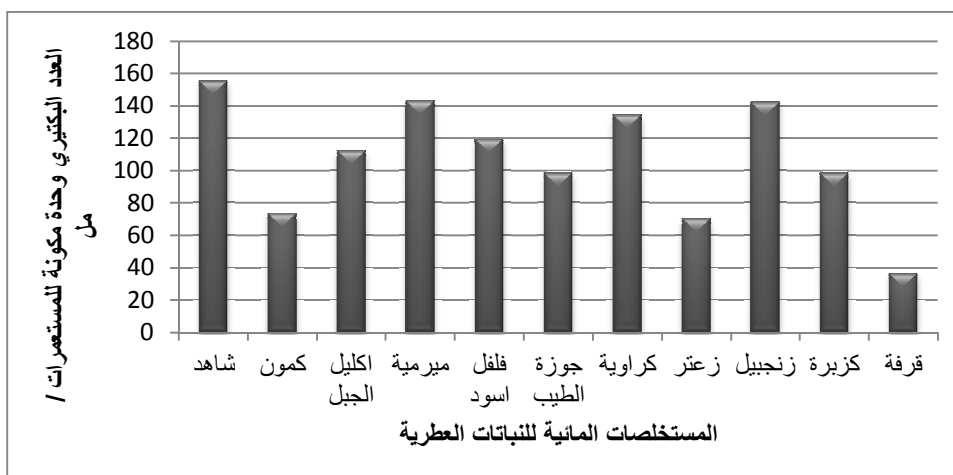
لكل مستخلص مائي (كمون، إكليل الجبل، ... ، القرفة) هو للأحياء الدقيقة مع إضافة المستخلصات. كذلك فقد تم ترتيب الأحياء الدقيقة في الجدول حسب ثلاث مجموعات. المجموعة الأولى (من 1 إلى 5) وتمثل البكتيريا السالبة لصبغة غرام. بينما تمثل المجموعة الثانية (6 إلى 14) البكتيريا الموجبة لصبغة غرام. وتمثل المجموعة الثالثة (15 إلى 17) الفطران والخميرة.

تبين الاشكال من (5) إلى (21) رسوما بيانية تظهر اثر المستخلصات المائية على كل ميكروب. يمثل المحور الأفقي المستخلصات المائية للنباتات العشرة، بينما يعبر المحور العامودي عن العدد الميكروبي كوحدة مكونة للمستعمرات / مل.

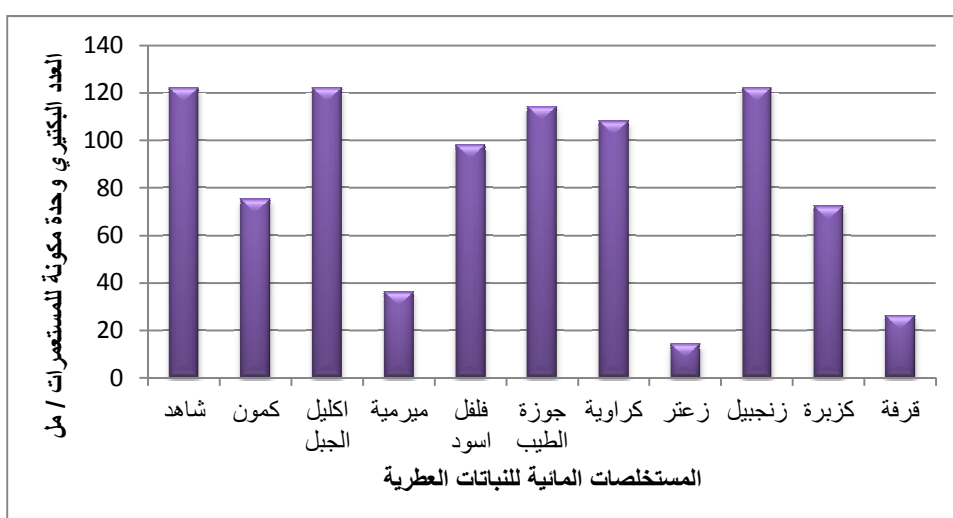
ثبط المستخلص المائي للكمون إثني عشر من الأحياء الدقيقة وبفروق معنوية عند مستوى 0.05%. فضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Enterobacter gergoviae* إذ إنخفض العد البكتيري من 555 وحدة مكونة للمستعمرات / مل للشاهد إلى 340 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، وضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد اثنتين منها هي: *Staphylococcus simulans* و *Listeria ivanovii* حيث إنخفض العدد البكتيري للشواهد من 150 و 170 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 50 و 70 وحدة مكونة للمستعمرات / مل على التوالي بإضافة المستخلص المائي للكمون. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية له ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشواهد من 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 57 وحدة مكونة للمستعمرات / مل وهذا يتوافق مع العديد من الدراسات منها (Hajlaoui et al., 2010) (Nicola et al., 2005).



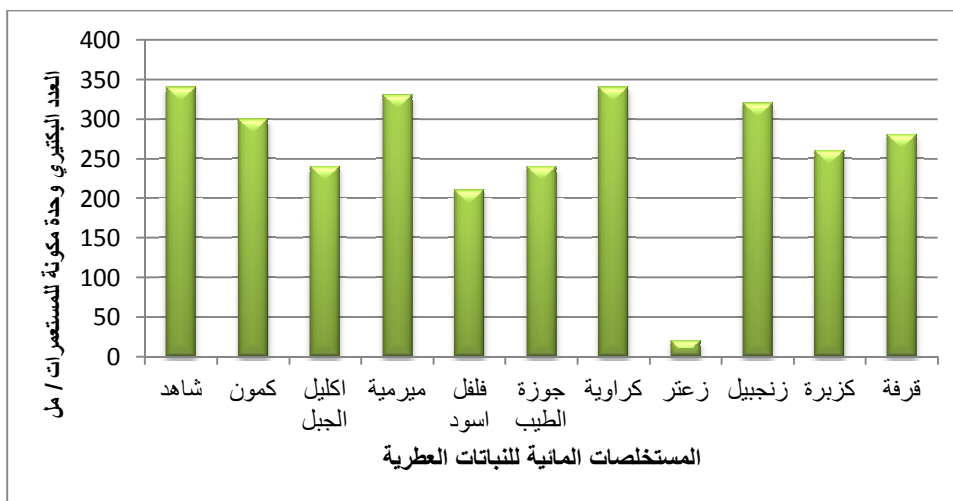
شكل (5): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Enterobacter gergoviae*



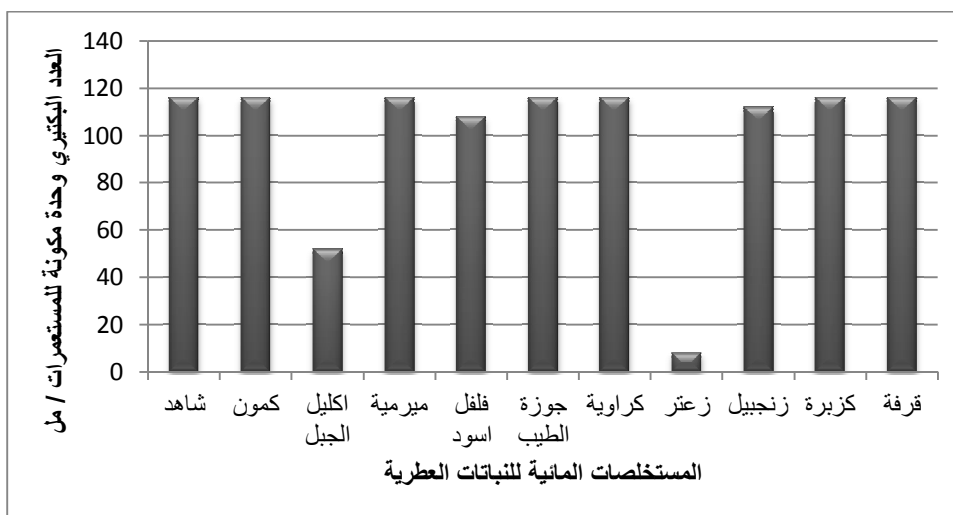
شكل (6): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Serratia marcescens*



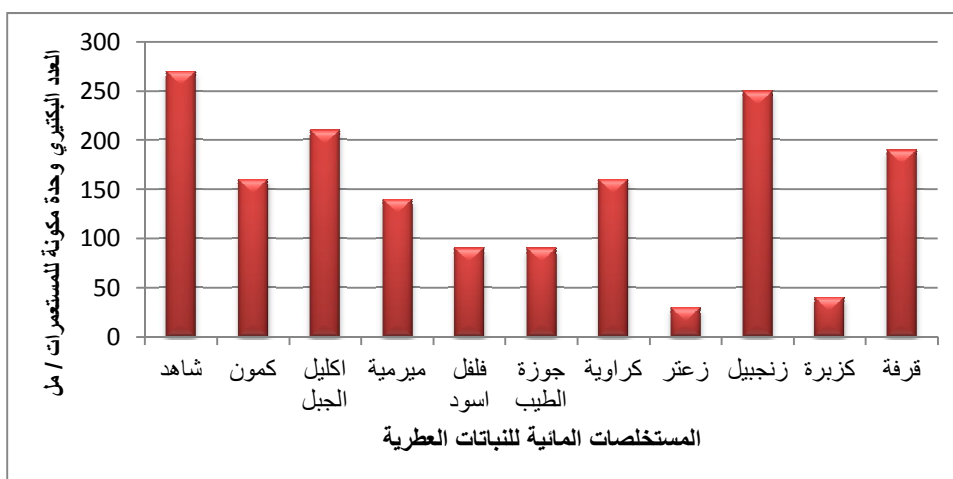
شكل (7): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Klebsiella oxytoca*



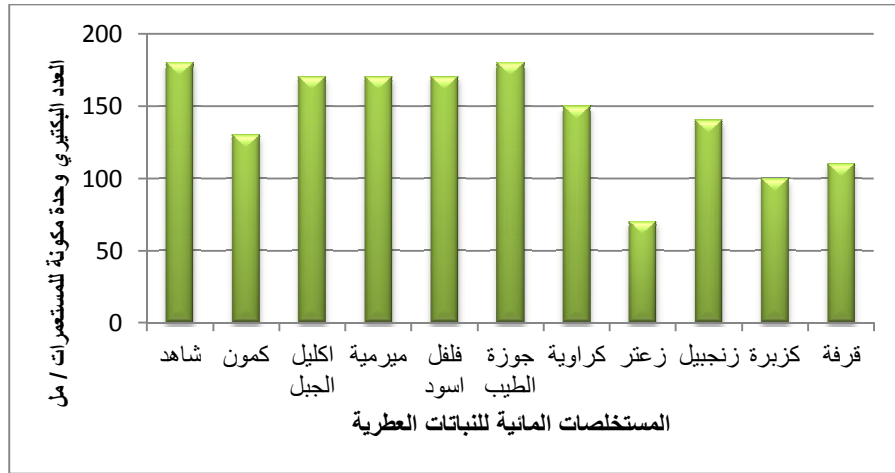
شكل (8): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Salmonella arizonae*



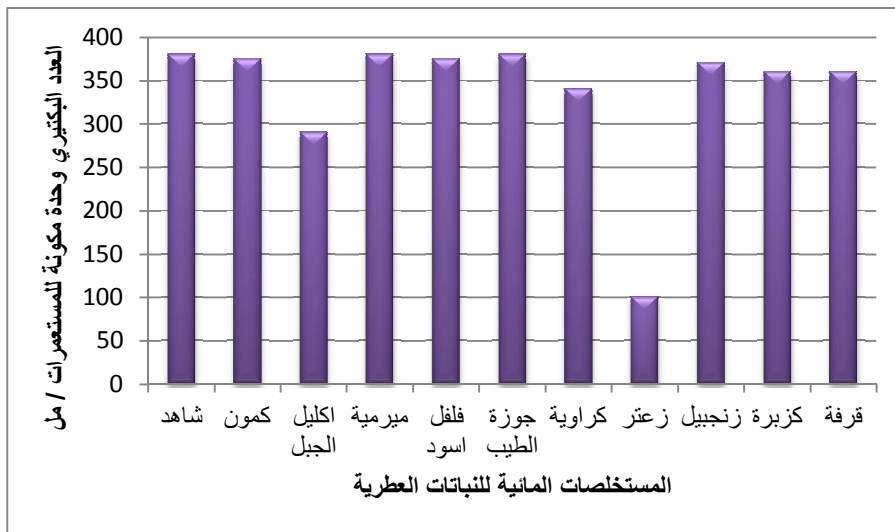
شكل (9): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Citrobacter freundii*



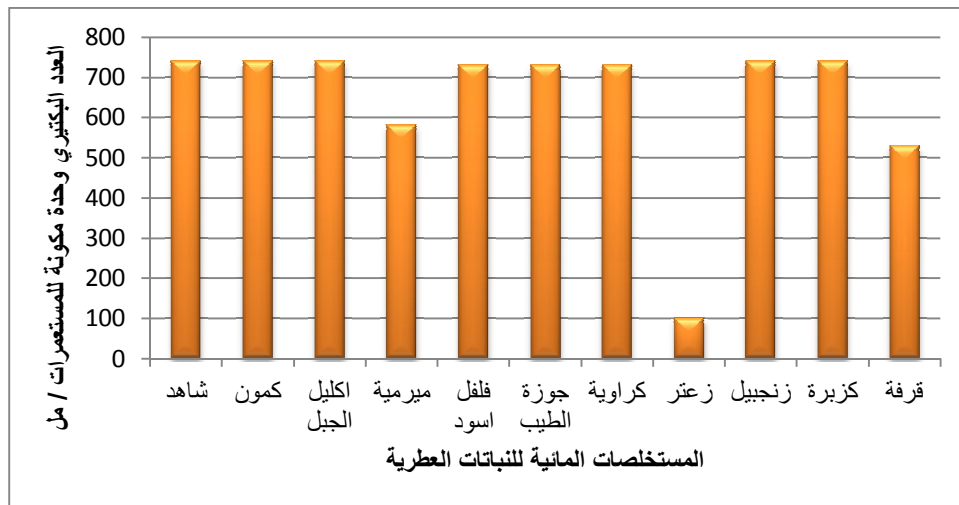
شكل (10): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Staphylococcus saprophyticus*



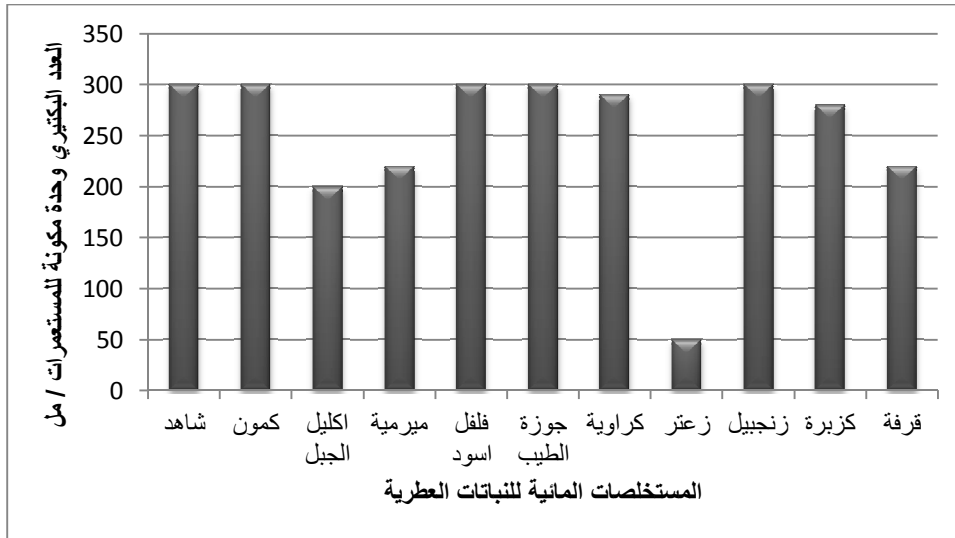
شكل (11): التصاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Streptococcus bovis*



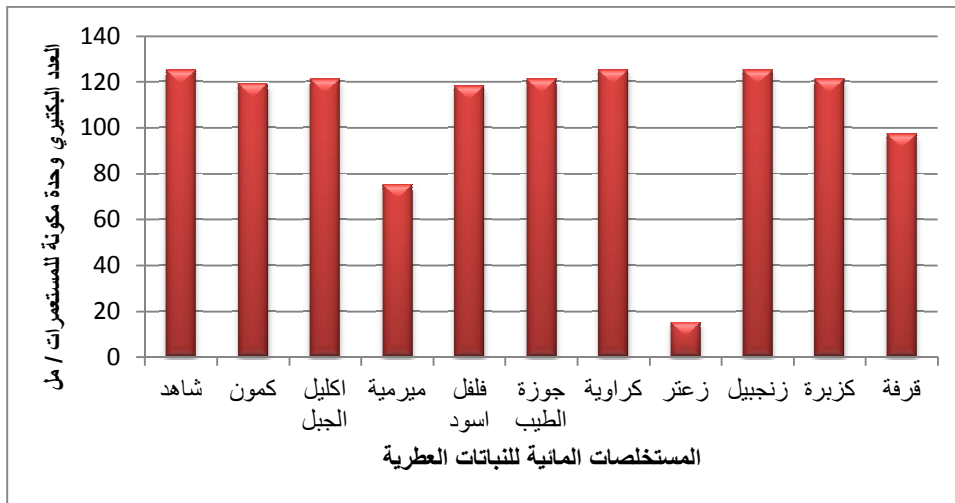
شكل (12): التصاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Lactococcus lactis*



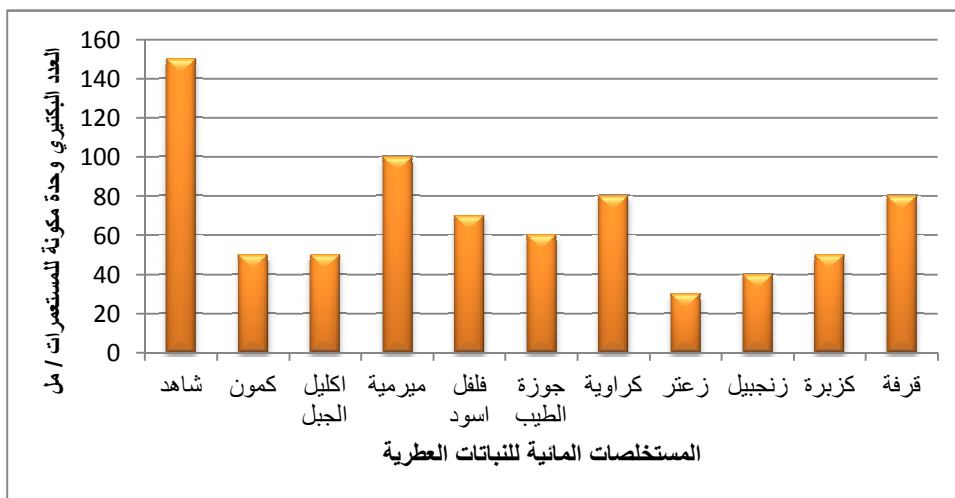
شكل (13): التصاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Enterococcus hirae*



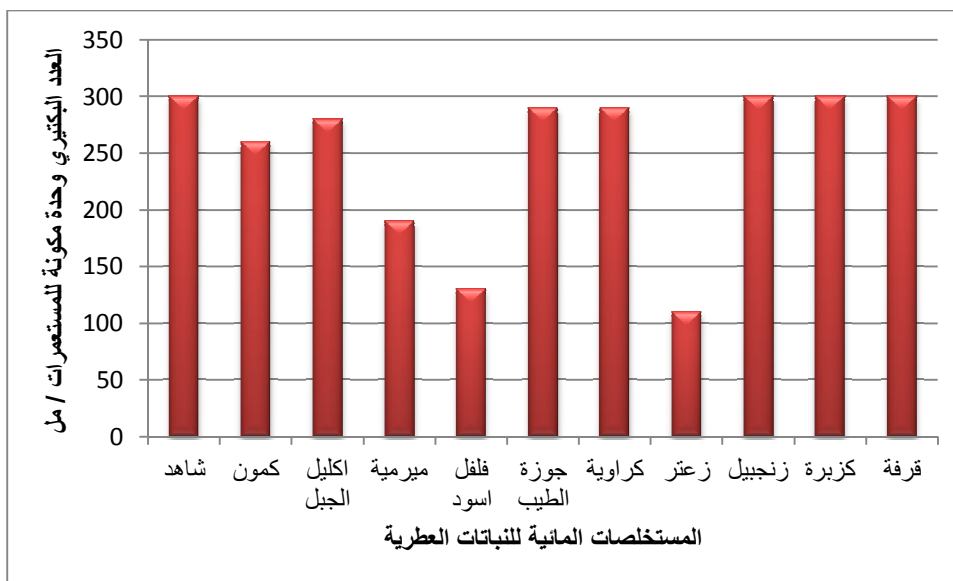
شكل (14): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Lactococcus raffinolactis*



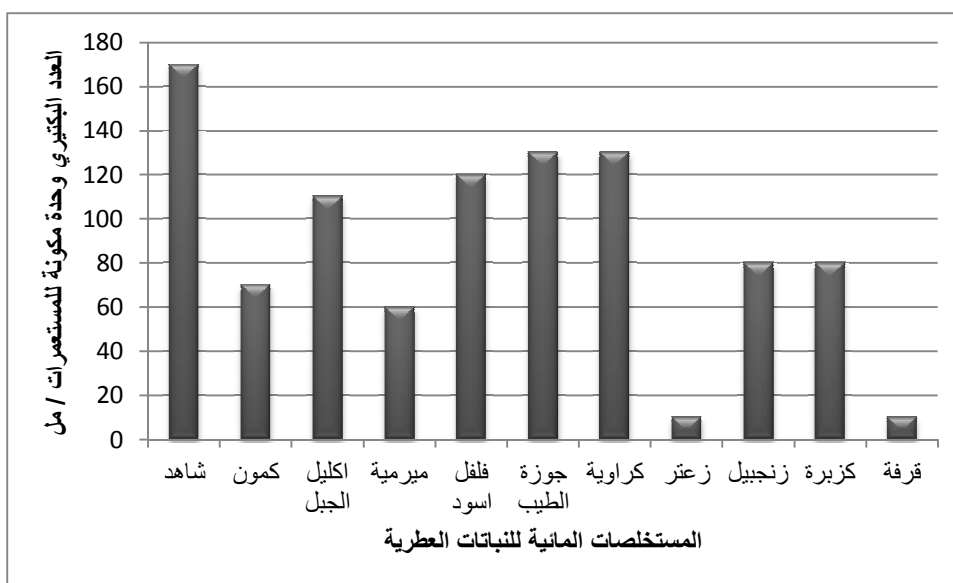
شكل (15): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Enterococcus durans*



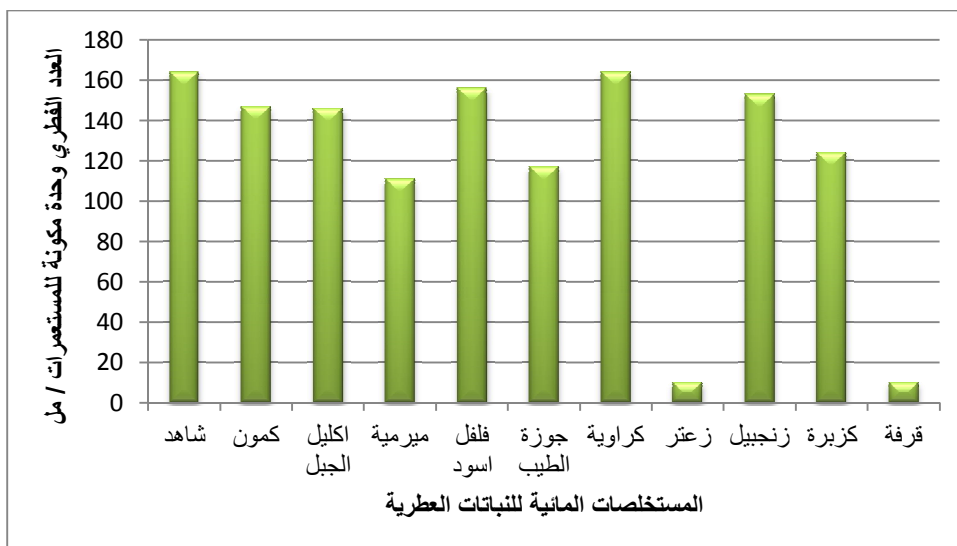
شكل (16): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Staphylococcus simulans*



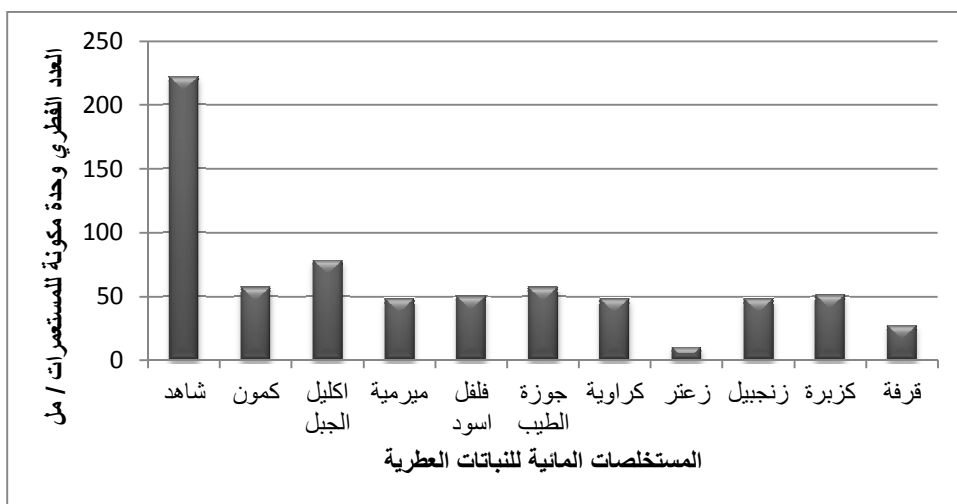
شكل (17): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Staphylococcus lentu*



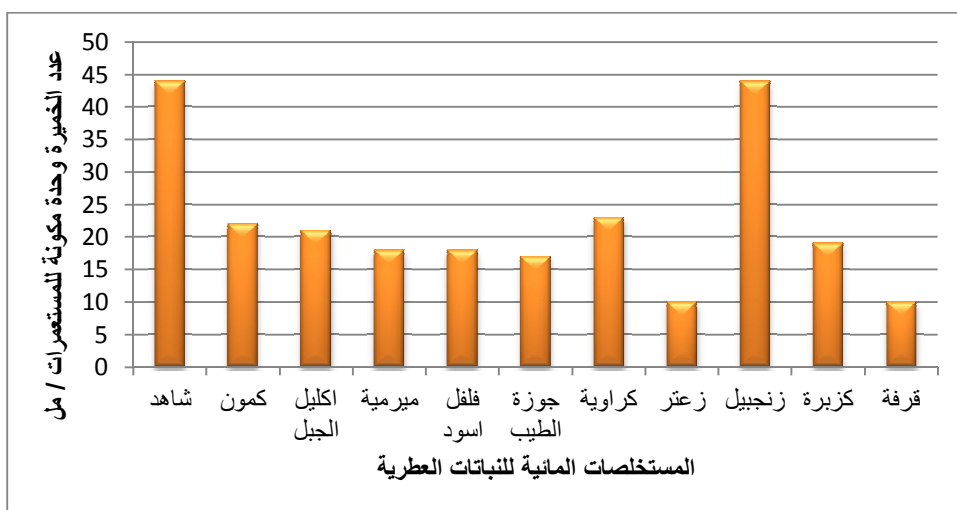
شكل (18): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وبكتيريا *Listeria ivanovii*



شكل (19): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وفطر *Penicillium*



شكل (20): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وفطر *Rhizopus*



شكل (21): التضاد الميكروبي بين المستخلصات المائية وخميرة *Saccharomyces spp.*

بينت النتائج أن المستخلص المائي لإكليل الجبل أدى إلى تثبيط إثني عشر من الأحياء الدقيقة. وضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية ضد بكتيريا *Citrobacter freundii* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 116 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 52 وحدة مكونة للمستعمرات / مل مع المستخلص. وضمن البكتيريا الموجبة كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Staphylococcus simulans* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 150 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 50 وحدة مكونة للمستعمرات / مل. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية له ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل في الشاهد إلى 80 وحدة مكونة للمستعمرات / مل مع المستخلص. بما يتوافق مع (Piskernik et. al., 2011) (Lopez et. al., 2003).

ثبط المستخلص المائي للمريمية خمسة عشر من الأحياء الدقيقة وبفروق معنوية متفاوتة. فضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Klebsiella oxytoca* إذ إنخفض العدد البكتيري من 122 وحدة مكونة للمستعمرات / مل للشاهد إلى 36 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، مع ملاحظة عدم وجود اثر معنوي يذكر لهذا المستخلص على ثلاث من أصل خمس من بكتيريا هذه المجموعة. وضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Listeria ivanovii* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 170 إلى 60 وحدة مكونة للمستعمرات / مل على التوالي بإضافة المستخلص المائي للمريمية. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية له ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشاهد من 222 إلى 48 وحدة مكونة للمستعمرات / مل. بما يتناسب وما توصل له كل من (Generalic et. al., 2012) (Yutaka et.al., 2006).

بينت النتائج أن المستخلص المائي للفلل الأسود أدى إلى تثبيط أربعة عشر من الأحياء الدقيقة. وضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Salmonella arizonae* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 340 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 210 وحدة مكونة للمستعمرات / مل مع المستخلص. وضمن البكتيريا

الموجبة كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Staphylococcus simulans* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 150 إلى 70 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، مع ملاحظة عدم وجود اثر معنوي يذكر لهذا المستخلص على خمس من أصل تسع من بكتيريا هذه المجموعة. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية له ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشاهد من 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 51 وحدة مكونة للمستعمرات / مل وهذا يتوافق مع ما وجدته (Nimasha et. al., 2010) (Pundir and Jain, 2010).

ثبط المستخلص المائي لجوزة الطيب نمو عشر من الأحياء الدقيقة. فضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية لها ضد بكتيريا *Salmonella arizonae* إذ إنخفض العدد البكتيري من 340 وحدة مكونة للمستعمرات / مل للشاهد إلى 240 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، وضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية لها ضد بكتيريا *Staphylococcus simulans* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 150 إلى 60 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، مع ملاحظة عدم وجود اثر معنوي لهذا المستخلص على ست من أصل تسع من بكتيريا هذه المجموعة. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية لها ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشاهد من 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 57 وحدة مكونة للمستعمرات / مل (Firouzi et. al., 2007).

ثبطت الكراوية نمو تسعة من الأحياء الدقيقة. فضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية لها ضد بكتيريا *Enterobacter gergoviae* إذ إنخفض العدد البكتيري من 555 وحدة مكونة للمستعمرات / مل للشاهد إلى 310 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، وضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية لها ضد بكتيريا *Staphylococcus simulans* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 150 إلى 80 وحدة مكونة للمستعمرات / مل. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية لها ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشاهد من 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 48 وحدة مكونة للمستعمرات / مل (Mohsenzadeh, 2007) (Peter, 2004).

ثَبَّطَ مستخلص الزعتر جميع الأحياء الدقيقة وبفروقات معنوية عالية جدا. فضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Citrobacter freundii* إذ إنخفض العدد البكتيري من 116 وحدة مكونة للمستعمرات / مل للشاهد إلى 8 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، وضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد ثلاث من هذه البكتيريا هي: *Staphylococcus* و *Enterococcus hirae* و *Listeria ivanovii* و *simulans* حيث إنخفض العدد البكتيري للشواهد على التوالي من 740 و 150 و 170 إلى 100 و 30 و 10 وحدة مكونة للمستعمرات / مل بإضافة المستخلص المائي للزعتر. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية له ضد عفني *Penicillium* و *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشواهد من 164 و 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 10 وحدة مكونة للمستعمرات / مل على التوالي. وكان تفوق الزعتر في عملية التثبيط لافتا حيث تفوق على معظم المستخلصات الأخرى ضد معظم الميكروبات، ويكاد يكون تثبيطه منفردا في أكثر من بكتيريا لعل أكثرها وضوحا *Citrobacter freundii* وتتناسب هذه النتائج مع دراسات عدة منها (Karagoz et. al., 2010) (Oussalah et. al., 2006).

بينت النتائج أن فعالية الزنجبيل كانت معنوية ضد تسعة من الأحياء الدقيقة. فضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Enterobacter gergoviae* إذ إنخفض العدد البكتيري من 555 وحدة مكونة للمستعمرات / مل للشاهد إلى 410 وحدة مكونة للمستعمرات / مل عند إضافة مستخلصه المائي، وضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Staphylococcus simulans* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 150 إلى 40 وحدة مكونة للمستعمرات / مل. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية له ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشاهد من 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 48 وحدة مكونة للمستعمرات / مل. ولوحظ أن الفروق المعنوية متواضعة وغير مجدية في التطبيق العملي لمنتجات الأغذية وقد وردت نتائج مشابهة له في دراسات كل من (Patel et.al., 2011) (Chen et. al., 2007).

ثبط المستخلص المائي للكرزيرة نمو إثني عشر من الأحياء الدقيقة. فضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية لها ضد بكتيريا *Enterobacter gergoviae* إذ إنخفض العدد البكتيري من 555 وحدة مكونة للمستعمرات / مل للشاهد إلى 310 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، وضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية لها ضد بكتيريا *Staphylococcus simulans* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 150 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 50 وحدة مكونة للمستعمرات / مل. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية لها ضد عفن *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشاهد من 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 57 وحدة مكونة للمستعمرات / مل، وهذه النتيجة توافق الأبحاث المشابهة ومنها ما توصل له (Kubo, 2004) (Lixandru, 2010).

بينت النتائج أن المستخلص المائي للقرفة أدى إلى تثبيط خمسة عشر من الأحياء الدقيقة. وضمن مجموعة البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أفضل فعالية ضد بكتيريا *Enterobacter gergoviae* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 555 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 250 وحدة مكونة للمستعمرات / مل مع المستخلص. وضمن البكتيريا الموجبة كانت أفضل فعالية له ضد بكتيريا *Listeria ivanovii* حيث إنخفض العدد البكتيري للشاهد من 170 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 10 وحدة مكونة للمستعمرات / مل. وضمن مجموعة الفطريات من أعفان وخميرة كانت أفضل فعالية له ضد عفني *Penicillium* و *Rhizopus* حيث إنخفض العدد الكلي للشواهد من 164 و 222 وحدة مكونة للمستعمرات / مل إلى 10 و 27 وحدة مكونة للمستعمرات / مل على التوالي (Lopez et. al., 2003) (Lopez et. al., 2005).

لدى مقارنة تأثير المستخلصات المائية للنباتات المختبرة على المجموعات الميكروبية الثلاث يلاحظ بأن الفطور والخميرة كانت الأكثر حساسية حيث أنه وباستثناء مستخلص الزنجبيل فإن جميع المستخلصات الأخرى قامت بتثبيط الفطور والخميرة وبقيم معنوية معقولة. وتبين النتائج أن البكتيريا السالبة لصبغة غرام كانت أكثر حساسية لعملية التثبيط في حين أن البكتيريا الموجبة لصبغة غرام كانت الأكثر مقاومة لعملية التثبيط وهذا يطابق ما توصل إليه (Oussalah et al.,)

(2006). من جهة أخرى سجلت بكتيريا *Citrobacter freundii* و *Salmonella arizonae* أكبر مقاومة ضد المستخلصات المائية من بين البكتيريا السالبة لصبغة غرام حيث أن المعنوية الأكبر في التثبيط كانت لمستخلص الزعتر في حين أن بقية المستخلصات لم تثبطها أو تثبطت بقيم معنوية منخفضة. وعلى العكس من ذلك كانت بكتيريا *Enterobacter gergoviae* هي الأكثر حساسية لعملية التثبيط من بين هذه المجموعة (Blair and Piddock, 2009) (Fadli et al., 2011). أما ضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام فقد بدت معظم الأنواع مقاومة لعملية التثبيط باستثناء تثبيط مستخلص الزعتر. في حين بدت كل من بكتيريا *Staphylococcus simulans* وبكتيريا *Streptococcus bovis* الأكثر حساسية لعملية التثبيط في هذه المجموعة، وبما يتوافق مع نتائج دراسة (Vivek et al., 2007) (Adeleye et al., 2003).

بين فطر *Penicillium* أكبر مقاومة للتثبيط ضد المستخلصات المائية في حين كان فطر *Rhizopus* هو الأكثر حساسية للتثبيط وجاءت خميرة *Saccharomyces* بين الفطرين. وتعد الفطور والخمائر أكثر تأثرا من البكتيريا بمثل هذا التثبيط. وكان أكثر المستخلصات تأثير مستخلص القرفة والزعتر (El-Baroty et al., 2010) (Boyraz and Ozcan, 2006).

لإختيار أفضل خمس مستخلصات مائية اعتمدت عدة معايير أولها قدرة المستخلص على تثبيط كافة أنواع الميكروبات، والثاني نسبة التثبيط في التطبيق العملي لا يكفي أن يكون هناك فرق معنوي للتثبيط بل إن قدرة المستخلص يجب أن تصل إلى نصف العدد الميكروبي تقريبا حتى تكون عملية (Jongenburger et al., 2012). بالإضافة إلى البعد الكيميائي المحتمل للمستخلص ومدى تقبله حسيا لدى المستهلك، أو أي تأثيرات حسية خاصة على اللون والرائحة.

إختير الزعتر أولا لتمييزه في عملية التثبيط وقدرته المتوقعة كمضاد أكسدة بالإضافة لتقبله لدى المستهلك الأردني. اختيرت القرفة والكزبرة في المرتبتين الثانية والثالثة كون كلا المستخلصين كانت في المرتبة التالية بعد الزعتر بالإضافة لقدرتهما على تثبيط ثمانية ميكروبات بنسبة تزيد عن 40% من العدد الموجود في الشاهد. اختيرت الميرمية في المرتبة الرابعة لقدرتها على تثبيط احد عشر ميكروبا بشكل فاعل، خمسة منها بنسبة تزيد عن 40%. وكان الخيار محيرا بين إكليل

الجبل والفلل الأسود لاختيار المستخلص الخامس. ففي حين أن كليل الجبل ثبت سبع من الميكروبات بشكل فاعل أربع منها بنسبة تزيد عن 40% ، إضافة لما يمتلكه من قدرة معروفة كمضاد قوي للأكسدة، فإن الفلل الأسود ثبت ست من الميكروبات بشكل فاعل خمسة منها بنسبة تزيد عن 40%، بالإضافة لكونه احد مكونات البهارات الرئيسة للمرتديلا، لذا اختير المستخلصان ليصبح عدد المستخلصات التي ستستخدم في المرحلة المقبلة ستة بدل خمسة.

3. المرحلة الثالثة: نتائج دراسة اثر المستخلصات المائية المنتخبة على صفات

الجودة لشرائح المرتديلا الأردنية:

3 . 1 : معاملة شرائح المرتديلا بالمستخلصات المائية (النقع):

نقعت شرائح المرتديلا في المستخلصات لمدة دقيقة واحدة مع التحريك لضمان وصول المستخلص المائي إلى جميع اجزاء السطح الخارجي، حيث يتركز المحتوى الميكروبي. اعتمدت دقيقة واحدة كونها كافية لتأثيرها المباشر على الميكروبات (Theivendran et. al., 2006).

3 . 2 : نتائج التقييم الحسي للمرتديلا المعاملة:

يبين الجدول (10) نتائج التقييم الحسي لشرائح المرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست كل على حدة مع عينة الشاهد غير المعاملة والتي أجريت بإستخدام إختبار Hedonic scale.

جدول (10): نتائج التقييم الحسي لشرائح المرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست

العينات المختلفة حسب نوع المستخلص المائي						الشاهد	الصفات الحسية
كزبرة	زعر	إكليل جبل	فلل اسود	ميرمية	قرفة		
ab 7.6 ±1.30	d 7 ±0.76	b 7.5 ±1.21	c 7.3 ±1.33	e 6.4 ±0.72	b 7.5 ±1.0	a 7.7 ±1.43	اللون
ab 7.7 ±1.21	ab 7.7 ±0.36	ab 7.7 ±1.23	c 8 ±1.13	b 7.2 ±0.82	b 7.8 ±1.2	a 7.6 ±1.22	الطعم
b 7.6 ±1.10	a 8 ±0.56	a 7.8 ±1.01	b 8.2 ±1.0	c 7 ±0.80	b 8.2 ±1.0	a 7.9 ±1.14	الرائحة
a 7.6	a 7.6	a 7.7	a 7.8	b 6.9	a 7.8	a 7.7	المتوسط العام

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس السطر عند مستوى 0.05%.

* عدد المقيمين اثني عشر مقيماً مختصاً في علوم الاغذية.

يلاحظ من خلال الجدول أن أكبر تغيير في التقييم كان من حيث اللون بسبب التأثير المباشر لسطح الشرائح بالمستخلصات المائية. تتناسب التقييم الحسي مع شدة تغير اللون فكان أقل الفروقات المعنوية بين الشاهد ومستخلص الكزبرة لعدم تأثير الأخيرة في اللون بشكل معنوي، بينما كان مستخلصا الميرمية والزعرتر هما الأكثر تأثيرا في اللون وتحول سطح المرتديلا للون داكن نسبيا. لم تكن هناك فروقات معنوية في الطعم وذلك لضعف نكهة المستخلصات إلا في حالة نكهة مستخلص الفلفل الأسود الذي قبل بشكل أفضل من الشاهد وذلك لطعمه المرغوب والمألوف مع المرتديلا. انفردت القرفة برائحة مرغوبة عن الشاهد وبفرق معنوي خلافا لبقية المستخلصات التي تراوحت بين عدم الفرق أو بوجود قبول أقل مقارنة بالشاهد. ولكن وبمحصلة المتوسط العام لم يكن هناك فروقات معنوية بين الشاهد وبقية العينات المعاملة بالمستخلصات المائية إلا في حالة الميرمية التي اظهرت متوسطا أقل من الشاهد. وبكل الأحوال لم تكن قيم القبول عالية للشاهد والعينات وذلك عائد إلى أن المرتديلا الأردنية المستخدمة كشاهد غير حاوية على بهارات وهي غير مقبولة بشكل كبير لدى المستهلك السوري حيث تم التقييم الحسي العام.

3. 3 : التغيرات الحسية للمرتديلا المعاملة خلال التخزين المبرد:

إتصفت شرائح المرتديلا الأردنية المستخدمة باللون الوردي الزاهي إلى الوردي المحمر وذلك بسبب إضافة ألوان صناعية لها. وكانت الرائحة والطعم طبيعيين يغلب عليهما طعم اللحم كون المرتديلا لا تحوي بهارات مضافة. تميز قوامها بالتماسك والصلابة النسبية مما يدل على احتوائها على مواد مالئة ومثخنة للقوام بنسب عالية نسبيا. أدت إضافة المستخلصات المائية للنباتات إلى تغيرات مباشرة في اللون والطعم بشكل أساسي. أعطت مستخلصات الزعرتر والميرمية لونا داكنا ملحوظا، بينما أدى مستخلص القرفة إلى تكون لون زاهي للمرتديلا. خلال التخزين وبعد مرور ثلاثة أيام لم يتم ملاحظة فروق معنوية غير أن عينة الشاهد بدت أكثر جفافا من بقية العينات. وبعد مرور خمسة أيام لوحظ انبعاث رائحة تزنج من عينة الشاهد وعينات كل من إكليل الجبل والقرفة والفلفل في حين أن رائحة الزعرتر والميرمية كانت لا تزال قوية. أما عينة الكزبرة فلم تتبعث منها أي روائح غريبة. (Estevez et. al., 2007) (Mariutti et. al., 2011).

بعد عشرة أيام على التخزين ظهرت روائح الفساد واضحة في معظم العينات عدا عينة الزعتر. وفي نهاية التخزين لوحظ تدهور سريع للصفات الحسية لجميع العينات كانت أشدها في عينة الشاهد.

3 . 4 : نتائج الإختبارات الميكروبية للمرتديلا المعاملة خلال التخزين المبرد:

تبين الجداول (11) إلى (14) نتائج الإختبارات الميكروبية المختلفة لشرائح المرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست مع الشاهد بعد 0 و 3 و 7 و 10 و 15 يوم من التخزين المبرد.

جدول (11): نتائج التعداد الكلي للبكتيريا للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست

التعداد الكلي للبكتيريا وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
15 يوم	10 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a $10 < 9$	a $10 < 9$	a 10×4^6	a 10×2.3^4	a 10×1.4^2	شاهد غير معام
c 10×8.4^6	e 10×2.1^5	c 10×9^3	c 10×5^2	d 10	مرتديلا بمستخلص القرفة
b 10×2.3^7	d 10×1.2^6	b 10×1^5	c 10×5.1^2	d 10	مرتديلا بمستخلص الميرمية
a $10 < 9$	c 10×6^6	b 10×9^4	b 10×7^3	c 10×5^1	مرتديلا بمستخلص الفلفل الأسود
a $10 < 9$	b 10×8.4^6	b 10×1.1^5	b 10×8^3	b 10×6.4^1	مرتديلا بمستخلص إكليل الجبل
e 10×2.1^6	ef 10×3.4^4	d 10×8^2	c 10×1.2^1	d $10 >$	مرتديلا بمستخلص الزعتر
d 10×5^6	e 10×9^4	cd 10×1.2^3	c 10×3^2	d 10	مرتديلا بمستخلص الكزبرة

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (12): نتائج التعداد الكلي للخمائر والفظور للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست

التعداد الكلي للفظور والخمائر وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
15 يوم	10 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a 10×1.6^4	a 10×1.4^3	a 10×8^1	a $10 >$	a $10 >$	شاهد غير معام
c 10×3.2^2	cd 10×2^1	c $10 >$	a $10 >$	a $10 >$	مرتديلا بمستخلص القرفة
d 10×1.3^1	d 10	c $10 >$	a $10 >$	a $10 >$	مرتديلا بمستخلص الميرمية
bc 10×9^2	c 10×5^1	c 10	a $10 >$	a $10 >$	مرتديلا بمستخلص الفلفل الأسود
b 10×8^3	b 10×6.4^2	b 10×6^1	a $10 >$	a $10 >$	مرتديلا بمستخلص إكليل الجبل
d 10×1.2^1	d 10	c $10 >$	a $10 >$	a $10 >$	مرتديلا بمستخلص الزعتر
c 10×7^2	cd 10×2^1	c 10	a $10 >$	a $10 >$	مرتديلا بمستخلص الكزبرة

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (13): نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست

التعداد الكلي للكوليفورم وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
15 يوم	10 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a ⁶ 10 x2.4	a ⁵ 10 x1.3	a ³ 10 x 4	a ¹ 10 x7.2	a ¹⁰ >	شاهد غير معاملة
ef ³ 10 x3.2	f ² 10 x1.2	d ¹⁰	e ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص القرفة
b ⁶ 10 x1	b ⁴ 10 x2.1	b ² 10 x9	b ¹ 10 x4.1	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الميرمية
c ⁵ 10 x7.2	c ³ 10 x2	bc ² 10 x5.5	c ¹ 10 x 2	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الفلفل الأسود
d ⁴ 10 x 8	cd ³ 10 x1.4	bc ² 10 x 1	d ¹ 10 x1.7	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص إكليل الجبل
f ³ 10 x1.4	e ¹ 10 x 8	d ¹⁰ >	e ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الزعتر
e ³ 10 x8.7	de ² 10x6.8	c ¹ 10 x 6	e ¹⁰	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الكزبرة

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (14): نتائج بكتيريا *Staph. aureus* للمرتديلا المعاملة بالمستخلصات الست

تعداد بكتيريا <i>Staph. aureus</i> وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
15 يوم	10 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	شاهد غير معاملة
a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص القرفة
a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الميرمية
a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الفلفل الأسود
a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص إكليل الجبل
a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الزعتر
a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا بمستخلص الكزبرة

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

تبين من خلال النتائج الموجودة في جدول (11) أن معاملة شرائح المرتديلا بالمستخلصات المائية أدى إلى انخفاض التعداد العام للبكتيريا بشكل مباشر. حقق مستخلص الزعتر والقرفة والميرمية والكزبرة أفضل نتائج مباشرة في عملية التخفيض في حين أن مستخلص إكليل الجبل كان الأقل تخفيضاً لهذا العدد.

بمتابعة التعداد العام للبكتيريا خلال فترة التخزين نلاحظ أنه وبعد ثلاثة أيام إرتفع العدد البكتيري في الشاهد والعينات المعاملة عدا مستخلصات الزعتر والكزبرة والميرمية والقرفة، فقد حققت هذه المستخلصات نجاحاً في تثبيط النمو الميكروبي بدرجة معنوية واضحة، ولكن مؤشرات العدد البكتيري بعد 7 أيام من التخزين تؤكد أن المستخلصات بدأت بفقدان القدرة على التأثير في

العدد المتزايد رغم التفاوت بينها في ذلك إلا ان الزعتر والكزبرة حققا أفضل نتائج لفترة سبع أيام. بعد عشر أيام لوحظ تلاشي قدرة مستخلصات النباتات في التأثير وكان التفاوت في العدد الميكروبي ما هو نتيجة طبيعية لتفاوت التعداد وتنشيطه من البداية. أصبحت جميع العينات مرفوضة ميكروبيا من حيث التعداد العام للبكتيريا عدا المحتوية على مستخلصات الزعتر والكزبرة فقط، وهذا يوافق ما توصل اليه (Oussalah *et. al.*, 2006).

جاءت نتائج تعداد الخمائر والفطور متناسبة مع التعداد الكلي للبكتيريا مع تفاوت في نوع المستخلص الأكثر تأثيرا. ففي حين حافظ الزعتر على تميزه أظهر مستخلص الميرمية تأثيرا مضادا للفطور والخمائر يماثل إلى حد ما مستخلص الزعتر وهذا يتناسب مع نتائج هذا المستخلص في مرحلة التضاد الميكروبي. أظهر إكليل الجبل أقل اثر على الفطور والخمائر بتناسب واضح مع نتائجه في مرحلة التضاد الميكروبي أيضا. لوحظ أن النموات على الأطباق المستخدمة للاختبار تشمل الفطور والخميرة مع سيادة واضحة للخميرة على حساب الفطر، وهذا يوافق ما توصل اليه العديد من العلماء من بينهم (Lopez *et. al.*, 2005).

يتضح من خلال الجدول (13) تناسب قدرة المستخلصات المائية مع نتائج التضاد الميكروبي في المرحلة السابقة. حيث حقق الزعتر أفضل فاعلية ضد بكتيريا الكوليفورم تلاه مستخلص القرفة فالكزبرة واحتل مستخلص الميرمية المرتبة الأخيرة. ومن خلال الجدول (14) يتضح خلو العينات من بكتيريا *Staph. aureus*، التي بدت حساسة لمعظم المستخلصات المائية بما فيها الميرمية بما يتوافق مع (Generalic *et.al.*, 2012).

لتحديد أفضل مستخلصات من حيث قدرتها على الحفاظ على صفات الجودة الميكروبية نجد أن مستخلص الزعتر قد حل أولا في جميع الاختبارات الميكروبية، بينما تفاوتت مستخلصات الكزبرة والقرفة والميرمية على المرتبة الثانية، فتميز مستخلص الكزبرة بعد الزعتر في حال التعداد العام وتميز مستخلص الميرمية في حال الفطور والخمائر وجاء مستخلص القرفة ثانيا في اختبار بكتيريا الكوليفورم. وسيعتمد اختيار احد هذه المستخلصات على بقية نتائج اختبارات الجودة الحسية والفيزيائية والكيميائية.

3 . 5 : نتائج الإختبارات الكيميائية للمرتديلا المعاملة خلال التخزين المبرد:

3 . 5 . 1 : نتائج إختبار حمض الثيوباربوتريك TBA:

يبين الجدول (15) نتائج إختبار TBA خلال التخزين المبرد من 0 إلى 15 يوم.

جدول (15): نتائج إختبار حمض الثيوباربوتريك TBA

قيم TBA مقدرة بالملغرام مالونالديهيد / كغم بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
15 يوم	10 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a 1.71 ±0.010	a 1.6 ±0.010	a 1.34 ±0.012	a 1.29 ±0.011	a 1.27 ±0.01	شاهد غير معام
d 1.43 ±0.010	cd 1.36 ±0.012	bc 1.25 ±0.011	c 1.19 ±0.012	bc 1.09 ±0.01	مرتديلا بمستخلص القرفة
e 1.36 ±0.011	de 1.31 ±0.010	d 1.20 ±0.010	d 1.13 ±0.013	cd 1.06 ±0.02	مرتديلا بمستخلص الميرمية
b 1.61 ±0.010	b 1.52 ±0.010	b 1.29 ±0.010	c 1.20 ±0.011	bc 1.10 ±0.01	مرتديلا بمستخلص الفلفل الأسود
e 1.37 ±0.012	de 1.29 ±0.010	cd 1.21 ±0.011	e 1.11 ±0.010	cd 1.05 ±0.02	مرتديلا بمستخلص إكليل الجبل
f 1.32 ±0.010	e 1.28 ±0.010	e 1.12 ±0.012	f 1.09 ±0.011	d 1.01 ±0.01	مرتديلا بمستخلص الزعتر
c 1.56 ±0.010	c 1.41 ±0.010	bc 1.29 ±0.011	b 1.23 ±0.011	b 1.16 ±0.01	مرتديلا بمستخلص الكزبرة

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيمة TBA هي معدل لثلاث مكررات.

يتضح أن قيم TBA للشاهد بدت معقولة في بداية التقطيع وتزايدت مع التخزين المبرد بشكل مضطرد. أدت الإضافة المباشرة لجميع المستخلصات إلى خفض قيم TBA المؤشرة على خفض نسب التزنخ. حقق مستخلص الزعتر أفضل تخفيض في قيم TBA مباشرة بعد المعاملة وخلال مدة التخزين، تلاه مستخلص إكليل الجبل بفاعلية ملحوظة عن بقية المستخلصات. جاءت الميرمية في المرتبة الثالثة تلاها مستخلص القرفة بفاعلية جيدة. لوحظ تراجع مستخلص الكزبرة في الفاعلية ضد الأكسدة رغم تميزه في الفاعلية التثبيطية ضد التعداد العام للبكتيريا في الإختبارات الميكروبية وهذا يتوافق مع نتائج لبحث (Samojlik et. al., 2010).

3 . 5 . 2 : نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH:

يبين الجدول (16) قيم الرقم الهيدروجيني خلال تخزين شرائح المرتديلا المعاملة بالمستخلصات المائية المختلفة بعد 0 و 3 و 7 و 10 و 15 يوم من التخزين المبرد. يتضح أن قيم الرقم الهيدروجيني إرتفعت للشاهد والعينات الأخرى مع نهاية فترة التخزين وذلك مرتبط بالأساس بزيادة الحمل الميكروبي. ولم تسجل المستخلصات انخفاضا عمليا في قيم الرقم الهيدروجيني بعد المعاملة المباشرة، وكانت الفروق المعنوية محدودة بين الشاهد وجميع المستخلصات. وارتبط الفرق أساسا بالفرق في المحتوى الميكروبي العام فكلما كان المحتوى الميكروبي مرتفعا إرتفعت قيم الرقم الهيدروجيني، ويدل على ذلك أن أكثر الفروق المعنوية وضوحا كانت بين الشاهد وبقية العينات في نهاية مدة التخزين، وقد اورد هذا التفسير العديد من البحوث منها (Hussein, 2002).

جدول (16): نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH

المعاملات المختلفة	قيم الرقم الهيدروجيني pH بعد مدة تخزين				
	0 يوم	3 يوم	7 يوم	10 يوم	15 يوم
شاهد غير معاملة	a 6.47 ±0.01	a 6.48 ±0.01	a 6.51 ±0.01	a 6.52 ±0.01	a 6.55 ±0.01
مرتديلا بمستخلص القرفة	a 6.47 ±0.01	b 6.46 ±0.01	c 6.47 ±0.01	bc 6.50 ±0.01	b 6.52 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الميرمية	b 6.45 ±0.01	b 6.46 ±0.01	bc 6.48 ±0.01	c 6.49 ±0.01	c 6.50 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الفلفل الأسود	ab 6.48 ±0.01	ab 6.49 ±0.01	bc 6.48 ±0.01	ab 6.51 ±0.01	b 6.52 ±0.01
مرتديلا بمستخلص إكليل الجبل	ab 6.46 ±0.01	ab 6.47 ±0.01	b 6.49 ±0.01	c 6.49 ±0.01	bc 6.51 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الزعتر	ab 6.48 ±0.01	ab 6.47 ±0.01	b 6.49 ±0.01	c 6.49 ±0.01	c 6.50 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الكزبرة	ab 6.46 ±0.01	a 6.48 ±0.01	bc 6.48 ±0.01	bc 6.5 ±0.01	b 6.52 ±0.01

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيم الرقم الهيدروجيني pH هي معدل لثلاث مكررات.

3 . 5 . 3 : نتائج تقدير الرطوبة:

يبين الجدول (17) قيم الرطوبة خلال تخزين شرائح المرتديلا المعاملة بالمستخلصات المائية المختلفة بعد 0 و 3 و 7 و 10 و 15 يوم من التخزين المبرد.

جدول (17): نتائج تقدير الرطوبة للمعاملات الست

قيم الرطوبة % بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
15 يوم	10 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a 62.1 ±0.1	a 62.0 ±0.1	a 62.2 ±0.1	a 62.1 ±0.1	a 62.1 ±0.1	شاهد غير معامل
bc 63.3 ±0.1	cd 63.4 ±0.1	c 63.4 ±0.1	ab 63.3 ±0.1	cd 63.4 ±0.1	مرتديلا بمستخلص القرفة
d 63.5 ±0.1	cd 63.4 ±0.1	c 63.5 ±0.1	d 63.5 ±0.1	d 63.5 ±0.1	مرتديلا بمستخلص الميرمية
bc 63.2 ±0.1	b 63.2 ±0.1	b 63.2 ±0.1	b 63.3 ±0.1	b 63.2 ±0.1	مرتديلا بمستخلص الفلفل الأسود
cd 63.4 ±0.1	d 63.5 ±0.1	c 63.4 ±0.1	d 63.5 ±0.1	d 63.5 ±0.1	مرتديلا بمستخلص إكليل الجبل
b 63.1 ±0.1	b 63.2 ±0.1	b 63.2 ±0.1	b 63.2 ±0.1	b 63.2 ±0.1	مرتديلا بمستخلص الزعتر
bc 63.3 ±0.1	bc 63.3 ±0.1	b 63.2 ±0.1	cd 63.4 ±0.1	bc 63.3 ±0.1	مرتديلا بمستخلص الكزبرة

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيم الرطوبة هي معدل لثلاث مكررات.

يبين الجدول أن معاملة شرائح المرتديلا بالمستخلصات المائية أدى إلى ارتفاع نسبة الرطوبة بسبب الماء العالق من النقع. لم تتخفض رطوبة الشاهد والمعاملات المختلفة خلال التخزين لحفظها في البراد وفي عبوات لا تسمح بتبخر الماء بدرجة كبيرة. رغم وجود اختلافات بين الشاهد والمعاملات في نسبة الرطوبة إلا أن الاختلاف بين المعاملات ذاتها في بداية المعاملة أو حتى مع نهاية مرحلة التخزين كانت محدودة، ويمكن تفسير الفروق المعنوية الحسابية في الجدول بين المعاملات المختلفة باختلاف كمية الماء العالقة بالشرائح من عينة لأخرى.

3 . 6: انتخاب أفضل المستخلصات للمرحلة التالية (المرحلة الرابعة):

يتضح من خلال جميع النتائج الحسية والميكروبية والكيميائية السابقة أن مستخلص الزعتر كان الأفضل من بينها. ومع ذلك فإن السلبية الوحيدة التي سجلت عليه كانت بتغيير لون سطح شرائح المرتديلا ليصبح داكنا واقل قبولا من الشاهد (الجدول 10).

برزت في النتائج الميكروبية مستخلصات الكزبرة والقرفة والميرمية لتحل المرتبة الثانية بعد الزعتر في الاختبارات المختلفة. بينما حقق مستخلص إكليل الجبل نتائج متميزة بعد الزعتر في اختبار التزنخ TBA، مع ملاحظة أن نتائج مستخلصات القرفة والميرمية كانت أيضا جيدة.

تتحكم الصفات الحسية للمنتج النهائي في انتخاب أفضل المستخلصات، حيث لا يمكن اختيار الزعتر لوحده لنكهته الحادة وتأثير مستخلصه على لون المرتديلا، وللاعتبار ذاته لا بد من استثناء مستخلص الميرمية ليستخدم مع مستخلص الزعتر. وتبرز الكزبرة هنا لعدم تأثيرها على اللون، ولكن مستخلص القرفة تفوق على مستخلص الكزبرة بأثره على البكتيريا السالبة لصبغة غرام. في حين يمكن استثناء إكليل الجبل لقدرة الزعتر على القيام بعمله كمضاد للأكسدة.

ومن هنا تم انتخاب مستخلص الزعتر كأفضل مستخلص. وأضيف له مستخلصا القرفة والكزبرة ليتم تحديد أفضلهما في المرحلة التالية من البحث، وتفوق مستخلص الزعتر لم يكن غريبا في نتائج هذه الدراسة لتفوقه على العديد من المستخلصات العطرية في العديد من الدراسات ومنها ما توصل له (Oussalah *et. al.*, 2006).

4. المرحلة الرابعة: نتائج مرحلة تحديد المستخلص الأمثل من حيث النوع والتركيز

ودرجة حرارة المعاملة:

4 . 1 : نتائج تحديد نوع المستخلص الأفضل:

4 . 1 . 1: النتائج الميكروبية لتحديد نوع المستخلص الأفضل:

تبين الجداول (18) إلى (20) نتائج التعداد العام للبكتيريا وتعداد الفطور والخمائر وتعداد الكوليفورم للمستخلصات الثلاث (الزعتر والكزبرة والقرفة) وخططاتها المختلفة. حيث أن نتيجة اختيار بكتيريا *Staph. aureus* كان سلبى لجميع المعاملات وضمنها الشاهد. خزنت العينات وأخذت النتائج بعد 0 و 3 و 7 أيام فقط ولم تستخدم مدة أطول كما في المرحلة السابقة لان الهدف هنا اخذ مؤشرات للحفاظ على صفات الجودة أكثر منه دراسة الصفات التخزينية للمستخلصات والتي درست في المرحلة السابقة وستدرس مع المستخلص الأمثل في المرحلة المقبلة.

جدول (18): نتائج التعداد الكلي للبكتيريا لانتخاب أفضل نوع مستخلص مائي

المعاملات المختلفة			التعداد الكلي للبكتيريا وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
7 يوم	3 يوم	0 يوم	
^a 10 x 5	^a 10 x 4.3	^a 10 x 2.1	شاهد غير معامل
^c 10 x 9	^e 10 x 1.4	^f 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر
^c 10 x 1	^{de} 10 x 5.1	^{de} 10 x 1.4	مرتديلا بمستخلص الكزبرة
^c 10 x 1	^b 10 x 7	^b 10 x 5	مرتديلا بمستخلص القرفة
^f 10 x 9	^e 10	^f 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر والكزبرة 1:1
^d 10 x 8	^{de} 10 x 1.2	^{ef} 10	مرتديلا بمستخلص الزعتر والقرفة 1:1
^b 10 x 4.2	^c 10 x 8	^c 10 x 2.4	مرتديلا بمستخلص القرفة والكزبرة 1:1
^c 10 x 3.1	^d 10 x 6	^{cd} 10 x 2.1	مستخلص من النباتات الثلاث 1:1:1

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (19): نتائج تعداد الفطور والخميرة لانتخاب أفضل نوع مستخلص مائي

المعاملات المختلفة			تعداد الفطور والخميرة وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
7 يوم	3 يوم	0 يوم	
^a 10 x 4	^a 10 x 7.2	^a 10 >	شاهد غير معامل
^d 10	^e 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر
^{bc} 10 x 5.5	^c 10 x 2	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الكزبرة
^b 10 x 9	^b 10 x 4.1	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص القرفة
^d 10 >	^e 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر والكزبرة 1:1
^{bc} 10 x 1	^d 10 x 1.7	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر والقرفة 1:1
^c 10 x 6	^e 10	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص القرفة والكزبرة 1:1
^{cd} 10 x 4	^e 10	^a 10 >	مستخلص من النباتات الثلاث 1:1:1

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (20): نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم لانتخاب أفضل نوع مستخلص مائي

المعاملات المختلفة			تعداد بكتيريا الكوليفورم وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
7 يوم	3 يوم	0 يوم	
^a 10 x 1.2	^a 10 >	^a 10 >	شاهد غير معامل
^f 10 >	^a 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر
^b 10 x 2.7	^a 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الكزبرة
^c 10	^a 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص القرفة
^{de} 10 x 1.1	^a 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر والكزبرة 1:1
^f 10 >	^a 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص الزعتر والقرفة 1:1
^d 10 x 1.3	^a 10 >	^a 10 >	مرتديلا بمستخلص القرفة والكزبرة 1:1
^c 10 x 2	^a 10 >	^a 10 >	مستخلص من النباتات الثلاث 1:1:1

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

من خلال الجدول (18) يتضح أن مستخلص خليط الزعتر والكزبرة أعطت أفضل نتيجة وتفوقت على مستخلص الزعتر منفرداً، ويبدو أن المواد الفعالة في المستخلصين عملت بشكل متآزر ضد البكتيريا فأعطت هذه النتيجة الفاعلة. وتكررت النتيجة في حال تعداد الفطور والخميرة. ولكن مستخلص القرفة مع الزعتر تفوق في حالة بكتيريا الكوليفورم المبينة نتائجها في الجدول (20) في حين أن نتيجة الزعتر وخليط الزعتر والكزبرة لم تبتعد عن نتيجة القرفة كثيراً، فانخفض عدد بكتيريا الكوليفورم من $10^2 \times 1.2$ في الشاهد بعد سبع أيام من التخزين إلى 11 وحدة مكونة للمستعمرات / غ في العينة المعاملة بمستخلص خليط الزعتر والكزبرة، وهذا يتوافق مع ما ذكره (Lixandru, 2010).

4 . 1 . 2: النتائج الكيميائية لتحديد نوع المستخلص الأفضل:

يبين الجدول (21) نتائج إختبار TBA بعد 0 و 3 و 7 أيام من التخزين والمعاملة بأنواع المستخلصات السابقة. توضح النتائج أن خليط مستخلص الزعتر والكزبرة كان لها أفضل تأثير مباشر على شرائح المرتديلا وخلال التخزين المبرد لمدة 7 أيام. ويمكن تفسير ذلك بتآزر المركبات الفعالة في مستخلصيهما لإحداث هذا الأثر المضاد للأوكسدة، كما ذكر (Aazza et. al., 2011).

جدول (21): نتائج إختبار TBA لتحديد نوع المستخلص الأفضل

المعاملات المختلفة			قيم TBA مقدرة بالملغرام مالونالديهيد / كغم بعد مدة تخزين
	0 يوم	3 يوم	7 يوم
شاهد غير معاملة	a 1.29 ±0.01	a 1.30 ±0.01	a 1.35 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الزعتر	d 1.05 ±0.01	c 1.10 ±0.01	c 1.13 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الكزبرة	bc 1.17 ±0.01	ab 1.25 ±0.01	a 1.31 ±0.01
مرتديلا بمستخلص القرفة	b 1.19 ±0.01	a 1.28 ±0.01	a 1.33 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الزعتر والكزبرة 1:1	e 0.98 ±0.01	d 0.98 ±0.01	d 1.04 ±0.01
مرتديلا بمستخلص الزعتر والقرفة 1:1	cd 1.11 ±0.01	b 1.19 ±0.01	b 1.24 ±0.01
مرتديلا بمستخلص القرفة والكزبرة 1:1	bc 1.17 ±0.01	a 1.27 ±0.01	ab 1.30 ±0.01
مستخلص من النباتات الثلاث 1:1:1	d 1.10 ±0.01	c 1.12 ±0.01	c 1.15 ±0.01

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيمة TBA هي معدل لثلاث مكررات.

لم تختلف نتائج الرقم الهيدروجيني عن نتائج المرحلة السابقة ولم تكن هناك فروق معنوية بعد المعاملة المباشرة بالمستخلصات. وانحصرت الفروق المعنوية لتتناسب طرديا مع ارتفاع التعداد الكلي للبكتيريا وكننتيجة مباشرة له فقط (Hussein, 2002).

ارتفعت نسبة الرطوبة بعد المعاملة مباشرة بالمستخلصات بنسبة 1 إلى 1.5% تقريبا بين الشاهد وكافة المعاملات ولم تكن هناك فروق معنوية بين المعاملات نفسها إلا بمقدار اختلاف العالق المتبقي على سطح شرائح المرتديلا من المستخلص نفسه، كما لم تسجل الرطوبة إنخفاضا ملموسا خلال التخزين المبرد، وهذا ينسجم مع نتائج المرحلة السابقة بهذا الخصوص.

4 . 1 . 3: النتائج الحسية لتحديد نوع المستخلص الأفضل:

أحدث مستخلص الزعتر أكبر تغير في اللون حيث تحول لون العينات المعاملة به إلى اللون الداكن تلاه مزيج مستخلص الزعتر والقرفة فمستخلص مزيج النباتات الثلاثة. لم يؤدي مستخلص الكزبرة إلى أي تغيرات في اللون في حين أن التغيرات التي أحدثها خليط مستخلص الزعتر والكزبرة كان متوسطا إذا ما قورن بالشاهد والمستخلصات التي أحدثت لونا داكنا. أعطى مزيج مستخلص الزعتر والكزبرة طعما مميزا للمرتديلا ورائحة تغلب عليها رائحة الزعتر النفاثة. بدت علامات الفساد واضحة في عينة الشاهد ومعظم المعاملات الأخرى، ولكن عينة الزعتر وعينة مزيج الزعتر والكزبرة احتفظت بمظاهر الجودة من حيث اللون والرائحة وعدم وجود أي مظاهر فساد على السطح كالفطور وتغيرات اللون والجفاف وغيرها، وهذا يتوافق مع نتائج (Stivariusa et.al., 2002).

4 . 1 . 4: تحديد نوع المستخلص الأفضل:

يتضح من خلال النتائج الميكروبية خاصة التعداد الكلي للبكتيريا وتعداد الخمائر والفطور، ومن خلال النتائج الحسية الفيزيائية والنتائج الكيميائية خاصة إختبار TBA أن مستخلص مزيج الزعتر والكزبرة كان الأفضل ومن هنا اختير هذا المستخلص كمستخلص أمثل للعمل عليه في الخطوة التالية لتحديد أفضل تركيز منه وأفضل درجة حرارة للنقع.

4 . 2 : نتائج تحديد تركيز المستخلص الأفضل:

4 . 2 . 1: النتائج الميكروبية لتحديد تركيز المستخلص الأفضل:

تبين الجداول (22) إلى (24) نتائج التعداد العام للبكتيريا وتعداد الفطور والخمائر وتعداد الكوليفورم لتراكيز المستخلص الأمثل (مستخلص الزعتر والكزبرة 1:1) الثلاث والشاهد. حيث أن نتيجة اختيار بكتيريا *Staph. aureus* كان سلبي لجميع المعاملات. خزنت العينات وأخذت النتائج بعد 0 و 3 و 7 أيام فقط كما في الخطوة السابقة.

جدول (22): نتائج التعداد الكلي للبكتيريا لانتخاب أفضل تركيز مستخلص مائي

المعاملات المختلفة			التعداد الكلي للبكتيريا وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
0 يوم	3 يوم	7 يوم	
10×2.4^a	10×5.3^a	10×4^a	شاهد غير معاملة
$10 >^c$	10×1.4^c	10×9^c	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل غير مخفف
$10 >^c$	10×1.3^c	10×8.5^c	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 1:1
10×5^b	10×7^b	10×1^b	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 2:1

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (23): نتائج تعداد الفطور والخميرة لتحديد أفضل تركيز مستخلص مائي

المعاملات المختلفة			تعداد الفطور والخميرة وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
0 يوم	3 يوم	7 يوم	
$10 >^a$	10×7.2^a	10×4^a	شاهد غير معاملة
$10 >^a$	$10 >^c$	10 ^c	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل غير مخفف
$10 >^a$	$10 >^c$	10 ^c	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 1:1
$10 >^a$	10×4.1^b	10×9^b	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 2:1

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (24): نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم لتحديد أفضل تركيز مستخلص مائي

تعداد بكتيريا الكوليفورم وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة			المعاملات المختلفة
7 يوم	3 يوم	0 يوم	
^a 2 ¹⁰ x 1.2	^a 10	^a 10 >	شاهد غير معامل
^c 10 >	^b 10 >	^a 10 >	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل غير مخفف
^c 10 >	^b 10 >	^a 10 >	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 1:1
^b 10 x 1.6	^a 10	^a 10 >	مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 2:1

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

يتضح من جميع النتائج الميكروبية للجدول الثلاث أعلاه أن تخفيف المستخلص بنسبة 1:1 لم يؤدي إلى أي تغيرات في الفعل الميكروبي المضاد للبكتيريا والفطور والخمائر، وكانت النتائج بين المستخلص الأمثل المكون من خليط الزعتر والكزبرة وتخفيفه بنسبة 1:1 إما متقاربة جدا أو متطابقة. بينت النتائج أيضا أن تخفيف المستخلص بنسبة 1 : 2 أدت إلى انخفاض فاعلية المستخلص تجاه التعداد الكلي للبكتيريا والخمائر والفطور وبكتيريا الكوليفورم، وكانت نتائجه غير مقبولة بحيث انه لم يؤدي لتقليل الأعداد الميكروبية لحدود آمنة. ويتضح من خلال هذه النتائج انه يمكن استخدام التخفيف الأول بنسبة 1 : 1 لإعطاء نفس الفاعلية من الناحية الميكروبية.

4 . 2 . 2: النتائج الكيميائية لتحديد أفضل تركيز من المستخلص:

يبين الجدول (25) نتائج إختبار التزنخ TBA بعد 0 و 3 و 7 أيام من التخزين المبرد والمعاملة بأنواع المستخلصات السابقة.

توافقت نتائج إختبار TBA مع النتائج الميكروبية من حيث تطابق وتقارب نتائج المستخلص الأمثل والمستخلص الأمثل المخفف بنسبة 1 : 1 حيث ثبت كلا المستخلصين التزنخ بشكل مباشر واستمرت فاعليته لمدة أسبوع من التخزين، في حين كانت فاعلية المستخلص المخفف بنسبة 1 : 2 غير مقبولة، ويعود ذلك بالتأكيد لتخفيف نسب المواد الفعالة به وعدم قدرتها على احداث الفعالية المطلوبة بما يتوافق مع ما ذكره (Aazza et. al., 2011).

جدول (25): نتائج إختبار TBA لتحديد أفضل تركيز مستخلص مائي

المعاملات المختلفة			قيم TBA مقدرة بالملغرام مالونالديهيد / كغم بعد مدة تخزين
			0 يوم 3 يوم 7 يوم
شاهد غير معاملة			^a 1.27 ±0.01 ^a 1.31 ±0.01 ^a 1.34 ±0.01
مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل غير مخفف			^c 0.98 ±0.01 ^c 1.00 ±0.01 ^c 1.03 ±0.01
مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 1:1			^c 0.98 ±0.01 ^c 1.01 ±0.01 ^c 1.03 ±0.01
مرتديلا معاملة بالمستخلص الأمثل مخفف 2:1			^b 1.04 ±0.01 ^b 1.21 ±0.01 ^b 1.28 ±0.01

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيمة TBA هي معدل لثلاث مكررات.

لم تختلف نتائج الرقم الهيدروجيني بين العينات المختلفة ولم تكن هناك فروق معنوية بعد المعاملة المباشرة بالمستخلصات. وانحصرت الفروق المعنوية لتتناسب طردياً مع ارتفاع التعداد الكلي للبكتيريا وكنتيجة مباشرة له في نهاية فترة التخزين فقط (Hussein, 2002).

جاءت نتائج تقدير الرطوبة متوافقة مع النتائج السابقة وانحصر الفرق المعنوي بين الشاهد غير المعامل والعينات المختلفة المعاملة بسبب العالق المتبقي على سطح شرائح المرتديلا من المستخلص نفسه، كما لم تسجل الرطوبة انخفاضاً ملموساً خلال التخزين المبرد.

4 . 2 . 3: النتائج الحسية لتحديد تركيز المستخلص الأفضل:

تناسب لون شرائح المرتديلا مع تركيز المستخلص المستخدم ففي حين كان لون الشاهد وريدياً لامعاً جاء اللون متدرجاً في اللون الداكن من المستخلص المخفف بنسبة 1 : 2 فالمخفف بنسبة 1 : 1 فالمستخلص غير المخفف. ولكن لون شرائح المرتديلا كان مقبولاً في جميع العينات وبدرجة أقل في عينة المرتديلا المعاملة بالمستخلص غير المخفف (Stivariusa et.al., 2002).

4 . 2 . 4: تحديد تركيز المستخلص الأفضل:

يتضح من خلال النتائج الميكروبية والحسية الفيزيائية والنتائج الكيميائية أن المستخلص الأمثل المخفف بنسبة 1 : 1 لم تختلف نتائجه عن المستخلص الأمثل غير المخفف، وتفق المستخلص المخفف عن غير المخفف في إعطاء لون أكثر قبولاً لتأثيره الأقل على اللون الطبيعي للمرتديلا، وإذا أضيف لنتائج هذه الإختبارات العوامل الاقتصادية فإن المستخلص الأمثل الاقتصادي يمكن تحضيره بتخفيف المستخلص الأصلي (المحضر أساسا بتركيز 10%) بنسبة 1 : 1 بالماء، أو بتحضير مستخلص بتركيز 5% من مزيج الزعتر والكزبرة (بنسبة 1 : 1 وزنا).

4 . 3 : نتائج تحديد أفضل درجة حرارة نقع:

4 . 3 . 1: النتائج الميكروبية لتحديد أفضل درجة حرارة نقع:

تبين الجداول (26) إلى (28) نتائج التعداد العام للبكتيريا وتعداد الفطور والخمائر وتعداد الكوليفورم للشاهد ولمعاملات نقعت عند ثلاث درجات حرارة هي حرارة الغرفة التي تمثل الظروف العملية ودرجة حرارة البراد (4 - 6°م) ودرجة حرارة 45°م، لدراسة إمكانية أن تكون درجة الحرارة المبردة أو العالية نسبيا عاملا مساعدا لعملية التثبيط. بينت نتيجة اختيار بكتيريا *Staph. aureus* خلو كافة المعاملات وضمنها الشاهد من هذه البكتيريا. خزنت العينات في البراد وأخذت النتائج بعد 0 و 3 و 7 أيام كما في الخطوة السابقة.

جدول (26): نتائج التعداد الكلي للبكتيريا لتحديد أفضل درجة حرارة نقع

المعاملات المختلفة			التعداد الكلي للبكتيريا وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
0 يوم	3 يوم	7 يوم	
$10^{2.4} \times 4^a$	$10^{5.3} \times 4^a$	$10^{6.4} \times 4^a$	شاهد غير معاملة
$10^{>10}^b$	$10^{1.4} \times 9^b$	$10^{9.3} \times 9^b$	المعاملة بالنقع ضمن حرارة المخبر (22°م)
$10^{>10}^b$	$10^{1.3} \times 8.5^b$	$10^{8.5} \times 8.5^b$	المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 4 - 6°م
$10^{>10}^b$	$10^{1.4} \times 9^b$	$10^{9.3} \times 9^b$	المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 45°م

* (abed...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (27): نتائج تعداد الفطور لتحديد أفضل درجة حرارة نفع

المعاملات المختلفة			تعداد الفطور والخميرة وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
			0 يوم
			3 يوم
			7 يوم
شاهد غير معامل			^a 10 >
			^a 10 x 7.2
			^a 10 x 4
المعاملة بالنقع ضمن حرارة المخبر (22م)			^a 10 >
			^b 10 >
			^b 10
المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 4 - 6م			^a 10 >
			^b 10 >
			^b 10
المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 45م			^a 10 >
			^b 10 >
			^b 10

* (abed...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (28): نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم لتحديد أفضل درجة حرارة نفع

المعاملات المختلفة			تعداد بكتيريا الكوليفورم وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين
			0 يوم
			3 يوم
			7 يوم
شاهد غير معامل			^a 10 >
			^a 10
			^a 10 x 1.2
المعاملة بالنقع ضمن حرارة المخبر (22م)			^a 10 >
			^b 10 >
			^b 10 >
المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 4 - 6م			^a 10 >
			^b 10 >
			^b 10 >
المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 45م			^a 10 >
			^b 10 >
			^b 10 >

* (abed...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

يتضح من جميع النتائج الميكروبية للجدول الثلاث عدم وجود فروق معنوية بين

المعاملات المختلفة، وانحصر الفرق بين الشاهد والمعاملات. تعد هذه النتيجة انعكاساً لواقع

وطبيعة المحتوى الميكروبي لشرائح المرتديلا التي احتوت على تنوع في البكتيريا من حيث

متطلبات درجة الحرارة ، فمع إمكانية أن تكون درجة الحرارة عاملاً مؤثراً على البكتيريا بالانخفاض

أو الارتفاع فإن تأثير مجموعة من هذا المحتوى سلبي قابله تأثير ايجابي لمجموعة أخرى عند نفس

الدرجة، فكانت المحصلة النهائية بعدم تأثير الحرارة انخفاضاً وارتفاعاً بشكل معنوي في عملية

التثبيط.

4 . 3 . 2: النتائج الكيميائية لتحديد أفضل درجة حرارة نقع:

يبين الجدول (29) نتائج إختبار التزنخ TBA بعد 0 و 3 و 7 أيام من التخزين المبرد والنقع في درجات الحرارة المختلفة.

جدول (29): نتائج إختبار TBA لتحديد أفضل درجة حرارة نقع

المعاملات المختلفة			قيم TBA مقدرة بالملغرام مالونالديهايد / كغم بعد مدة تخزين
			0 يوم 3 يوم 7 يوم
شاهد غير معام			a 1.24 ±0.01 a 1.30 ±0.01 a 1.33 ±0.01
المعاملة بالنقع ضمن حرارة المخبر (22م)			c 0.98 ±0.01 c 1.01 ±0.01 c 1.03 ±0.01
المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 4 - 6م			c 0.99 ±0.01 c 1.00 ±0.01 c 1.03 ±0.01
المعاملة بالنقع بمستخلص بحرارة 45م			b 1.02 ±0.01 b 1.19 ±0.01 b 1.24 ±0.01

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العמוד عند مستوى 0.05%.
* قيمة TBA هي معدل لثلاث مكررات.

تبين نتائج إختبار TBA تأثير فاعلية المستخلص سلباً في قدرته على منع عملية التأكسد عند النقع على درجة حرارة 45م وذلك لكون هذه الدرجة احد العوامل المساعدة على الإسراع في عملية أكسدة الدهون، وعلى العكس من ذلك لم يؤدي انخفاض درجة الحرارة إلى أي آثار سلبية على عملية الأكسدة، بإعتبار أنها من العوامل المساعدة لمنع التأكسد خلال فترة التخزين. تعبر النتائج عن ذلك بعدم وجود فروق معنوية بين معاملة النقع في حرارة الغرفة والحرارة المبردة، في حين أن هناك فرق معنوي واضح بين المعاملتين من جهة والمعاملة بالحرارة المرتفعة من جهة أخرى، ويتوافق ذلك مع نتائج بحث (Al-Ismail, 2002).

لم تختلف نتائج الرقم الهيدروجيني بين المعاملات المختلفة ولم تكن هناك فروق معنوية بعد المعاملة المباشرة بدرجات الحرارة المختلفة. وانحصرت الفروق المعنوية لتتناسب طردياً مع ارتفاع التعداد الكلي للبكتيريا وكنتيجة مباشرة له نهاية فترة التخزين فقط (Hussein, 2002).

جاءت نتائج تقدير الرطوبة متوافقة مع النتائج السابقة وانحصر الفرق المعنوي بين الشاهد غير المعامل والمعاملات المختلفة. ارتفعت الرطوبة بسبب العالق المتبقي على سطح شرائح المرتديلا من المستخلص نفسه، كما لم تسجل الرطوبة انخفاضا ملموسا خلال التخزين المبرد.

4 . 3 . 3: النتائج الحسية لتحديد أفضل درجة حرارة نقع:

لم تؤثر حرارة النقع على درجة لون الشرائح، ذلك أن اللون ناتج عن تأثير المرتديلا بلون المستخلص نفسه وليس بسبب تفاعلات معينة يمكن للحرارة أن تزيدها أو تثبطها ارتفاعا أو انخفاضاً (Stivarius *et.al.*, 2002).

4 . 3 . 4: تحديد أفضل درجة حرارة نقع:

يتضح من خلال النتائج الميكروبية والحسية الفيزيائية والنتائج الكيميائية أن درجة حرارة الغرفة ودرجة حرارة البراد كانت الأفضل للمعاملة، وتم استثناء درجة حرارة 45°م لتأثيرها سلبا في تفاعلات تزنخ الدهون، وبأخذ الجوانب العملية لهذه العملية ولعدم الحاجة لإضافة كلفة إضافية بتبريد المستخلص فإن التوصية تأتي بإستخدام درجة حرارة الغرفة في هذه العملية دون الحاجة لإستخدام أي ظروف خاصة (Al-Ismail, 2002).

5 . نتائج المرحلة الخامسة: مرحلة إستخدام المستخلص الأمثل في خلطة تصنيعية

ودراسة صفات الجودة للمرتديلا النهائية المنتجة:

5 . 1 : اختيار الخلطات وتحضير شرائح المرتديلا النهائية:

أضيف المستخلص المائي النهائي أو الأمثل المحضر من 5% (وزن/حجم) من الزعتر والكزبرة بنسبة 1 : 1 إلى الخلطة التصنيعية بدل الماء المستخدم بها، وبنفس الكمية كأفضل طريقة عملية لإستخدامه في إنتاج المرتديلا. حضرت المرتديلا في المصنع بدون أي تغيير على خلطتها الأصلية باستثناء المستخلص المائي بدل الماء، لتمثل التغيرات في نتائج الإختبارات اثر إضافة

المستخلص فقط كونه العامل المتغير الوحيد. في خطوة إضافية لم ترد ضمن مخطط البحث الأولي حضرت خطوة ثانية باستبدال نصف كمية الماء في خلطة المرتديلا بالمستخلص المائي واستبدال نصف البهارات المستخدمة بخليط من مسحوق الزعتر والكزبرة الذي حضر أيضا بنسبة 1 : 1 وذلك لمقارنة أثره على صفات المنتج النهائي ومقارنتها بالخلطة السابقة. إستخدمت عينة جاهزة من المرتديلا الأردنية المستخدمة في مراحل الدراسة السابقة لمقارنة النتائج بها كشاهد ثان وذلك لتعزيز تفسير نتائج هذه المرحلة. تم بالطبع إنتاج خلطة مصنعية بدون أي إضافة لتمثل الشاهد الأول.

بعد إنتاج الخلطات الثلاث السابقة (خلطة شاهد مصنعية، وخلطة الماء المستبدل بالمستخلص وخلطة نصف الماء ونصف البهارات المستبدلان)، قطعت في نفس المكان وفي نفس الوقت وعبئت بطريقتي تعبئة (عادية ومفرغة)، وهذا يعني أن لدينا بالأساس أربع عينات مختلفة وثمان عينات للتحليل.

5 . 2 : نتائج التقييم الحسي للمرتديلا النهائية:

يبين الجدول (30) نتائج التقييم الحسي للمعاملات الثلاث والمرتديلا الأردنية التي أجريت بعد التقطيع والتعبئة مباشرة باستخدام إختبار Hedonic scale.

جدول (30): نتائج التقييم الحسي للعينات الأربع النهائية

الصفات الحسية	شاهد 1 خلطة مصنعية	مرتديلا مستبدل الماء بالمستخلص	مرتديلا مستبدل نصف الماء والبهارات	شاهد 2 مرتديلا أردنية
اللون	^a 8.1 ±1.2	^a 8.0 ±1.1	^a 8.2 ±1.1	^b 7.4 ±1.0
الطعم	^a 7.9 ±1.2	^b 8.4 ±1.1	^c 6.3 ±1.1	^b 7.2 ±1.0
الرائحة	^a 7.8 ±1.2	^c 8.3 ±1.1	^b 8.1 ±1.1	^b 7.0 ±1.0
المتوسط العام	^a 7.9	^b 8.2	^b 7.5	^c 7.2

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس السطر عند مستوى 0.05%.

* عدد المقيمين احد عشر مقيما مختصا في علوم الأغذية.

تبين النتائج انه لم يكن هناك أي فروق معنوية بين لون الشاهد الأول ولون المعاملات الثانية والثالثة اللواتي أضيف لهما المستخلص المائي ومسحوق الزعتر والكزبرة، وتلك نتيجة طبيعية حيث لم ير المقيمون أي فروق في اللون، وهذا بالفعل كان صحيحا إذ لم يؤدي إضافة المستخلص المائي في الخلطة وأثناء التصنيع إلى أي تغيرات حسية في اللون بينما كان لإضافة الزعتر والكزبرة تأثير طفيف لم يلحظه المقيمون، واقتصرت التأثير الحسي الملحوظ على الطعم والرائحة. تعد نكهة الزعتر وان كانت مرغوبة، لكنها غير مألوفة في هذا المنتج كالفلفل الأسود مثلا، ولكن النتيجة الملفتة أن نكهة المستخلص المائي للزعتر والكزبرة المضافة في المعاملة الثانية كانت مقبولة أكثر من الشاهد الأول بشكل معنوي، في حين لم يتم تقبلها في حالة الإضافة للخلطة كمسحوق في المعاملة الثالثة، ولعل ذلك عائد بالأساس إلى تركيز نكهة المستخلص المضاف إلى حد لم يعد مقبولا لدى المقيمين. وفي حالة الرائحة فقد طغت رائحة الزعتر على المنتج النهائي للخلطات الثانية والثالثة، وانعكس ذلك إيجابا على نتيجة التقييم، فأعطت هذه المعاملات قبولا حسيا من حيث الرائحة أعلى من الشاهد الأول الذي يمثل الخلطة المصنعية التقليدية. ولكن التقييم النهائي للشاهد والمعاملتين الأولى والثانية جاء كمحصلة لنتائج التقييم السابقة، فتم قبول المعاملة الثانية أكثر من الشاهد الأول وبدرجة معنوية واحدة في حين كان قبول المعاملة الثانية اقل من الشاهد ذاته ما إذا ما عدنا للشاهد الثاني وهو يمثل المرتديلا الأردنية المستخدمة في الدراسة بدون أي معاملة، نجد أن المقيمين قد أعطوها تقييما عاما دون الشاهد الأول ودون المعاملات الأولى والثانية، ففي حالة اللون أعطى لون المرتديلا الفاقع انطبعا باللون الصناعي غير المرغوب مقارنة بلون المرتديلا الأكثر طبيعية في الشاهد الأول وبقيّة المعاملات. وكان لعدم إضافة بهارات على هذا النوع من المرتديلا بالإضافة للصلابة النسبية للقوام مقارنة بغيرها، اثر في حصولها على تقييم منخفضة خاصة وان المقيمين وان كانوا مختصين فهم ينتمون إلى المجتمع السوري الذي يرفض المستهلك فيه هذا النوع من المرتديلا (Nannerup et. al., 2004).

5 . 3 : التغيرات الحسية للمرتديلا النهائية:

5 . 3 . 1 : التغيرات الظاهرية والفيزيائية للمرتديلا النهائية المعبأة في عبوات عادية:

رغم تحديد مدة التخزين بـ(0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم) لإجراء الإختبارات المختلفة إلا أن مراقبة التغيرات الحسية الظاهرية كانت تتم بشكل يومي. لوحظ أن جميع العينات حافظت على صفاتها الحسية والظاهرية لغاية اليوم الخامس. بدأت مؤشرات الفساد بالظهور على الشاهد الأول والثاني في اليوم الخامس وكانت أكثرها وضوحاً الرائحة غير الطبيعية الخفيفة لكلاهما. بعد أسبوع من التخزين تعززت مظاهر الفساد في كلا الشاهدين مع ملاحظة ظهور نقاط بيضاء دقيقة جداً ومحدودة جداً عليهما خاصة عند أطراف الشرائح مما يدل على الحمل الميكروبي الذي بدأ يرتفع أو إلى بداية ظهور نموات فطرية. بعد عشرة أيام من التخزين كانت رائحة الفساد واضحة في كلا الشاهدين وظاهرة أكثر في الشاهد الأول عنه في الشاهد الثاني، ويعود ذلك إلى احتواء الشاهد الثاني على مواد حافظة أكثر بالإضافة لكون رطوبته أقل من الشاهد الأول (Maayah, 2006).

حققت المعاملات الثانية والثالثة ثباتاً في الصفات الحسية لغاية اليوم العاشر، وفي اليوم الثاني عشر كانت بدايات رائحة الفساد ظاهرة على المعاملات من حيث الرائحة غير الطبيعية الدالة على التزنح والتحلل. بعد 15 يوم من التخزين كانت الصفات الحسية للشرائح متردية جداً.

5 . 3 . 2 : التغيرات الظاهرية والفيزيائية للمرتديلا المعبأة في عبوات مفرغة من الهواء:

عززت التعبئة المفرغة من الهواء من قدرة الشرائح في المحافظة على صفات الجودة الحسية. لم يتم ملاحظة أي تغيرات حسية تذكر خلال الحفظ المبرد، بل إن الشرائح حافظت على صفاتها وبدأت طازجة مع نهاية فترة التخزين (Warriss, 2010).

5 . 4 : نتائج الإختبارات الميكروبية للمعاملات النهائية:

5 . 4 . 1: نتائج الإختبارات الميكروبية للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية:

تبين الجداول (31) إلى (33) نتائج الإختبارات الميكروبية المختلفة لشرائح المرتديلا المعبأة تعبئة عادية للمعاملات الثلاث (خلطة شاهد مصنعية، وخلطة الماء المستبدل بالمستخلص وخلطة نصف الماء ونصف البهارات المستبدلان) والشاهد الثاني من المرتديلا الأردنية بعد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم من التخزين المبرد. بينت نتائج عزل بكتيريا *Staph. aureus* خلو جميع

العينات منها وهذا يتناسب مع نتائج المرحلة الأولى والثالثة والرابعة من هذه الدراسة حيث خلت جميع العينات من هذه البكتيريا.

من خلال الجدول (31) نلاحظ أن إضافة المستخلص المائي أدى إلى خفض العدد التعداد الكلي للبكتيريا مباشرة مقارنة بالشاهد الأول. واستطاعت المعاملات الثانية والثالثة الصمود بحدود جرثومية جيدة لغاية اليوم السابع، مع أفضلية معنوية للمعاملة الثانية على الأولى إذ يبدو أن إضافة النباتات على شكل مستخلصات مائية يساهم في خفض هذا العدد أفضل لانتشاره الأوسع داخل الخلطة من المساحيق، فقدت المستخلصات هذه الصفة بعد أسبوع من التخزين المبرد وارتفع العدد الميكروبي في نهاية مرحلة التخزين لتبدو العينات متشابهة في النتائج. بمقارنة الشاهد الأول بالثاني نجد أن المرتديلا الأردنية وان توافقت مع الشاهد الأول في التعداد البكتيري مع فروق معنوية بسيطة، إلا أن محتواها كان أقل في المجمل عن الشاهد الأول لارتفاع الرطوبة في الخلطة المصنعية التقليدية مقارنة بالمرتديلا الأردنية، أو لاحتواء الأخيرة على مواد حافظة بتركيز أعلى.

توافقت نتائج الخمائر والفطور ونتائج بكتيريا الكوليفورم مع نتائج التعداد العام للبكتيريا وكانت أفضل المعاملات هي المعاملة الثانية تليها الثالثة، في حين أن عينة الشاهد الثاني حافظت على مستويات ميكروبية أقل من الشاهد الأول لنفس الاعتبارات والاحتمالات المذكورة سابقا (Bersot et. al., 2008) (FAO, 2008).

جدول (31): نتائج التعداد الكلي للبكتيريا للمعاملات النهائية / تعبئة عادية

المعاملات المختلفة	التعداد الكلي للبكتيريا وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين				
	0 يوم	3 يوم	7 يوم	13 يوم	22 يوم
خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1	$a^{210 \times 1.7}$	$a^{410 \times 2.8}$	$a^{610 \times 6}$	$a^{910 <}$	$a^{910 <}$
مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي	$d^{110 \times 3}$	$d^{310 \times 5}$	$d^{410 \times 1}$	$c^{610 \times 2}$	$a^{910 <}$
مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات	$c^{110 \times 6}$	$c^{310 \times 8}$	$cd^{410 \times 5}$	$b^{610 \times 9}$	$a^{910 <}$
المرتديلا الأردنية كشاهد 2	$b^{210 \times 1.1}$	$b^{410 \times 1.3}$	$ab^{610 \times 5}$	$a^{910 <}$	$a^{910 <}$

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (32): نتائج التعداد الكلي للخمائر والفظور للمعاملات النهائية / تعبئة عادية

التعداد الكلي للفظور والخمائر وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
22 يوم	13 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a ⁴ 10 x6.6	a ³ 10 x1.4	a ¹ 10 x 7	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1
c ³ 10 x3.2	d ¹ 10 x 6	b ¹⁰	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي
bc ³ 10 x4.3	cd ¹ 10 x 9	b ¹⁰	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات
b ³ 10 x9	b ² 10 x5	b ¹⁰	a ¹⁰ >	a ¹⁰ >	المرتديلا الأردنية كشاهد 2

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (33): نتائج تعداد بكتيريا الكوليفورم للمرتديلا للمعاملات النهائية / تعبئة عادية

التعداد الكلي للكوليفورم وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
22 يوم	13 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a ⁶ 10 x2.4	a ⁵ 10 x2.3	a ³ 10 x 5	a ¹ 10 x8.2	a ¹⁰ >	خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1
bc ⁵ 10 x9.2	d ³ 10 x1.2	d ¹⁰	c ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي
b ⁶ 10 x1	c ⁴ 10 x2.1	c ¹ 10 x1.5	c ¹⁰ >	a ¹⁰ >	مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات
a ⁶ 10 x3.2	b ⁵ 10 x1	b ² 10 x6.5	b ¹ 10 x 5	a ¹⁰ >	المرتديلا الأردنية كشاهد 2

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

5 . 4 . 2: نتائج الاختبارات الميكروبية للعينات النهائية المعبأة بالتفريغ:

تبين الجداول (34) إلى (36) نتائج الاختبارات الميكروبية المختلفة لشرائح المرتديلا المعبأة تعبئة مفرغة من الهواء للمعاملات الثلاث (خلطة شاهد مصنعية، و خلطة الماء المستبدل بالمستخلص و خلطة نصف الماء ونصف البهارات المستبدلان) والشاهد الثاني من المرتديلا الأردنية بعد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم من التخزين المبرد. بينت نتائج عزل بكتيريا *Staph. aureus* خلو جميع العينات منها كما في العينات السابقة.

لم تختلف الحدود الجرثومية للمرتديلا المفرغة من الهواء عن تلك المعبأة تعبئة عادية في بداية التخزين إلا بقيم صغيرة ناتجة عن توقف النشاط الميكروبي في المفرغة من الهواء بعد التعبئة

مباشرة وأثناء نقل العينات من المصنع للمخبر للتحليل. وحافظت كل معاملة على أعدادها الميكروبية دون تغيير يذكر. ساعدت التعبئة المفرغة من الهواء على منع النشاط الميكروبي الفاعل دون المساهمة في خفضه أو زيادته وذلك لتنوع المحتوى البكتيري ومتطلباته من الأوكسجين.

توافقت نتائج الخمائر والفطور ونتائج بكتيريا الكوليفورم مع نتائج التعداد العام للبكتيريا وبسبب التعبئة المفرغة من الهواء استطاعت العينات المحافظة على جودتها الميكروبية في هذين الاختبارين دون زيادة فيها. كما يشار إلى أن النتيجة السلبية لهذين الاختبارين لا تعني عدم وجود هيفات الفطور أو خلايا الخميرة والبكتيريا ولكن إعدادها كانت أقل من 10 وحدة مكونة للمستعمرات / غ من العينة وهو أقل تركيز تم تحضيره ولأن نمو مستعمرة واحدة على أي طبق يعني أن العدد هو 10 وعدم النمو يعني أن العدد أقل من ذلك.

جدول (34): نتائج تعداد البكتيريا الكلي في المعاملات النهائية / المعبأة بتفريغ الهواء

المعاملات المختلفة	التعداد الكلي للبكتيريا وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين				
	0 يوم	3 يوم	7 يوم	13 يوم	22 يوم
خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1	$a \ 2_{10} \times 1.3$	$a \ 2_{10} \times 1.8$	$a \ 2_{10} \times 1.7$	$a \ 2_{10} \times 1.9$	$a \ 2_{10} \times 1.9$
مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي	$b \ 1_{10} \times 2.1$	$b \ 1_{10} \times 2.1$	$b \ 1_{10} \times 2.2$	$b \ 1_{10} \times 2.1$	$b \ 1_{10} \times 2.1$
مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات	$b \ 1_{10} \times 2.7$	$b \ 1_{10} \times 2.6$	$b \ 1_{10} \times 2.4$	$b \ 1_{10} \times 2.8$	$b \ 1_{10} \times 2.7$
المرتديلا الأردنية كشاهد 2	$ab \ 2_{10} \times 1.0$	$ab \ 2_{10} \times 1.1$	$ab \ 2_{10} \times 1.0$	$ab \ 2_{10} \times 1.2$	$ab \ 2_{10} \times 1.2$

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (35): نتائج التعداد الكلي للخمائر والفطور للمعاملات النهائية / المعبأة بتفريغ الهواء

المعاملات المختلفة	التعداد الكلي للفطور والخمائر وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين				
	0 يوم	3 يوم	7 يوم	13 يوم	22 يوم
خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$
مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$
مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$
المرتديلا الأردنية كشاهد 2	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$	$a \ 10 >$

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

جدول (36): نتائج تعداد الكوليفورم للمرتديلا للمعاملات النهائية / المعبأة بتفريغ الهواء

التعداد الكلي للكوليفورم وحدة مكونة للمستعمرات / غ بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
22 يوم	13 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1
a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي
a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات
a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	a 10 >	المرتديلا الأردنية كشاهد 2

*(abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.

5 . 5 : نتائج الإختبارات الكيميائية للمعاملات النهائية:

5 . 5 . 1 : نتائج إختبار حمض الثيوباربوتريك TBA:

5 . 5 . 1 . 1 : نتائج إختبار TBA للمعاملات النهائية المعبأة تعبئة عادية:

يبين الجدول (37) نتائج إختبار عينات المرتديلا النهائية الثلاث وعينة الشاهد الثاني

المعبأة تعبئة عادية خلال التخزين المبرد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم.

جدول (37): نتائج إختبار TBA للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية

قيم TBA مقدرة بالملغرام مالونالديهايد / كغم بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
22 يوم	13 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
a 2.68 ±0.01	a 1.59 ±0.01	a 1.35 ±0.01	a 1.28 ±0.01	a 1.22 ±0.01	خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1
c 1.98 ±0.01	c 1.29 ±0.01	c 1.08 ±0.01	c 0.99 ±0.01	c 0.97 ±0.01	مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي
c 1.97 ±0.01	c 1.27 ±0.01	c 1.06 ±0.01	c 0.98 ±0.01	c 0.96 ±0.01	مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات
b 2.59 ±0.01	b 1.45 ±0.01	b 1.30 ±0.01	b 1.24 ±0.01	b 1.18 ±0.01	المرتديلا الأردنية كشاهد 2

*(abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيمة TBA هي معدل لثلاث مكررات.

يتضح أن قيم TBA للشاهد الثاني كانت اقل منها للشاهد الأول وذلك يعود غالباً إلى

احتواء عينة الشاهد الثاني على مضادات أكسدة أكثر من الأولى. يتضح أيضاً من خلال نتائج

الجدول (37) أن إضافة المستخلص كسائل أو إضافة مسحوق النباتات أدى إلى خفض مؤشر التزنخ بقيم معنوية جيدة وحافظت هذه المواد على فاعلية معقولة لها خلال مدة التخزين لغاية اليوم الثالث عشر بعدها فقدت تأثيرها الفاعل.

5 . 1 . 2: نتائج إختبار TBA للمعاملات النهائية المعبأة بالتفريغ:

يبين الجدول (38) نتائج إختبار عينات المرتديلا النهائية الثلاث وعينة الشاهد الثاني المعبأة في عبوات مفرغة من الهواء خلال التخزين المبرد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم.

تطابقت قيم الإختبار للشاهد الأول والثاني مع تلك القيم للعينات المعبأة تعبئة عادية في العينات السابقة كونها نفس العينات، ولكن هذه القيم بدت شبه ثابتة خلال التخزين المبرد حتى 22 يوم. مما يدل على أن للتعبئة مع التفريغ اثر مباشر في منع تفاعلات الأكسدة لشرائح المرتديلا المعبأة بهذه الطريقة.

جدول (38): نتائج إختبار TBA للعينات النهائية المعبأة في عبوات مفرغة من الهواء

المعاملات المختلفة	قيم TBA مقدرة بالملغرام مالونالديهايد / كغم بعد مدة تخزين				
	0 يوم	3 يوم	7 يوم	13 يوم	22 يوم
خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1	^a 1.22 ±0.01	^a 1.21 ±0.01	^a 1.22 ±0.01	^a 1.22 ±0.01	^a 1.22 ±0.01
مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي	^c 0.97 ±0.01	^c 0.97 ±0.01	^c 0.98 ±0.01	^c 0.97 ±0.01	^c 0.97 ±0.01
مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات	^c 0.96 ±0.01	^c 0.96 ±0.01	^c 0.96 ±0.01	^c 0.95 ±0.01	^c 0.96 ±0.01
المرتديلا الأردنية كشاهد 2	^b 1.18 ±0.01	^b 1.18 ±0.01	^b 1.16 ±0.01	^b 1.18 ±0.01	^b 1.18 ±0.01

*(abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيمة TBA هي معدل لثلاث مكررات.

5 . 5 . 2 : نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية:

5 . 5 . 2 . 1: نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية:

يبين الجدول (39) قيم الرقم الهيدروجيني لعينات المرتديلا النهائية الثلاث وعينة الشاهد الثاني المعبأة تعبئة عادية خلال التخزين المبرد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم.

جدول (39): نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية

قيم الرقم الهيدروجيني pH بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
22 يوم	13 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
^a 6.76 ±0.01	^a 6.55 ±0.01	^a 6.50 ±0.01	^a 6.48 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1
^{ab} 6.73 ±0.01	^c 6.47 ±0.01	^a 6.48 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي
^a 6.74 ±0.01	^c 6.45 ±0.01	^a 6.48 ±0.01	^a 6.48 ±0.01	^a 6.45 ±0.01	مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات
^b 6.80 ±0.01	^b 6.64 ±0.01	^b 6.61 ±0.01	^b 6.59 ±0.01	^b 6.58 ±0.01	المرتديلا الأردنية كشاهد 2

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيم الرقم الهيدروجيني pH هي معدل لثلاث مكررات.

يتضح من خلال الجدول أعلاه انه لم تكن هناك فروق معنوية لقيم الرقم الهيدروجيني بين الشاهد الأول والمعاملات الثانية والثالثة في بداية مرحلة التخزين، وانحصر الفرق بين الشاهد الأول والثاني وقد يعود ذلك إلى طبيعة مكونات كل من العينتين. ارتفع الرقم الهيدروجيني بدرجة كبيرة نسبياً مع نهاية مرحلة التخزين في جميع المعاملات وذلك عائد بالأساس لزيادة الحمل الميكروبي عند هذه النقطة.

5 . 2 . 2: نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة بالتفريغ:

يبين الجدول (40) قيم الرقم الهيدروجيني لعينات المرتديلا النهائية الثلاث وعينة الشاهد الثاني المعبأة في عبوات مفرغة من الهواء خلال التخزين المبرد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم.

جدول (40): نتائج قياس الرقم الهيدروجيني pH للعينات النهائية المعبأة بتفريغ الهواء

قيم الرقم الهيدروجيني pH بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
22 يوم	13 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
^a 6.46 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	^a 6.46 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1
^a 6.47 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	^a 6.45 ±0.01	^a 6.46 ±0.01	^a 6.47 ±0.01	مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي
^a 6.45 ±0.01	^a 6.46 ±0.01	^a 6.45 ±0.01	^a 6.44 ±0.01	^a 6.45 ±0.01	مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات
^b 6.58 ±0.01	^b 6.58 ±0.01	^b 6.58 ±0.01	^b 6.57 ±0.01	^b 6.58 ±0.01	المرتديلا الأردنية كشاهد 2

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيم الرقم الهيدروجيني pH هي معدل لثلاث مكررات.

تطابقت قيم الرقم الهيدروجيني للشاهد الأول والثاني مع تلك القيم للعينات المعبأة تعبئة عادية في العينات السابقة كونها نفس العينات، ولكن هذه القيم بدت شبه ثابتة خلال التخزين المبرد حتى 22 يوم. وذلك مرتبط بثبات الحمل الميكروبي دون زيادة وهو العامل الأساس المؤثر في هذه القيمة.

5. 5 . 3 : نتائج تقدير الرطوبة Moisture:

يبين الجدول (41) قيم الرطوبة لعينات المرتديلا النهائية الثلاث وعينة الشاهد الثاني المعبأة تعبئة عادية خلال التخزين المبرد 0 و 3 و 7 و 13 و 22 يوم.

جدول (41): نتائج تقدير الرطوبة للعينات النهائية المعبأة تعبئة عادية

قيم الرطوبة % بعد مدة تخزين					المعاملات المختلفة
15 يوم	10 يوم	7 يوم	3 يوم	0 يوم	
^a 73.1 ±0.10	^a 73.1 ±0.10	^a 73.2 ±0.10	^a 73.0 ±0.10	^a 73.1 ±0.10	خلطة مصنعية تقليدية شاهد 1
^a 73.2 ±0.10	^a 73.2 ±0.10	^a 73.2 ±0.10	^a 73.2 ±0.10	^a 73.2 ±0.10	مرتديلا محضرة باستبدال الماء بالمستخلص المائي
^a 73.0 ±0.10	^a 72.9 ±0.10	^a 72.9 ±0.10	^a 73.0 ±0.10	^a 72.9 ±0.10	مرتديلا محضرة بالاستبدال بالمستخلص ومسحوق البهارات
^b 63.1 ±0.10	^b 63.2 ±0.10	^b 63.2 ±0.10	^b 63.2 ±0.10	^b 63.2 ±0.10	المرتديلا الأردنية كشاهد 2

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس العمود عند مستوى 0.05%.
* قيم الرطوبة هي معدل لثلاث مكررات.

بين تقدير الرطوبة وجود فرق كبير بين المرتديلا المنتجة في سوريا والمرتديلا الأردنية المستخدمة في الدراسة، حيث أن مقدار الرطوبة في العينة الأخيرة (الشاهد2) اقل بحوالي 10% عن المرتديلا السورية وذلك أن المواصفة القياسية الأردنية تمنع زيادة الرطوبة عن 65% (القاعدة الفنية الأردنية 79، 2009). فيما عدا ذلك لم يسجل فروق معنوية واضحة بين قيم الرطوبة لعينة الشاهد والمعاملات الأولى والثانية كون الماء المستخدم بنفس الكمية وإن اختلف محتواه من ماء فقط إلى مستخلص مائي.

سجلت نفس الملاحظات عند تقدير الرطوبة للعينات المفرغة من الهواء وكانت قيم الرطوبة بين نوعي التعبئة متشابهة.

5 . 6: تحديد أفضل الخلطات في المرحلة الخامسة والنهائية من الدراسة:

يتضح من خلال نتائج جميع الإختبارات الميكروبية والحسية والكيميائية لهذه المرحلة أن المعاملة الثانية التي استبدل فيها ماء الخلطة كاملا بالمستخلص المائي الأمثل أعطت أفضل نتائج. فقد تم تقبلها حسيا أكثر من جميع المعاملات واحتفظت بصفات ميكروبية وكيميائية جيدة خلال التخزين. غير أن التخزين المفرغ من الهواء ساعد كثيرا على إبقاء صفات جودتها بأفضل حال. لذا فإن النتيجة الأمثل ستكون بإستخدام هذا المستخلص المائي مع هذا النمط من التعبئة.

الإستنتاجات

Conclusions

الاستنتاجات:

1. يعد سكين التقطيع الكهربائي المستخدم في تحضير شرائح المرتديلا في السوق الأردنية العامل الرئيس لتلوث هذه الشرائح بالأحياء الدقيقة.
2. تختلف أنواع المرتديلا في المدة الزمنية اللازمة لظهور مظاهر الفساد تبعا لتركيبها (خاصة الدهن) ومحتواها من المواد الحافظة، ومستوى نظافة مكان التقطيع والتحضير، وتطبيق قواعد السلامة الصحية.
3. تضمنت الميكروبات السائدة والمسببة لفساد شرائح المرتديلا ثلاث مجموعات هي:
أ. البكتيريا السالبة لصبغة غرام وهي:
Klebsiella oxytoca و *Serratia marcescens* و *Enterobacter gergoviae*
و *Citrobacter freundii* و *Salmonella arizonae*.
ب. البكتيريا الموجبة لصبغة غرام وهي:
Streptococcus و *Staphylococcus saprophyticus* و *Listeria ivanovii*
Staphylococcus و *Enterococcus hirae* و *Lactococcus lactis* و *bovis*
Enterococcus durans و *Lactococcus raffinolactis* و *simulans*
و *Staphylococcus Lentus*.
ت. فطر *Penicillium* وفطر *Rhizopus* وخميرة *Saccharomysis*
4. حقق مستخلص الزعتر المائي أفضل تثبيط لجميع الميكروبات السابقة وبنسب عالية تصل إلى 100% في بعضها، يليه مستخلصات الكزبرة والقرفة والميرمية والفلفل الأسود و الكليل الجبل.
5. أظهرت الفطور والخميرة حساسية أكبر للتثبيط الميكروبي تلتها البكتيريا السالبة لصبغة غرام فالموجبة لصبغة غرام.

6. سجلت بكتيريا *Salmonella arizonae* و *Citrobacter freundii* أكبر مقاومة ضد المستخلصات المائية من بين البكتيريا السالبة لصبغة غرام في حين سجلت بكتيريا *Enterobacter gergoviae* حساسية أكبر للمستخلصات في نفس المجموعة.
7. سجلت كل من بكتيريا *Staphylococcus simulans* وبكتيريا *Streptococcus bovis* أكبر حساسية لعملية التثبيط ضمن مجموعة البكتيريا الموجبة لصبغة غرام
8. بين فطر *Penicillium* أكبر مقاومة للتثبيط ضد المستخلصات المائية في حين كان فطر *Rhizopus* هو الأكثر حساسية للتثبيط وجاءت خميرة *Saccharomyces* بين الفطرين.
9. عند معاملة شرائح المرتديلا بالنقع أثبتت جميع النتائج الحسية والميكروبية والكيميائية أن مستخلص الزعتر المائي (بتركيز 10% وزن / حجم) كان الأفضل في الحفاظ على مؤشرات الجودة مقارنة بغيره من المستخلصات. باستثناء إعطائه لونا داكنا لشرائح المرتديلا المعاملة.
10. برزت مستخلصات الكزبرة والقرفة والميرمية لتحل المرتبة الثانية بعد الزعتر في الاختبارات الميكروبية. بينما حقق مستخلص إكليل الجبل نتائج متميزة بعد الزعتر في اختبار الترنخ TBA عند نقع شرائح المرتديلا في مستخلصاتها المائية.
11. يعد مزيج مستخلصي الزعتر والكزبرة المائيين بنسبة 1 : 1 أفضل مزيج من المستخلصات في الحفاظ على صفات جودة شرائح المرتديلا من خلال النتائج الميكروبية خاصة التعداد الكلي للبكتيريا وتعداد الخمائر والفطور، ومن خلال النتائج الحسية الفيزيائية والنتائج الكيميائية خاصة اختبار TBA.
12. يعد أفضل تركيز من المستخلص المائي السابق هو المستخلص المحضر بنسبة 5% (وزن / حجم) من مزيج الزعتر والكزبرة بنسبة 1 : 1.
13. ليس لدرجة حرارة النقع المنخفضة (4-6°م) أي دور في زيادة اثر فعالية المستخلص التثبيطية، في حين أن درجة الحرارة المرتفعة نسبيا (45°م) تؤدي لزيادة عمليات الترنخ في شرائح المرتديلا المعاملة.

14. إن إستخدام المستخلص المذكور في 12 أعلاه كبديل لكامل كمية الماء المستخدمة في خلطة المرتديلا أثناء التصنيع، أدى إلى إنتاج منتج أكثر قبولا حافظ على صفات الجودة في شرائحه المعبأة تعبئه عادية لمدة تزيد عن أسبوع
15. إن للتعبئة المفرغة من الهواء دور أساسي في الحفاظ على شرائح المرتديلا المقطعة لفترة طويلة نسبيا مع الحفاظ على صفات الجودة ثابتة.

التوصيات

Recommendations

التوصيات:

1. عدم تقطيع المرتديلا إلى شرائح في المحلات التجارية، أو العمل على إيجاد تقنية لتعقيم سكين التقطيع الكهربائي بعد استخدامه في كل مرة.
2. استخدام مستخلص خليط الزعتر والكزبرة المائي في تحضير منتج المرتديلا المحلية الأردنية.
3. استخدام تقنية التعبئة بالتفريغ للمحافظة على صفات جودة المرتديلا المقطعة.
4. عزل وتشخيص الميكروبات المسببة لفساد أغذية أخرى، جراء دراسات التضاد الميكروبي عليها.
5. متابعة الدراسات في هذا المجال باستخدام خلطات أخرى لهذه المستخلصات العشبية أو غيرها وتأثيرها التثبيطي في الأحياء الدقيقة المسببة لفساد شرائح المرتديلا، وغيرها من الأغذية بالاعتماد على الموروث الشعبي الثري في هذا المجال.
6. التركيز عند استخدام النباتات في الأغذية على المستخلصات المائية وليس الزيتية لواقعية استخدامها التطبيقية سواء من حيث الصفات الحسية أو التكلفة الاقتصادية.
7. دراسة تركيب المستخلصات المائية للنباتات العطرية من المواد الفعالة

المراجع

References

المراجع العربية:

الأسود . ماجد بشير . 1980 . علم وتكنولوجيا اللحوم . الطبعة الأولى . وزارة التعليم العالي .

العراق

الإحصاءات العامة الأردنية، النشرات الدورية، 2006، الأهمية النسبية للسلع والخدمات حسب

المحافظات المختلفة

الإحصاءات العامة الأردنية، النشرات الدورية، 2008، التجارة الخارجية للأردن حسب مجموعات

الأصناف

البلداوي . عبد الحميد عبد المجيد . 2009 . أساليب الإحصاء للعلوم الاقتصادية وإدارة الأعمال

مع استخدام برنامج SPSS. الطبعة الأولى، الأردن.

الجليلي . زهير فخري . وسعيد . عطا الله . وعزيز . سلوى ليلو . 1985 . إنتاج وحفظ اللحوم .

الطبعة الأولى . وزارة التعليم العالي . العراق.

الدخل الله . محمد باسل . 2011 . دراسة الأثر المثبط لبعض الزيوت العطرية في بعض الأحياء

الدقيقة . رسالة ماجستير . جامعة دمشق . سوريا.

الساعد . علي . 1995 . المواد المضافة للأغذية: الاستعمالات والإيجابيات والسلبيات . الطبعة

الأولى . منشورات الجامعة الأردنية . عمان . الأردن.

الشيبياني . علي محمد حسين . 1985 . التقييم الغذائي لطرائق تصنيع الأغذية . جامعة الموصل

العراق .

القاعدة الفنية الأردنية 1587، 2004، اللحوم ومنتجاتها، لحوم الدواجن منزوعة العظم والمعدة

لغايات التصنيع MDM . مؤسسة المواصفات والمقاييس، الأردن

القاعدة الفنية الأردنية 79، 2009، اللحوم ومنتجاتها، لحم اللانشون المعلب، مؤسسة المواصفات

والمقاييس، الأردن

القاعدة الفنية الأردنية 816، 2008، اللحوم ومنتجاتها، منتجات النقانق (السوسج)، مؤسسة المواصفات والمقاييس، الأردن.

المواصفة القياسية السورية 2179. (2007). النقانق غير المعلبة وغير المطبوخة

المواصفة القياسية السورية 2721. (2002). النقانق الطازجة المبردة

المؤسسة العامة للغذاء والدواء، التشريعات المتعلقة بالغذاء، 2011، الاشتراطات الصحية لتقطيع

المرتديلا وتعبئتها في عبوات مفرغة من الهواء. الأردن

اليمني . محمد عصام . 1997 . نظام تحليل المخاطر ونقاط الضبط الحرجة (الهسب) .

الجامعة الأردنية . عمان . الأردن

أبو الخير. صالح.(1993). دراسة حول تطوير التقانات التقليدية لحفظ اللحوم الحمراء في الوطن

العربي. المنظمة العربية للتنمية الزراعية. الخرطوم.

دهام . سالي . 2010 . دراسة الفعالية المضادة للأحياء الدقيقة والمضادة للأكسدة لبعض

مستخلصات النباتات والتوابل ذات الإستخدام الطبي والغذائي . رسالة ماجستير . جامعة

البعث . سوريا

عزيزية . عبدالحكيم . 2008 . دراسة الصفات النوعية للمرتديلا المدخنة المحضرة بإضافة

منتجات بروتين الصويا وكازئينات الصوديوم . مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية 24 (

1) : 179 – 190.

مصيفر . عبد الرحمن عبيد . 2009 . الموسوعة العربية للغذاء والتغذية . الطبعة الأولى .

المركز العربي للتغذية . البحرين.

هارون. محمد عبد السلام. 1979 . معجم مقاييس اللغة لابن فارس. دار الجيل. بيروت. لبنان.

References:

- Aazza . S., Lyoussi . B. and Miguel . M. G. 2011 . Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds . *Molecules* . **16**: 7672-7690.
- Abbas . Z. G. Lutale . J. K. Ilondo . M. M. and Archibald . L. K. 2012 . The utility of Gram stains and culture in the management of limb ulcers in persons with diabetes . *International Wound Journal* . **10.1111/j**: 1742-1748.
- Abdullah . B. M. 2007 . Properties of five canned luncheon meat formulations as affected by quality of raw materials . *International Journal of Food Science & Technology* . **42** : 30–35
- Adeleyea . I. A., Ogunniya . A. A. and Omonigbehinb . E. A. 2003 . Antimicrobial activity of some local herbs on common skin pathogens . *Bioscience Research Communications* . **15** : 231-236.
- Al-Akhras . R. 2010 . Isolation and characterization of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli from live and dressed chickens in Amman slaughterhouse . Ms. Thesis . *Food Science and Nutrition Dep. Jordan University of Science and Technology . Jordan*.
- Alassaf . A. K. 2003 . Studying The effect of garlic , coriander and paprika on some properties of frankfurter . Ms. Thesis. *Food Science and Nutrition Dep. University of Jordan*.
- Al-Ismail . K. 2002 . Effect of two methods of grilling on the oxidative rancidity and cholesterol oxidation in beef and chicken shawerma . *International Journal of Fats and Oils* . **53**: 335-339.
- Al-Maseimi . O. D. Ali. 2003 . The effect of grilling and frying on the chemical , sensory and microbial properties of frozen frankfurter and kebab . Ms. Thesis . *Food Science and Nutrition Dep. University of Jordan* .
- Al-Mrazeeq . K. M. 2008 . Evaluation of some chemical and sensory properties of different burger formulations . Ms. Thesis . *Food Science and Nutrition Dep. University of Jordan* .

- Al-Zoubi . M . M . 2008 . Characterazation of Frankurter Sausages Formulated with different levels of potato fiber, water and fat . Ms. Thesis . ***Food Science and Nutrition Dep. University of Jordan.***
- American Public Health Assosiation . 1984 . Compendium of methods for microbiological examination of foods . **2nd ed. APHA, Washington D.C., U. S. A.**
- Angor . M . M . A . 2004 . Study on beef burgers quality attributes and their improvement . Ms. Thesis . ***Food Science and Nutrition Dep. University of Jordan.***
- AOAC . 2000 . Official methods of analysis of AOAC International . **17th ed. U.S.A.**
- Archer . A. 1988 . Determination of cinnamaldehyde, coumarin and cinnamyl alcohol in cinnamon and cassia by high-performance liquid chromatography. ***Journal of Chromatography . 447: 272-276.***
- Bailer . J., Aichinger . T., Hackl G., Hueber . K. and Dachler . M. 2001 . Essential oil content and composition in commercially available dill cultivars in comparison to caraway . ***Industrial Crops and Products . 14: 229–239.***
- Baker . R. C., Hahn . P. W. and Robbins . K. R. 1988 . Fundamentals of new food product development . ***Eisevier . U.S.A.***
- Balows . A. Hausler . W. J. Herrmann . K. L. Isenberg . H. D. and Shadomy . H. J. 1991 . Manual of Clinical Microbiology . 5th ed. ***American Society for Microbiology, Washington D.C., U.S.A.***
- Barnett . J. A. Payne . R. W. and Yarrow . D. 2000 . Yeasts: characteristics and identification . 3rd ed. ***Cambridge University press . England .***
- Becker . B. Weiss . C. and Holzapfel . W. H. 2009 . An evaluation of the use of three phenotypic test-systems for biochemical identification of Enterobacteriaceae and Pseudomonadaceae . ***Food Control . 20: 815–821.***
- Benavides . S., Villalobos-Carvajal . R. and Reyes . J. E. 2012 . Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the

- crosslinking degree and oregano essential oil concentration . ***Journal of Food Engineering* . 110: 232-239.**
- Bersot . L. D. S., Gillio . C., Tavolaro . P., Landgrafl . M., Franco . B. D. G., Destro and . M. T. 2008 . Behaviour of L. monocytogens in sliced, vacuum- packed mortadella . ***Brazilian Journal of Microbiology* . 39: 514-516.**
- Bettaieb . I., Bourgou . S., Wannes .W. A., Hamrouni . I., Limam . F. and Marzouk . B. 2010 . Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of cumin (Cuminum cyminum L.). ***Journal of Agricultural. & Food Chemistry* . 58: 10410-10418.**
- Bishov S. J. , Masuka Y. and Kapsalis J. G . 2009 . Antioxidant effect of spices, herbs and protein hydrolyzates in freeze – dried model systems : synergistic action with synthetic phenolic antioxidants . 2009 . ***Journal of Food processing and Preservation*. 1:153 – 166.**
- Blair . J. A. and Piddock . L. P. 2009 . Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update . ***Current Opinion in Microbiology* . 12: 512–519.**
- Bouayad . L. and Hamdi . T. 2012 . Prevalence of Listeria spp. in ready to eat foods (RTE) from Algiers (Algeria) . ***Food Control* . 23: 397–399.**
- Boyras . N. and Ozcan . M . 2006 . Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (Satureja hortensis L.) growing wild in Turkey . ***International Journal of Food Microbiology* 107: 238–242.**
- Bremmess . L. 1994 . The Complete Book of Herbs: A Practical Guide to Growing and Using Herbs . ***5th ed. Penguin Group . U.S.A.***
- Britton J.; Kircher, T., 1998 - The Complete Book of Home Herbal Remedies. ***1st ed. Marshall Editions. U.S.A.***
- Burt . S. 2004 . Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review . ***International Journal of Food Microbiology* . 94: 223–253.**
- Carrapiso . A. I. 2007 . Effect of fat content on flavour release from sausages . ***Food Chemistry* .103: 396–403.**

- Cava . R., Ladero . L., Cantero . V. and Ramirez . M. 2012 . Assessment of Different Dietary Fibers (Tomato Fiber, Beet Root Fiber, and Inulin) for the Manufacture of Chopped Cooked Chicken Products . ***Journal of Food Science . Early View.***
- Cervený . J. Meyer . J. D. and Hall . P. A. 2009 . Microbiological Spoilage of Meat and Poultry Products - ***Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages . Springer . U.S.A.***
- Cheah . P. B. and Hasim . N. A. 2000 . Natural antioxidant extract from galangal (*Alpinia galangal*) for minced beef. ***Journal of Science of Food and Agriculture 80 : 1565-1571.***
- Chen . J. C., Huang . S. L., Wu . S. C., Kuo . T. Y. and Hsiang . C. Y. 2007 . Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. ***Journal of Agricultural & Food Chemistry. 55 : 8390–8397.***
- Chen . Y. J. 2010 . Knowledge integration and sharing for collaborative molding product design and process development . ***Computers in Industry . 61: 659–675.***
- Codex Alimentarius Commission . 2005 . Principles and Guidelines for Risk-Based Inspection of Imported Foods , ***CX/FICS 05/14/4 . Rome.***
- Dawson . A. G. 2000 . Herbs: partners in life : healing, gardening, and cooking with wild plants . ***1st ed. Inner Traditions / Bear & Co . U.S.A.***
- E.A.S., East African Standard . 2010 . CD/K/714, ICS 67.120 Guide for the microbiological quality of spices and herbs used in processed meat and poultry products . ***Tanzania.***
- El-Baroty . G. S., Abd El-Baky. H. H., Farag . R. S. and Saleh . M. A. 2010 . Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils . ***African Journal of Biochemistry Research .4:167-174.***
- Erkan . N., Ayranci . G. and Ayranci . E. 2008 . Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella*

- sativa L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol . ***Food Chemistry* 110: 76–82.**
- Estevez . M., Ramírez . R., Ventanas . S. and Cava . R. 2007 . Sage and rosemary essential oils versus BHT for the inhibition of lipid oxidative reactions in liver pate . ***LWT - Food Science and Technology* .40: 58–65.**
- Estevez . M., Ventanas . S. and Cava . R . 2007 . Protein Oxidation in Frankfurters with Increasing Levels of Added Rosemary Essential Oil: Effect on Color and Texture Deterioration . ***Journal of Food Science* . 70: c427–c432.**
- F.A.O.(Food and Agriculture Organization of the United Nations) . 2008 . Risk-based food inspection manual . ***Food and Agriculture Administration . Rome.***
- F.D.A., United States. Food and Drug Administration Division of Microbiology, Association of Official Analytical Chemists . 2003 . Bacteriological analytical manual . ***Association of Official Analytical Chemists . U.S.A.***
- Fadli . M. Chevalier . J. Saad . S. Mezrioui . L. Hassani . N. and Pages . J. 2011 . Essential oils from Moroccan plants as potential chemosensitisers restoring antibiotic activity in resistant Gram-negative bacteria . ***International Journal of Antimicrobial Agents* . 38: 325–330.**
- Farrell . K. T. 1998 . Spices, condiments and seasonings. ***2nd ed. Springer . U.S.A.***
- Feiner . Gerhard . 2006. Meat products handbook ,Practical science and technology , ***Woodhead Publishing Limited , First published , U.S.A.***
- Firouzi . R., Shekarforoush . S. S., Nazer . A. H., Borumand .Z. and Jooyandeh .A. R. 2007 . Effects of essential oils of oregano and nutmeg on growth and survival of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria monocytogenes* in barbecued chicken. ***Journal of Food Protection* . 70:2626-2630.**

- Fischer . G. and Dott . W. 2002 . Quality assurance and good laboratory practice in the mycological laboratory – compilation of basic techniques for the identification of fungi . *International Journal of Hygiene and Environmental Health* .**205**: 433–442.
- Forrester . M. B. 2005 . Nutmeg intoxication in Texas, 1998-2004. *Human & Experimental Toxicology* . **24**:563-566.
- Foschino . R. C. Picozzi . A. Civardi . M. Bandini . and P. Faroldi . 2003. Comparison of surface sampling methods and cleanability assessment of stainless steel surfaces subjected or not to shot peening . *Journal of Food Engineering*. **60**: 375-381.
- Gandemer . G. 2002 . Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products . *Meat Science* . **62**: 309-321.
- Garrido . V. Jalon . I. and Vitas . A. 2010 . Temperature distribution in Spanish domestic refrigerators and its effect on *Listeria monocytogenes* growth in sliced ready-to-eat ham . *Food Control* . **21**: 896–901.
- Garcia . M. L., Caceres . E. and Selgas . M. D. 2006 . Effect of inulin on the textural and sensory properties of mortadella, a Spanish cooked meat product . *International Journal of Food Science & Technology* . **41**:1207-1215.
- Generalic . I., Skroza . D., Surjak . J., Mozina . S. S., Ljubenkov . I., Katalinic . A., Simat . V. and Katalinic . V. 2012 . Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.) . *Chemistry & Biodiversity* . **9**:441-457.
- Gerber . N., Scheeder M. R. and Wenk C. 2009 . The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat. *Meat Science* . **81**: 148-154.
- Ghiretti . G. P., Zanardi . E. Novelli . E., Campanini . G., Dazzi . G., Madarena . Chizzolini . R. 1997 . Comparative evaluation of some antioxidants in salame Milano and mortadella production . *Meat Science* . **47**: 167–176.

- Goli. T., Bohuon . P., Ricci . J. and Collignan . A. 2012 . Evolution of pH during immersion of meat protein matrices in acidic marinades . ***Meat Science* . 90: 618–623.**
- Grunert . K. G., Jens . W. V. O., Saeed . K. F. and Scholderer . J. 2011 . Use of consumer insight in the new product development process in the meat sector . ***Meat Science* . 89: 251–258.**
- Gulmez . M. and Vatansever . L. 2006 . The effect of water extract of sumac (*Rhus coriaria* L.) and lactic acid on decontamination and shelf life of raw broiler wings. ***Poultry Science* .85: 1466 – 1471.**
- Hajlaoui . H., Mighri . H., Noumi . E., Snoussi . M., Trabelsi . N., Ksouri . R. and Bakhrouf . A. 2010 . Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. Strains . ***Food and Chemical Toxicology* . 48: 2186–2192.**
- Heinz . G. and Hautzinger . P . 2007 . Meat Processing Technology for Small to Medium Scale Producers . ***1st ed. FAO . Bangkok.***
- Heravi . M., Zekavat . B. and Sereshti . H. 2007 . Use of gas chromatography–mass spectrometry combined with resolution methods to characterize the essential oil components of Iranian cumin and caraway . ***Journal of Chromatography A* . 65: 215–226.**
- Hinton . M. 2000 . Microbial Control in the Meat Industry, Technical Manual 379A . ***1st ed. Ronan Gormley .Dublin.***
- Hobbs . C. A., Swarts . C., Maronpot . R., Davis . J., Recio . L. and Hayashi . S. 2012 . Evaluation of the genotoxicity of the food additive, gum ghatti . ***Food and Chemical Toxicology* . 50: 854–860.**
- Hoek . A. C., Luning . P. A., Weijzen . P., Engels . W., Kok .F. J. and Graaf . C. 2011 . Replacement of meat by meat substitutes. A survey on person- and product-related factors in consumer acceptance . ***Appetite* . 56 : 662–673.**
- Horitaa . C. N., Morganob . M. A., Celeghinia . R. S. and Pollonioa . M. R. 2011 . Physico-chemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and

- potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride . *Meat Science* . **89**: 426–433.
- Huang . C. C., Wang . H. F., Chen .C. H., Chen .Y. J. and Yih . K. H. 2011 . A study of four antioxidant activities and major chemical component analyses of twenty-five commonly used essential oils . *Journal of Cosmetic Science* . **62**: 393-404.
- Hui . Y . H., Nip . K. W., Rogers . R . W . and Young . O . A. 2005 . *Meat Science and Applications* . **1st ed.** *Marcel Dekker Inc. U.K.*
- Hussein . I . H . 2002. Alhaj . Studying the replacement of meat fat with olive oil and its effect on mortadella properties . Ms. Thesis .Food Science and Nutrition Dep. University of Jordan .
- ICMSF, International Commission on Microbiological Specifications of Foods . 2005 . Microbial Ecology of Food Commodities . *Springer* . *U.S.A.*
- ICMSF. 1986 . Microorganisms in Foods , International Commission on Microbiological Specifications of Foods . **2nd ed.** *Academic Press INC. Canada* .
- ISO 10272-1 . 2006 . International standard for Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp., 1st ed.
- ISO 11290-1 . 1996/2004 . International standard for enumeration of *Listeria monocytogenes*, 1st. ed.
- ISO 11290-2 . 1998/2004 International standard for enumeration of *Listeria monocytogenes*, 1st. ed.
- ISO 16654 . 2001 . International standard for the detection of *Escherichia coli* O157 : H7 . 1st ed.
- ISO 18593 . 2004 . International standard for Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs 1st ed.
- ISO 4831 . 2006 . International standard for the detection and enumeration of coliforms: Most probable number technique . 3rd ed.

- ISO 4833 . 2003 . International standard for Colony-count technique at 30 °C , 3rd ed.
- ISO 6579 . 2002 . International standard for detection of Salmonella spp . 4th ed.
- ISO 6611 . 2004 . International standard for Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds — Colony-count technique at 25 °C 2nd ed.
- ISO 6887-2 . 2003 . International standard for Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination, Specific rules for the preparation of meat and meat products 1st ed.
- ISO 6888-1 . 2003 . International standard for enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) . 1st ed.
- ISO 7932 . 2004 . International standard for enumeration of presumptive Bacillus cereus — Colony-count technique at 30 °C, 3rd ed.
- ISO 7937 . 2004 . International standard for Horizontal method for enumeration of *Clostridium perfringens* — Colony-count technique. 3rd ed. 2004.
- Jackson . V. Blair . I. S. McDowell . D. A. Kennedy . J. and Bolton . D. J. 2007 . The incidence of significant foodborne pathogens in domestic refrigerators . ***Food Control* .18: 346–351.**
- Jaksch . D., Hartungen . E., Mikoviny . T., Abel . G. and Mark . T. D. 2004 . Quality control of a herb extract using PTR-MS . ***International Journal of Mass Spectrometry* . 239: 203-207.**
- Jeppesen . C. 1995 . Media for Aeromonas spp., Plesiomonas shigelloides and Pseudomonas spp. from food and environment. ***International Journal of Food Microbiology* . 26: 25-41.**
- Jiang . H. and Sun . S. X. 2010 . Morphology, Growth and Size Limit of Bacteria . ***Biophysical Journal* . 98: 417a-420.**

- Jin . H. J. 2008 . Changes in South Korean consumers' preferences for meat . *Food Policy* .**33**: 74–84.
- Jongenburger . I. Bassett . J. Jackson . T. Zwietering . M. and Jewell . K. 2012 . Impact of microbial distributions on food safety I. Factors influencing microbial distributions and modelling aspects . *Food Control* . **In Press, Accepted . Available online .**
- Kapoor . I. P., Singh .B., Singh .G., De Heluani . C .S., De Lampasona . M. P. and Catalan C. A. 2009 . Chemistry and in vitro antioxidant activity of volatile oil and oleoresins of black pepper (*Piper nigrum*) . *Journal of Agriculture. & Food Chemistry* . **57**:5358-5364.
- Karagoz . Z., Gokce . E., Yemis . P., Coşkun . B. K. and Candogan . K. 2010 . Antimicrobial activity of soy edible films incorporated with thyme and oregano essential oils on fresh ground beef patties . *Meat Science* . **86**: 283–288.
- Keeratipibul . S., Techaruwichit . P. and Chaturongkasumrit . Y. 2009 . Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps . *Food Control* .**20**: 289–293.
- Kerry . J . P., O'Grady . M . N . and Hogan . S . A. 2006 . Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review . *Meat Science* .**74**: 113–130.
- Kerry . J., Kerry . J . and Ledward . D . 2002. Meat Processing . *1st ed. Woodhead Publishing Company . U.K.*
- Khalaf . N. A., Shakya . A. K., Al-Othman . A., Agbar . and Farah . H. 2008 . Antioxidant Activity of Some Common Plants . *Turk Journal of Biology* . **32**: 51-55.
- Kikuzaki . H., Kawasaki . Y. and Nakatani . N. 1994 . Structure of the antioxidative compounds in ginger, In Food phytochemicals for cancer prevention II teas, spices, and herbs. *ACS Symposium Series* . **547**: 237–247.
- Kirk . R. and Sawyer . R. 1991 . Pearson's composition and analysis of foods. *9th ed. Longman Scientific and Technical . U.S.A.*

- Kiss . I. 1984 . Testing methods in food microbiology . *1st ed. ELSEVIER . Hungary.*
- Konan . N., Mamyrbekova . J. A., Nemlin . J. and Alain . B. 2009 . Chemical Composition and Antioxidant Activities of Essential Oils of *Xylopia Aethiopica* (Dunal) a. Rich . *European Journal of Scientific Research* . **37**: 311-318.
- Kubo . I. 2004 . Antibacterial Activity of Coriander Volatile Compounds against *Salmonella choleraesuis* . *Journal of Agriculture. & Food Chemistry* . **52**: 3329–3332.
- Lawless . H. T. and Heymann . H. 1999 . Sensory evaluation of food principle and practices, Chapman Hall Food Science . *Springer . U.S.A.*
- Lee . K . T . 2010 . Quality and safety aspects of meat products as affected by various physical manipulations of packaging materials . *Meat Science* . **86**: 138-150.
- Lee . S., Umamo . K., Shibamoto . T. and Lee . K. 2005 . Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties . *Food Chemistry* . **91**: 131–137.
- Lixandru . B. E., Dracea . N. O., Dragomirescu . C. C., Dragulescu . E. C., Coldea . I.L., Anton .L., Dobre . E., Rovinaru . C. and Codita . I. 2010 . Antimicrobial activity of plant essential oils against bacterial and fungal species involved in food poisoning and/or food decay. *Roumanian Archives of Microbiology and Immunology Journal* . **69** :224-230.
- Lopez . M., Martinez . F., Del Valle . C., Ferrit . M. and Luque . R. 2003 . Study of phenolic compounds as natural antioxidants by a fluorescence method . *Talanta* .**60**: 609–616.
- Lopez . P., Sanchez . C., Batlle . R. and Nerin . C. 2005 . Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of Agriculture. & Food Chemistry* . **53**: 6939-6946.

- Luesink . G. Vaughan . E. Arnaud. A. and Vos . W. 2003 . Characterization, expression, and mutation of the *Lactococcus lactis* galPMKTE genes, involved in galactose utilization via the Leloir pathway. ***Journal of Bacteriology* .185: 870-878.**
- Maayah . T. S. A. 2006 . Studying the evaluation of the shelf life of packaged roast beef and some treatments for its extension . Ms. Thesis . Food Science and Nutrition Dep. University of Jordan .
- Maestri . D. M., Nepote . V., Lamarque . A. L. and Zygodlo . J.A. 2006 . Natural products as antioxidants . ***Research Signpost* . 37/661: 105-135.**
- Mangalassary . S . Han . I . Rieck . J . Acton . J . Jiang . X . Sheldon . B. and Dawson . P. 2007. Effect of Combining Nisin and/or Lysozyme with In-Package Pasteurization on Thermal Inactivation of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Turkey Bologna. ***Journal of Food Protection* . 70(11): 2503-2511.**
- Mariutti . L., Nogueira . G. and Bragagnolo . N. 2011 . Lipid and Cholesterol Oxidation in Chicken Meat Are Inhibited by Sage but Not by Garlic . ***Journal of Food Science* . 76 : C909–C915.**
- Martinez . O., Salmerón . J., Guillén . M. D. and Casas . C. 2004 .Texture profile analysis of meat products treated with commercial liquid smoke flavourings . ***Food Control* .15: 457–461.**
- Martos . M., Navajas . Y., Lopez . J. and Alvarez . J. A. 2010 . Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella . ***Meat Science* . 98 : 568–576.**
- McLauchlin . J. 1997 . The identification of *Listeria* species . ***International Journal of Food Microbiology* . 38: 77–81.**
- Medina R., Katz M., Gonzalez S. and Oliver G. 2001 . Characterization of the Lactic acid bacteria in Ewe's milk and cheese from northwest Argentina . ***Journal of Food Protection* .64: 559-564.**
- Michael . P. D. 1989 . Foodborn Bacterial Pathogens . ***Marcel Dekker INC . U.S.A.***

- Miller . F. P., Vandome . A. F. and McBrewster . J. 2009 . Black Pepper .
1st ed. VDM Publishing House Ltd . U.S.A.
- Misharina . T. A., Terenina . M. B. and Krikunova . N. I. 2009 .
Antioxidant properties of essential oils . ***Prikl Biokhim Mikrobiol.* 70 :710-716.**
- Mohsenzadeh . M. 2007 . Evaluation of antibacterial activity of selected
Iranian essential oils against Staphylococcus aureus and Escherichia
coli in nutrient broth medium. ***Pakistan Journal of Biological
Sciences* .10 : 3693-3697.**
- Moradi . M., Tajik . H., Rohani . S. M. and Oromiehie . A. R. 2011.
Effectiveness of Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed
extract impregnated chitosan film on ready-to-eat mortadella-type
sausages during refrigerated storage. ***Journal of the Science of Food
and Agriculture* . 91:2850-2857.**
- Murcia . M . A ., Tome . M . M., Nicol!as . C. and Vera . A . M . 2003 .
Extending the shelf-life and proximate composition stability of ready
to eat foods in vacuum or modified atmosphere packaging . ***Journal
of Food Microbiology* . 20: 671–679.**
- Murcia . M. A., Egea . I., Romojaro . F., Parras . P., Jimenez . A. M. and
Martinez-Tome . M. 2004 . Antioxidant evaluation in dessert spices
compared with common food additives. Influence of irradiation
procedure. ***Journal of Agriculture. & Food Chemistry* .52: 1872-
1881.**
- N. Gerber . N ., Scheeder . M .R .L . and Wenk . C . 2009 . The influence
of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat .
***Journal of Meat Science* .81: 148–154.**
- Nam . K. C., Jo . C. and Lee . M. 2010 . Meat products and consumption
culture in the East . ***Meat Science* . 86: 95–102.**
- Nannerup . L. D., Jakobsen . M., Berg . F., Jensen . J. S., Moller. J. K. S.
and Bertelsen . D. Optimizing colour quality of modified atmosphere
packed sliced meatproducts by control of critical packaging
parameters . ***Meat Science* . 68: 577–585.**

- Nicola . I. Cantore . L. Capasso . P. and Senatore . F. 2005 . Antibacterial Activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. Essential Oils. ***Journal of Agricultural and Food Chemistry* . 53: 57–61.**
- Nimasha . S. Weerakkody . A. Nola . C. Mark . S. Turner . A. Gary . A. and Dykes . B. 2010 . In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. ***Journal of Food Control* . 21: 1408-1414.**
- Nowak . B., Mueffling . T., Grotheer . J., Klein . G. and Watkinson . B. M. 2007 . Energy Content, Sensory Properties, and Microbiological Shelf Life of German Bologna-Type Sausages Produced with Citrate or Phosphate and with Inulin as Fat Replacer . ***Journal of Food Science* . 72: S629–S638.**
- Nuala . T. M., Bride . M., Hogan . S., Kerry . J. 2007 . Comparative addition of rosemary extract and additives on sensory and antioxidant properties of retail packaged beef . ***International Journal of Food Science & Technology* . 42: 1201–1207.**
- Nychas . G. J. E., Skandamis . P. N., Tassou . C. C. and Koutsoumanis . K. P. 2008 . Meat spoilage during distribution . ***Meat Science*. 78 : 77–89.**
- Olesen . P. Th., Meyer . A. S. and Stahnke . L. H . 2004 . Generation of flavour compounds in fermented sausages—the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time . ***Meat Science* .66: 675–687.**
- Oliveiraa . T. I., Carvalhob S. M., Soaresa . R. A., Andradeb . M. A., Cardosob . M. G., Ramosc E. M. and Piccolia . R. H. 2012 . Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite . ***Food Science and Technology* . 45: 204–212.**
- Oliveiraa . T. I., Soaresa . R. A., Ramosa . E. M., Cardosob . M. G., Alvesc . E., Piccolia . R. H. 2011 . Antimicrobial activity of *Satureja montana* L. essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in

- mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite . *International Journal of Food Microbiology* .**144: 546–555.**
- Oussalah . M., Caillet . S., Saucier . L. and Lacroix . M. 2006 . Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat . *Meat Science* . **73: 236-244.**
- Patel . R. V., Thaker . V. T. and Patel . V. 2011 . Antimicrobial activity of ginger and honey on isolates of extracted carious teeth during orthodontic treatment . *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* . **52:58-61.**
- Pawar . N., Pai . S., Nimbalkar . M. and Dixit . G. 2011 . RP-HPLC analysis of phenolic antioxidant compound 6-gingerol from different ginger cultivars . *Food Chemistry* . **126: 1330–1336.**
- Pearson .A. M and Dutson . T. R . 1990 . Meat health advances in meat research . vol (6) *Elsevier . London.*
- Peng . F., Tao . Q., Wu . X., Dou. H., Spencer . S., Mang . C., Xu . L., Sun . l., Zhao . Y., Li . H., Zeng . S., Liu . G. and Hao . X. 2012 . Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effects of isolated phenolic compounds from fresh ginger . *Fitoterapia* .
- Perera . C. D., Lana . A., Vargas . R., Tosantas . M. D., Emeterio . J., Andres . G., Morales . M. P. 2004 . Evaluation of API ID 32C and VITEK-2 to identify *Candida dubliniensis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* . **50: 219-221.**
- Peter . K. V. 2004 . Handbook of herbs and spices 2 . *CRC Press . New York .*
- Piskernik . S., Klancnik . A., Tandrup . C., Riedel T., Brondsted . L. and Sonja S. M. 2011 . Reduction of *Campylobacter jejuni* by natural antimicrobials in chicken meat-related conditions . *Food Control* . **22: 718–724.**
- Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M., 2001, Antioxidants in food, *Wood head publishing limited, Cambridge England.*

- Poligne . I., Collignan . A. and Trystram . G. 2002 . Effects of salting, drying, cooking, and smoking operations on volatile compounds formation and color patterns in pork. ***Journal of Food Science*. 67: 2976 - 2986.**
- Polovka . M. and Suhaj . M. 2010 . Detection of caraway and bay leaves irradiation based on their extracts' antioxidant properties evaluation . ***Food Chemistry* . 119 : 391–401.**
- Pouttu . P. and Puolann . E . 2004 . A procedure to determine the water-binding capacity of meat trimmings for cooked sausage formulation . ***Meat Science* . 66: 329–334**
- Pugliese . C. and Sirtori . F. 2012 . Quality of meat and meat products produced from southern European pig breeds . ***Meat Science* .90 :511–518.**
- Pundir . R. K. and Jain . P. 2010 . Comparative Studies on the Antimicrobial Activity of Black Pepper (*Piper Nigrum*) and Turmeric (*Curcuma Longa*) Extracts . ***International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* . 1: 492-501.**
- Puolanne. E. J., Ruusunen. M. H. and Vainionpääb. J. I. 2001 . Combined effects of NaCl and raw meat pH on water-holding in cooked sausage with and without added phosphate . ***Meat Science* . 58 : 1–7.**
- Pussa . T., Raudsepp . P., Toomik . P., Pallin . R., Maeorg . U., Kuusik . S., Soidla . R. and Rei . M. 2009 . A study of oxidation products of free polyunsaturated fatty acids in mechanically deboned meat . ***Journal of Food Composition and Analysis* . 22: 307–314.**
- Ravindran . P. N. and Babu K. N. 2005 . Ginger: the genus *Zingiber* . ***1st ed. CRC Press . U.S.A.***
- Ray . b. 2001 . Fundamental of food microbiology , ***2nd ed. Springer . New York . U.S.A.***
- Rebey . I. B., Karoui . I. J., Sellami I. H., Bourgou . S., Limam . F. and Marzouk . B. 2012 . Effect of drought on the biochemical composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds . ***Industrial Crops and Products* . 36: 238–245.**

- Reddy . K. V. Das . M. and Das . S. K. 2005 . Filtration resistances in non-thermal sterilization of green coconut water . *Journal of Food Engineering* . **69**: 381–385.
- Reinders . R. Jonge . R. and Evers . E. 2003 . A statistical method to determine whether micro-organisms are randomly distributed in a food matrix, applied to coliforms and Escherichia coli O157 in minced beef . *Food Microbiology* . **20** : 297–303.
- Robert . A . S. and Ellen . S. H. 1995 . Introduction to food- born Fungi , *4th ed. Pansen and Looyen, Netherlands.*
- Rodriguez . F. P. Castro . R., Posada-Izquierdo . G. D. Valero . A. Carrasco . E. Gimeno . R. M. G. and Zurera . G. 2010 . Evaluation of hygiene practices and microbiological quality of cooked meat products during slicing and handling at retail . *Meat Science* . **86**: 479–485.
- Said . O., Khalil . K., Fulder . S. and Azaizeh . H. 2002. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in the Golan Heights and the west bank region . *Journal of Ethnopharmacology* . **83**: 251 – 265.
- Samojlik . I., Lakic . N., Mimica-Dukic . N., Dakovic-Svajcer . K and Bozin . B. 2010 . Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of coriander (Coriandrum sativum L.) and caraway (Carum carvi L.) (Apiaceae). *Journal of Agriculture. & Food Chemistry* . **58**: 8848-8853.
- Scanga . J . A ., Grona . A . D., Belk . K . E., Sofos . J. N., Bellinger . G. R. and Smith . G . C. 2000 . Microbiological contamination of raw beef trimmings and ground beef . *Meat Science* .**56**: 145–152.
- Schneider . L. Ehlingera . M. Stanchinaa . C. Giacomellia . M. Gicquela . P. Kargera . C. and Claverta . M. 2009 . Salmonella enterica subsp. arizonae bone and joints sepsis. A case report and literature review . *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research* . **95**: 237-242.

- Seydim . A. C. and Sarikus . G. 2006 . Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils . *Food Research International* .**39**: 639–644.
- Shahidi . F. Hong . C. 1991 . Role of metal ions and heme pigments in autoxidation of heat-processed meat products . *Food Chemistry* . **42**: 339–346.
- Shan . B., Cai . Y. Z., Sun . M. and Corke . H. 2005 . Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agriculture. & Food Chemistry* . **53**: 7749-7759.
- Shaw . N. 2002 . Illustrated Elements of Herbalism. *1st ed., Element . U.S.A.*
- Sheridan C. J. Lydall . S. G. 2001 . SPSS Analysis without Anguish . *Australia.*
- Shirahigue . L., Oviedo M., Alencar . S., Arce M., Vieira . T., Oldoni . T. and Castillo . C. 2010 . Wine industry residue as antioxidant in cooked chicken meat . *International Journal of Food Science & Technology* . **45**: 863–870.
- Sivarooban . N., Navams . S.; Hettiarachchy . and Michael . G. J. 2006 . Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Nisin Combined with Grape Seed Extract or Green Tea Extract in Soy Protein Film Coated on Turkey Frankfurters. *Journal of Food Science* . **71**: 40-44.
- Sofos . J. N. 2008 . Challenges to meat safety in the 21st century Original Research Article. *Meat Science*. **78**: 3-13.
- Stephen H. G. Peter . M. H. Esteban . C. N. and Barbara . E. M. 2006 . *Enterococcus* spp-Principles and Practice of Clinical Bacteriology, *2nd ed. Wiley & Sons, Ltd. U. K.*
- Stivariusa . M. R., Pohlmanb . F. W., McElyeab . K. S. and Appleb . J. K . 2002 . The effects of acetic acid, gluconic acid and trisodium citrate treatment of beef trimmings on microbial, color and odor characteristics of ground beef through simulated retail display . *Meat Science* .**60**: 245–252.

- Tasaki . M., Umemura . T., Maeda M., Ishii . Y., Okamura . T., Inoue . T., Kuroiwa . Y., Hirose . M. and Nishikawa . A. 2008 . Safety assessment of ellagic acid, a food additive, in a subchronic toxicity study using F344 rats . *Food and Chemical Toxicology* . **46**: 1119–1124.
- Tassou . C., Koutsoumanis . K. and Nychas . G. E. 2000 . Inhibition of Salmonella enteritidis and Staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil . *Food Research International* .**33**: 273–280.
- Thawatchai . S. and Arunee . A. 2007 . Combination effects of ultra-high pressure and temperature on the physical and thermal properties of ostrich meat sausage . *Journal of Meat Science* . **76**: 555-560.
- Theivendran . S., Hettiarachchy . N. S. and Johnson . M . 2006. Inhibition of Listeria monocytogenes by Nisin Combined with Grape Seed Extract or Green Tea Extract in Soy Protein Film Coated on Turkey Frankfurters. *Journal of Food Science* .**71**: M39-M44.
- Trindade M. A ., Carmen C . and Pedrro E . D . F . 2006 . Mortadella Sausage Formulation with partial and total replacement of beef and pork backfat with Mechanically separated meat from spent layer hens . *Journal of Food Science*. **70 (3)**: S236 – S241.
- Tymoszczyk . M. 2007 . Effects of Sage Extract (Salvia officinalis L.) and A mixture of Sage Extract and Sodium isoascorbate on the Quality and Shelf life of Vacuum-packed Turkey Meatballs. 2007 . *Journal of Muscle Foods* . **18**: 420–434.
- Ulu . H. 2004 . Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products . *Meat Science* .**67**: 683-687.
- Ventanas . S. 2010 . Temporal changes of flavour and texture in cooked bologna type sausages as affected by fat and salt content . *Meat Science* .**85**: 410–419.
- Vivek K., Bajpai ., Atiqur R., Ung K. C., Sun J. Y. and Sun C. K. 2007 . Inhibitory parameters of the essential oil and various extracts of

- Metasequoia glyptostroboides Miki ex Hu to reduce food spoilage and food-borne pathogens . *Food Chemistry* . **105:1061–1066.**
- Walch . S. G., Tinzoh . L. N., Zimmermann . B. F., Stuhlinger . W. and Lachenmeier . D. W. 2011 . Antioxidant Capacity and Polyphenolic Composition as Quality Indicators for Aqueous Infusions of Salvia officinalis L. (sage tea). *Frontiers in Pharmacology* . **2:79-85.**
- Wangensteen . H., Berit . A. S. and Malterud . K. E. 2004 . Antioxidant activity in extracts from coriander . *Food Chemistry* . **88: 293-297.**
- Warriss . Paul . 2010 . Meat Science . *2nd ed. CABI . U.K.*
- Weiss . J. Gibis . M. Schuh . V. and Salminen . H. 2010 . Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products . *Meat Science* . **86:196–213.**
- Yutaka . Y. Masataka . S. and Hirosha . O. 2006 . Antimicrobial effect of spices and herbs on Vibrio parahaemolyticus. *International Journal of Food Microbiology* . **111: 6-11.**
- Zoubiri . S. and Baaliouamer . A. 2011 . Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria . *Food Chemistry* . **129: 179-182.**

الملاحق

Index

ملحق رقم (1)



استمارة تقييم حسي

الرقم :

التاريخ :

أمامك ست عينات من المرتديلا المقطعة ، أرجو التكرم بتقييم كل عينة على حده آخذا بعين الاعتبار جميع العوامل الحسية خاصة اللون والطعم والقوام والرائحة والمظهر العام ، معبرا عن ذلك بدرجة القبول أو عدم القبول وكما يلي :

الدرجة	مستوى القبول
9	مقبول بدرجة عالية جدا
8	مقبول بدرجة عالية
7	مقبول بدرجة متوسطة
6	مقبول بدرجة قليلة
5	بين المقبول وعدم المقبول
4	غير مقبول بدرجة قليلة
3	غير مقبول بدرجة متوسطة
2	غير مقبول بدرجة عالية
1	غير مقبول بدرجة عالية جدا

رقم العينة	تقييم اللون	تقييم الطعم	تقييم الرائحة	التقييم الكلي
101				
202				
303				
404				
505				
606				

ملاحظات عامة :

.....

.....

.....

ملحق رقم (2)



استمارة تقييم حسي

الرقم :

التاريخ :

أمامك أربع عينات من المرتديلا المقطعة ، أرجو التكرم بتقييم كل عينة على حده آخذا بعين الاعتبار جميع العوامل الحسية خاصة اللون والطعم والقوام والرائحة والمظهر العام ، معبرا عن ذلك بدرجة القبول أو عدم القبول وكما يلي :

<u>الدرجة</u>	<u>مستوى القبول</u>
9	مقبول بدرجة عالية جدا
8	مقبول بدرجة عالية
7	مقبول بدرجة متوسطة
6	مقبول بدرجة قليلة
5	بين المقبول وعدم المقبول
4	غير مقبول بدرجة قليلة
3	غير مقبول بدرجة متوسطة
2	غير مقبول بدرجة عالية
1	غير مقبول بدرجة عالية جدا

رقم العينة	تقييم اللون	تقييم الطعم	تقييم الرائحة	التقييم الكلي
01				
02				
03				
04				

ملاحظات عامة :

.....

.....

.....

ملحق رقم (3)



صور من البحث



المرتيلا المعاملة لمعرفة أفضل نوع مستخلص / المرحلة 4



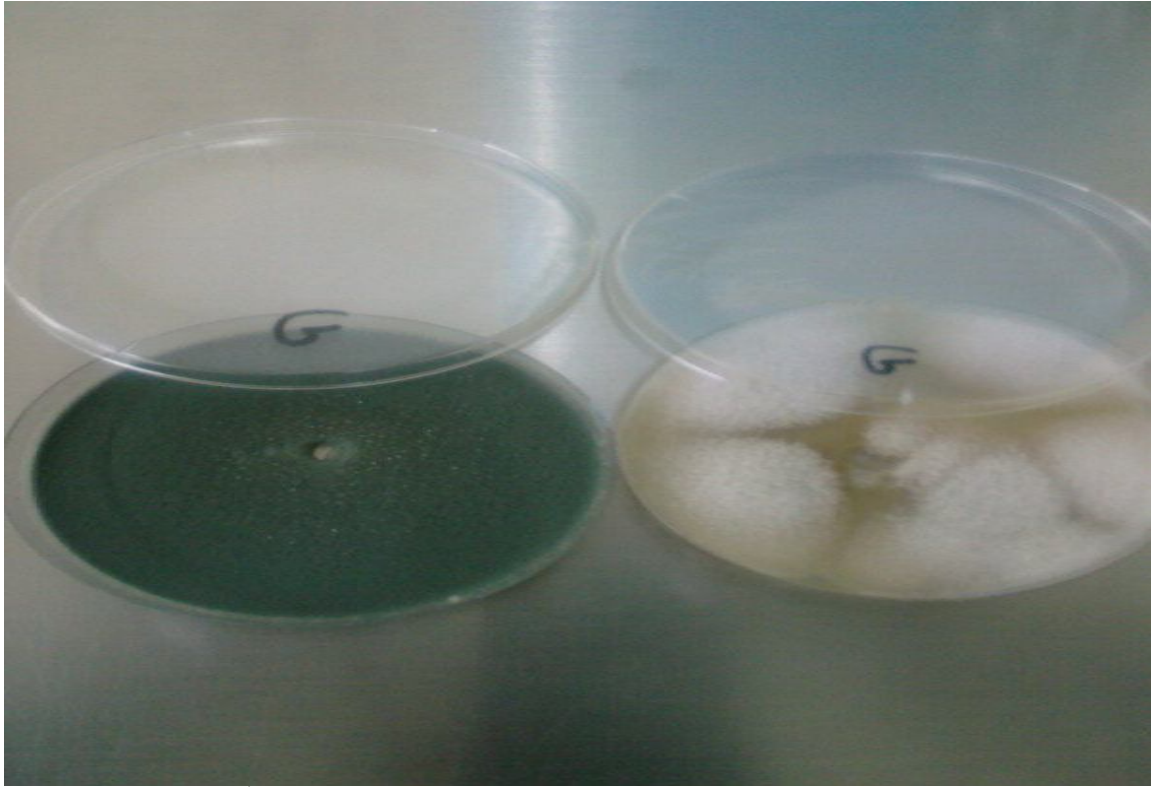
الخلطات الثلاث المصنعة / المرحلة 5



العينات بعد تجفيفها ويلاحظ فرق اللون في المرتديلا الأردنية (4) / المرحلة 5



الحفظ بالتعبئة المفرغة ومحاظته على الصفات الحسية / المرحلة 5



فطر الرايزوبس (يمين) والبنسيليوم (يسار) / المرحلة 1



عزل البكتيريا من شرائح المرتديلا بعد فسادها / المرحلة 1

Abstract

The aim of this study was to isolate and diagnose the most important microorganisms (bacteria, yeast or molds) popular or causing spoilage in sliced mortadella displayed in Jordanian markets, and to study inhibition of these microorganisms using water extracts of Ten local aromatic herbs (Thyme, coriander, cumin, sage, black pepper, cinnamon, ginger, caraway, nutmeg and rosemary). The best six water extracts herbs were used to study its ability to keep quality of the sliced mortadella. Best three of the six extracts was used to determine most effective mixture which keep quality for longest time at refrigerator. This water extract mixture used in manufacturing a final mix of mortadella at plant, then sensory, chemical and microbial tests done to evaluate final quality.

To achieve this goal many microorganisms examinations of suspected bacteria done referring to ISO standards started with Total count, Total *coliform* and Total *E. coli*. Then isolation procedures of *E.coli* O157:H7, *Campylobacter* spp., *Proteolytic Bacteria*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* spp., *Entreococcus feacalis*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* done. The aqueous extracts of Thyme, coriander, cumin, sage, black pepper, cinnamon, ginger, caraway, nutmeg and rosemary prepared from dry herb by 1:10 (herbs: water) then sterilized using microbial filtration papers. Detection of inhibition effects was done by Comparing total microbial count without the addition of water extracts herbs with total microbial count with the addition of water extracts herbs. Sensory evaluation done using hedonic scale test. Chemical analysis done using Thiobarbutric acid (TBA), pH, and Moisture content tests, while microbial tests done using Total count, Total *coliform*, total fungi and *Staphylococcus aureus* tests.

The results showed that main source of contamination of sliced mortadella were cutting tools that used at markets. By identifying these microorganisms the study showed that presence of five types of gram negative bacteria which include *Enterobacter gergoviae*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella arizonae* and *Citrobacter freundii*. Other nine types gram positive bacteria include *Listeria ivanovii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus bovis*, *Lactococcus lactis*,

Enterococcus hirae, *Lactococcus raffinolactis*, *Enterococcus durans*, *Staphylococcus simulans* and *Staphylococcus lentus*. Two types of molds which are *Penicillium* and *Rhizopus*, one type of yeast which is *Saccharomyces*.

Thyme water extract had better inhibition for all microbes (bacteria and fungi), followed by cinnamon and coriander which were able to inhibit eight microbes by more than 40% of control count. sage ranked fourth according to its ability to inhibit eleven microbe actively, five of them by more than 40%. Rosemary and black pepper come next, followed by caraway, cumin, ginger, while water extract of nutmeg have weakest effect.

Test results of the better six extracts on quality attributes of sliced mortadella. Showed that thyme extract achieved better preservation quality attributes during cold storage except changing of color to darker one of slices surface mortadella and become less acceptable. Coriander and cinnamon came next.

When using aqueous extracts of the thyme, coriander and cinnamon to determine the best type of extract. A mixture of thyme and coriander 1:1 have the best quality result of sliced mortadella during storage. Dilution up to 50% of this mixture and soaking at cool and room temperature give the same effect on quality attributes, While the soaking at 45 °C. Increase TBA number.

Replacement mortadella's water by the mixture of water extract at manufacturing level gave better sensory, microbial and chemical quality properties of mortadella slices (normal packaging) for 10 days. Using mixture of 5% water extract of thyme and coriander in mortadella production was recommend .

Statistical analysis done using SPSS software. The least significant difference (LSD) procedure was used to compare means of three replicates. at $P < 0.05$, Duncan test was used to determine the significant levels.

جدول (9): نتائج أثر التضاد بين الأحياء الدقيقة ومستخلصات النباتات المائية المدروسة

أعداد الأحياء الدقيقة للمستخلصات المختلفة (وحدة مكونة للمستعمرات / مل)											الأحياء الدقيقة	الرقم
شاهد	كمون	إكليل الجبل	ميرمية	فلفل اسود	جوزة الطيب	كراوية	زعر	زنجبيل	كزبرة	قرفة	بكتيريا / خميرة	
555 a	340 e	330 e	340 e	430 c	450 b	310 f	120 h	410 d	310 f	250 g	<i>Enterobacter gergoviae</i>	1
155 a	73 g	112 e	143 b	119 d	98 f	134 c	70 g	142 b	98 f	36 h	<i>Serratia marcescens</i>	2
122 a	75 e	122 a	36 f	98 d	114 b	108 c	14 h	122 a	72 e	26 g	<i>Klebsiella oxytoca</i>	3
340 a	300 c	240 f	330 ab	210 g	240 f	340 a	20 h	320 b	260 e	280 d	<i>Salmonella arizonae</i>	4
116 a	116 a	52 c	116 a	108 b	116 a	116 a	8 d	112 b	116 a	116 a	<i>Citrobacter freundii</i>	5
270 a	160 cd	210 b	140 d	90 e	90 e	160 cd	30 f	250 a	40 f	190 cd	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	6
180 a	130 cd	170 ab	170 ab	170 ab	180 a	150 bc	70 f	140 c	100 e	110 de	<i>Streptococcus bovis</i>	7
380 a	380 ab	290 d	380 a	380 ab	380 a	340 c	100 e	370 ab	360 b	360 b	<i>Lactococcus lactis</i>	8
740 a	470 a	740 a	580 b	730 a	730 a	730 a	100 d	740 a	740 a	530 c	<i>Enterococcus hirae</i>	9
300 a	300 a	200 d	220 c	300 a	300 a	290 ab	50 e	300 a	280 b	210 c	<i>Lactococcus raffinolactis</i>	10
125 a	119 a	121 a	75 c	118 a	121 a	125 a	15 d	125 a	121 a	97 b	<i>Enterococcus durans</i>	11
150 a	50 e	50 e	100 b	70 c	60 d	80 b	30 g	40 f	50 e	80 b	<i>Staphylococcus simulans</i>	12
300 a	265 ab	270 a	190 bc	130 cd	290 a	290 a	110 e	300 a	300 a	300 a	<i>Staphylococcus lentus</i>	13
170 a	71 f	110 d	60 g	120 c	130 b	130 b	10 h	80 e	80 e	10 h	<i>Listeria ivanovii</i>	14
164 a	149 c	146 c	111 e	156 b	117 d	164 a	10 f	153 b	124 d	10 f	<i>Penicillium</i>	15
222 a	58 c	78 bc	48 c	51 c	57 c	48 c	10 e	48 c	51 c	27 d	<i>Rhizopus</i>	16
44 a	23 b	21 bc	18 d	17 d	17 d	23 b	10 e	44 a	19 cd	10 e	<i>Saccharomyces</i>	17

* (abcd...) لا توجد فروق معنوية بين المتوسطات التي تحمل حرفاً متشابهاً في نفس السطر عند مستوى 0.05%.

* العدد الميكروبي الموجود في الجدول هو معدل لثلاث مكررات.