Antimicrobial effect of Rosmary extract to improve the shelf life of chicken meat

Dr. Dima Al-Diab*
Dr. Nazih Daood**
Ahmad Ahmad***

(Received 3 / 6 / 2023. Accepted 5 / 7 / 2023)

□ ABSTRACT □

The purpose of this study was measured the total phenolic content by Folin-ciocalteu colorimetric method and evaluate the antimicrobial effect of Rosmary extract (Rosmarinus officinalis) on chicken meat during storage for 14 day at 4°C. Chicken meat was treatment with doxycycline 100ppm (positive control) or with leaves Rosmary extract (100ppm, 300ppm, 900ppm), negative control was chicken meat without any treatment. The total plate count bacteria carried of after the days (1-7-14) of treatment. All extract showed antimicrobial activitys against the tested bacteria but the concentration 900ppm was the best for shelf life extension of chicken

Key words: Phenolic compounds, antimicrobial, Rosmary, chicken meat, extract

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

*Assistant Professor - Faculty of Pharmacy - Tishreen University - Lattakia - Syria.
**Professor - Faculty of Pharmacy - Tishreen University - Lattakia - Syria.
***Master student - Faculty of Pharmacy - Tishreen University, Lattakia - Syria.

التأثير المضاد للجراثيم لخلاصة أوراق إكليل الجبل لزيادة فترة صلاحية لحوم الفروج

د. ديمة الدياب*

د. نزيه داؤد**

احمد احمد***

(تاريخ الإيداع 3 / 6 / 2023. قبل للنشر في 5 / 7 / 2023)

□ ملخّص □

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية بالطريقة المرجعية Folin–Ciocalteu وتقييم التأثير المضاد للجراثيم لخلاصة إكليل الجبل على لحوم الفروج المخزنة بدرجة حرارة 4° سيليسيوس لمدة 14 يوم. عولج لحم الفروج بالصاد الحيوي الدوكساسيكلين (شاهد إيجابي) ومع خلاصة إكليل الجبل بتراكيز (100ppm–300ppm–900ppm). تمت المقارنة مع عينة من الفروج دون أي إضافة (شاهد سلبي)، وذلك بإجراء التعداد العام للجراثيم في اليوم الأول والسابع والرابع عشر من تطبيق الخلاصة الفينولية على لحم الفروج. أظهرت خلاصة أوراق إكليل الجبل بجميع تراكيزها فعالية مضادة للجراثيم، لكن خلاصة إكليل الجبل بتركيز 900ppm كانت الأفضل لزيادة فترة تخزين لحوم الفروج.

الكلمات المفتاحية: المركبات الفينولية، الفعالية المضادة للجراثيم، إكليل الجبل، لحم الفروج.

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY–NC–SA 04

* **أستاذ مساعد – كلية الصيدلة –جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.**

** **أستاذ – كلية الصيدلة –جامعة تشرين– اللاذقية– سورية.**

*** **طالب ماجستير – كلية الصيدلة –جامعة تشرين اللاذقية– سورية.**

مقدمة:

ازداد اهتمام المستهلك في السنوات الأخيرة بالغذاء الأمن وذي النوعية والجودة العالية وذلك بعد تنامي القلق من استخدام المواد الحافظة الكيميائية ومضادات الأحياء الدقيقة، وذلك لسهولة الوصول إلى المعلومات عن الأغذية الصحية (Tajkarimi, Ibrahim *et al.* 2010). يفضل المستهلكون لحوم الدجاج لقيمتها التغذوية ومحتواها المنخفض من الدسم والمعتدل من الأحماض الدسمة الغير مشبعة (Nkukwana *et al*., 2014)(Patsias *et al*., 2008) وعادة تسوق اللحوم الطازجة من خلال حفظها في البراد عند درجة حرارة (2–5 درجة مئوية) ، وتتلوث لحوم الدجاج بالجراثيم أثناء عمليات الذبح والإنتاج والتسويق. تنمو الجراثيم الموجودة على اللحوم وتتأكسد الدسم خلال فترة التخزين مسببة تلف اللحوم (Douigeruki *et al* ., 2012) . بالإضافة إلى ظهور العديد من الأثار الجانبية لاستخدام المواد الحافظة الكيميائية على المستهلكين فيمكن لمركبات السلفات أن تسبب صداع وحساسية ويمكن أن تسبب السرطان، كما يمكن أن يسبب استخدام مركبات النترات والنتريت بمنتجات اللحوم سرطان المعدة، وكذلك الأمر بالنسبة لمركبات البنزوات فيمكن أن تسبب حساسية وربو وطفح جلدي، وأيضاً يمكن أن يؤدي استخدام الصادات الحيوية في حفظ المنتجات الغذائية إلى نشوء مقاومة على الصادات الحيوية (sharma.2015).

نظراً للتأثيرات السابقة الغير مرغوبة للمواد الحافظة الكيميائية تم التوجه نحو المواد ذات المنشأ الطبيعي ومنها النباتات الحاوية على المركبات الفينولية التي تملك العديد من التأثيرات كالتأثير المضاد للجراثيم والمضاد للأكسدة (Al Diab,2018)(AL Diab, Naser.2018) ، ويمكن أن تملك تأثيراً مضاداً للالتهاب من خلال قدرتها على ثبيط تمسخ الألبومين وفقاً (Aldiab, Hasan *et al*,.2021) ، وركزت العديد من الدراسات على التأثيرات السابقة للمواد الفينولية وعملت على إضافتها للأغذية للاستفادة منها فعلى سبيل المثال استخدمت الخلاصات الفينولية للحد من تأكسد الزيوت النباتية خلال فترة التخزين (Al Diab and Sahunie.2023) ، كما تمت الاستفادة من الخاصية المضادة للأكسدة للمواد الفينولية في الحد من أكسدة بروتينات الحليب أثناء المعالجة الحرارية (AlDiab.2018) ويمكن ان تخفض من مستويات السكر حيث أكد ذلك من خلال دراسة الخلاصة الفينولية للوردة الدمشقية على فئران التجربة (AA,Hasan *et al*.2022)، ومنها الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل الغنية بالحموض الفينولية والفلافونوئيدات فهي تستخدم منذ عدة سنين في الصناعات الغذائية كمضاد للأحياء الدقيقة (Sirocchi, Caprioli et al. 2013)، إن فعالية الخلاصة المضادة للأحياء الدقيقة تعود لقدرة المركبات الفعالة على التداخل في بنية الغشاء الجرثومي والبروتينات مؤديةً إلى تفكك الغشاء وخلل في عمله (Nieto, Ros et al. 2018)، وتملك مركبات الفلافون والفلافونول والفلافونوئيد تأثيراً ضد طيف واسع من الأحياء الدقيقة بسبب قدرتها على تشكيل معقد مع الجدار الخلوي، و إن المواد العديدة الفينول تملك فعالية ضد العوامل المشكلة لطبقة الفلم على سطح اللحوم، ووجد أن مركبات النارنجين والأبجنين واسترات حمض الفيرليك لها القدرة على تثبيط تشكل الفلم(Papuc, Goran *et al.* 2017).

أهمية البحث وأهدافه

إمكانية استخدام خلاصة إكليل الجبل لزيادة فترة صلاحية اللحوم الغير مصنعة، والحد من الأثار الجانبية العائدة للمواد الصنعية المضادة للأحياء الدقيقة التي تستخدم لحفظ الأغذية، وتحديد التركيز الأفضل من الخلاصة الفينولية لمنع النمو الجرثومي

طرائق البحث ومواده

- **الأدوات المستخدمة**

ميزان ذو حساسية 0.0001g (RADWAG, AS 220/C/2) ، حمام مائي ذو الأمواج الفوق الصوتية (K & H Industries)، مقياس الطيف الضوئي (Jasco V-530 UV) ، فرن (CARBOLITE) ، ميكروبيبت (10µl,100µl,1000µl)) (Labkit (Chemelex,S.A.Spain، حاضنة جرثومية (JRAD) ، مصدر لهب أو مصباح بنزن ، براد لحفظ الأغذية Refrigerator

المواد المستخدمة

كاشف Folin–Denis (Sigma- Aldrich, Switzerland) ، كربونات الصوديوم (BDH, England) ، حمض الغالي (Biotech LTD) ، الأغار المغذي (TM Media .India) ، ماء مقطر

طرائق البحث:

جمع العينات

عينات إكليل الجبل

جمعت عينات الأوراق لإكليل الجبل في شهر أذار خلال فترة تفتح الأزهار، ثم نظفت الأوراق من الغبار والأوساخ وتركت في الظل بعيداً عن أشعة الشمس في منطقة مهواة حتى الجفاف، طحنت الأوراق بعد التجفيف بواسطة خلاط كهربائي لتحويلها إلى مساحيق، وأخيراً تم حفظ مساحيق إكليل الجبل في عبوات عقيمة في البراد.

عينات اللحوم

شملت الدراسة أيضاً جمع عينات من اللحوم المذبوحة حديثاً، حيث تم جمع 6 عينات من لحوم الفروج (كل عينة 100g من صدر الدجاج قطعة واحدة) من محلات مختلفة من ريف حمص، حيث وضعت بأكياس بلاستيكية معقمة بواسطة الصاد الموصد. بعد جمع العينات تم تقطيعها بواسطة سكين معقمة بواسطة الكحول المشتعل إلى قطع صغيرة يتراوح وزن كل قطعة حوالي 1g ، بعد ذلك أجري التعداد العام لجميع العينات، ثم قسمت

كل عينة من اللحوم إلى خمس مجموعات عوملت بالشكل التالي:

- ثلاث مجموعات طبق عليها تراكيز من خلاصة إكليل الجبل (100–300–900 ppm)
- مجموعة طبق عليها الصاد الحيوي الدوكساسيكلين بتركيز (100 ppm)
- مجموعة لم نضف له أي شيء (شاهد سلبي)

حيث تم تطبيق محلول الخلاصة الفينولية ومحلول الصاد الحيوي (الدوكساسيكلين) على عينات اللحوم من خلال غمس القطع الصغيرة في محاليل الخلاصات والصاد الحيوي، بعدها تم حفظ عينات اللحوم المقطعة بعبوات بلاستيكية عقيمة ذات أغطية في البراد بدرجة حرارة 4 مئوية.

- **تحضير خلاصة جافة من مساحيق أوراق إكليل الجبل**

تم تحضير خلاصة جافة من مساحيق أوراق إكليل الجبل وفق الخطوات الآتية:

1. تم وزن 1g من مساحيق أوراق إكليل الجبل، ثم تم إضافة 20ml من الماء المقطر إلى البيشر الحاوي على المساحيق، وتم الاستخلاص باستخدام جهاز Ultra Sound بعد رفع درجة الحرارة إلى 50 درجة مئوية لمدة 45 دقيقة وفق العالم (Victório, Lage *et al.* 2009)

2. تم جمع الخلاصات في عبوات زجاجية بعد ترشيحها على ورق الترشيح، ومن ثم وضعها في المجفدة للحصول على الخلاصة الجافة.

- **تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية**

جرى تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية وفق طريقة Folin-Ciocalteu التي ذكرها الباحثان Vermerris و Nicholson (2006) (Alasaad and Aldiab. 2016) (Nezam, Al Diab et al. 2021):

– أخذ 10mg من الخلاصة الجافة وحلت في 10ml ماء مقطر، بحيث يصبح تركيز المركبات الفينولية في المحلول ضمن حدود الامتصاصية الممكن تحديدها وفق السلسلة العيارية لحمض الغالي .

– إضافة 2 ml من محلول كربونات الصوديوم اللامائية (w/v) 2% إلى 0.1 ml من محلول الخلاصة.

– إضافة 0.1 ml من كاشف Folin Denis الممدد بالماء المقطر وفق نسبة (1:1). تُرك المزيج الناتج بحرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة وبعد انتهاء المدة تمت قراءة امتصاصية العينات عند طول الموجة 750 nm.

– جرى في الوقت نفسه تحضير blank .

– وأخيراً جرى حساب المحتوى الكلي من المركبات الفينولية بالاعتماد على السلسلة العيارية لحمض الغالي.

تحضير محاليل الخلاصات الفينولية لمعالجة اللحوم

تم تحضير محلول الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل بتركيز 900 ppm من خلال وزن 188mg من الخلاصة الجافة و وضعت في بالون معايرة 50ml ثم أكمل الحجم بماء مقطر عقيم حتى خط العيار، ثم قمنا بتحضير محلولي الخلاصة بتركيز (100ppm–300ppm)من خلال أخذ (5.55ml–16.66ml) من محلول الخلاصة بتركيز 900ppm و وضع كل من الحجوم في بالون معايرة 50ml وأكمل الحجم بماء مقطر عقيم حتى خط العيار.

تحضير الوسط الزرعي الآغار المغذي (NA) Nutrient Agar

أضيف 28g من الأغار المغذي إلى 1000ml من الماء المقطر وسخن المزيج حتى الغليان لضمان انحلال التام لمسحوق الوسط المغذي ، عقم المحلول الناتج بالصاد الموصد تحت ضغط 15 Psi (pounds per square inch) ودرجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة (Horwitz and Latimer Jr 2006)

تحضير سلسلة التمديدات العشرية

تم تعبئة الأنابيب الزجاجة ذات الغطاء البلاستيك القابل للتعقيم بالصاد الموصد ب 9 مل مصل فيزيولوجي، وعقمت بالصاد الموصد (Deeb *et al*,. 2021). لاحقاً استخدمت هذه الأنابيب لتحضير سلسلة التمديدات العشرية لمحاليل عينات الفروج أثناء إجراء التعداد العام بعد اليوم الأول والسابع والرابع عشر من تطبيق الخلاصات الفينولية.

تعقيم الأوساط الزرعية والأدوات بالصاد الموصد

عقمت الأوساط الزرعية من الأغار المغذي NA ، إضافة للأدوات المستخدمة من الأنابيب الحاوية على 9ml من الماء المقطر و رؤوس الميكروبيبيت و البياشر والماء المقطر بحرارة 121 C ° تحت ضغط 15Psi لمدة 15 دقيقة(Al-Diab, Sulaeman et al. 2020) .

الزرع بطريقة الفرش

تستخدم هذه الطريقة لزرع العينات الممددة من المحضرات الجرثومية بعروة الزرع لإجراء التعداد العام، حيث يتم العمل بوسط عقيم باستخدام اللهب (Burdass, Grainger *et al.* 2016). حيث قمنا بسحب 50 µl من كل معلق جرثومي من سلاسل التمديد العشرية وأفرغت على سطح طبق بتري الحاوي على الأغار المغذي الصلب وبعد ذلك

عقمت عروة الزرع وزرعت الجراثيم من خلال فرشها على كامل سطح الأغار، ليتم بعدها حضن الأطباق المزروعة المقلوبة بدرجة حرارة 37 مئوية لمدة 24 ساعة ضمن حاضنة جرثومية رقمية، وبعد نمو الجراثيم تم اختيار الطبق الحاوي على مستعمرات جرثومية يتراوح عددها بين 30 إلى 300 مستعمرة لإجراء عملية التعداد وفق (Food,2001– AOAC, 2006) .

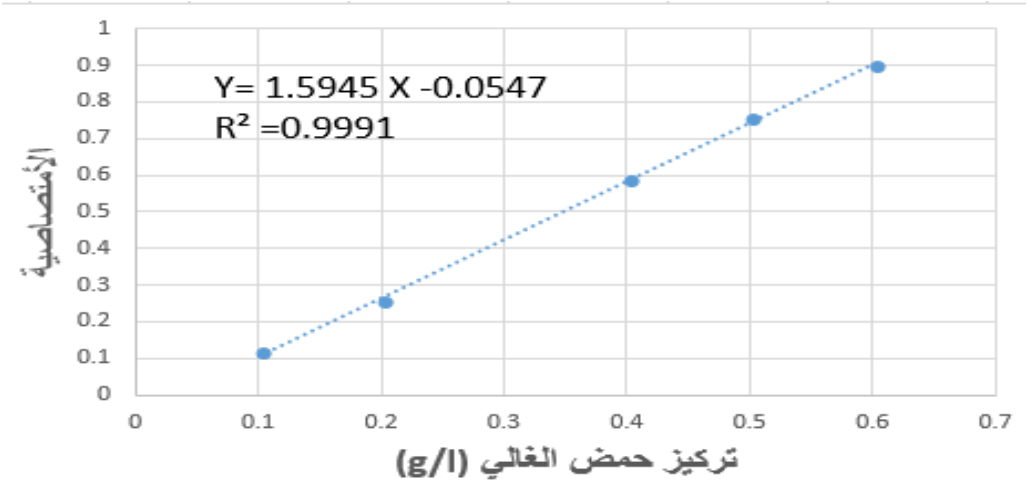
التحليل الإحصائي

- تم التعبير عن النتائج بالمتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ± الانحراف المعياري.
- حددت تراكيز المركبات الفينولية اعتماداً على المعادلة من الشكل y= ax + b للسلسلة العيارية لحمض الغالي.
- استخدمت برمجية spss لإجراء اختبار ستيودينت Students' t-test للتأكد من وجود فرق إحصائي هام بين النتائج المعبِّرة عن تثبيط النمو الجرثومي التي حققتها تراكيز المركبات الفينولية في خلاصة إكليل الجبل والنتائج المعبرة عن نسب التثبيط التي حققها الشاهد الإيجابي من الصاد الحيوي (الدوكساسيكلين).
- تم الاعتماد على قيم p في تحديد وجود الفروق الهامة إحصائياً بحيث إذا كانت قيمة p أكبر من 0.05 فهذا يعني عدم وجود فرق إحصائي هام، أما إذا كانت قيمة p أصغر من 0.05 فهي تشير لوجود فرق إحصائي هام.

النتائج والمناقشة:

1- تحديد سويات المركبات الفينولية

تم حساب المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في خلاصة إكليل الجبل المائية بالاعتماد على المعادلة الخطية للسلسلة العيارية لحمض الغالي والتي تراوحت تراكيزها بين (0.1–0.6 g/l) والموضحة في الشكل (1) حيث تظهر المعادلة الخطية (y= 1.5945 x + 0.0547)، ومعامل التحديد R^2 يساوي 0.9991



الشكل (1): السلسلة العيارية لحمض الغالي المستخدمة في حساب المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في خلاصة إكليل الجبل

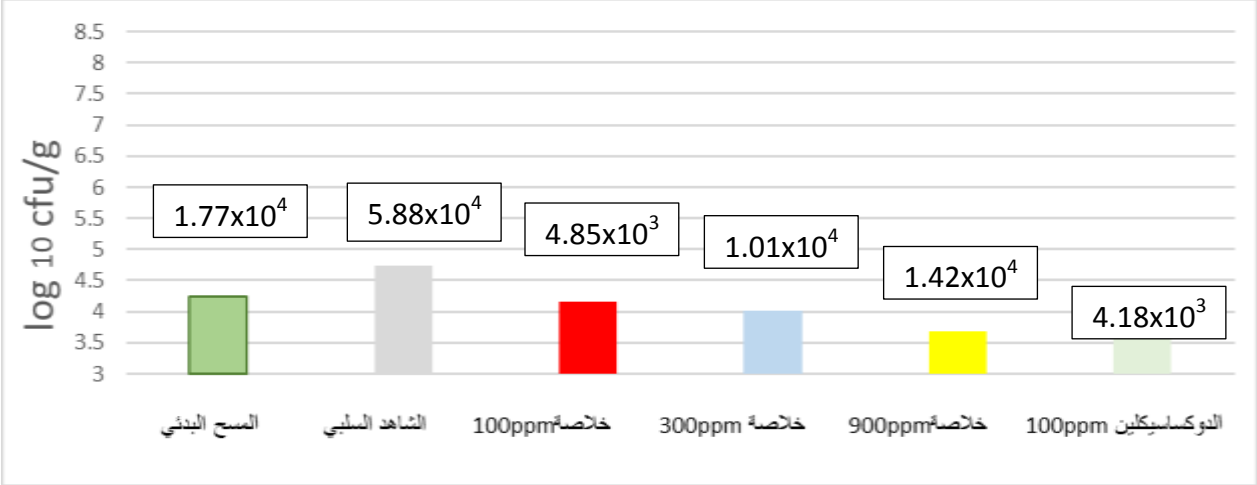
بلغ تركيز المركبات الفينولية في خلاصة إكليل الجبل 51.7015g GAE/kg وتوافقت هذه النتيجة مع نتيجة دراسة أجريت من قبل Bianchin في البرازيل حيث كان تركيز المواد الفينولية الكلي في إكليل الجبل 46.48mg GAE/g . يعود التركيز العالي للمواد الفينولية في إكليل الجبل لوجود الفلافونوئيدات بتركيز 11.89mg GAE/

gحيث يتواجد مركب الروتين بتركيز عالي كما تتواجد الحموض الفينولية ferulic acid– P –coumaric acid و مركبات الكاتشين ومركب الكامبفيرول ومركب quercetin (Bianchin, Pereira *et al.* 2020) وأجريت دراسة من قبل الباحث Teruel وزملاءه حيث بلغ تركيز المواد الفينولية للخلاصة الميتانولية لإكليل الجبل 20.41mg GAE/g (Teruel, Garrido et al. 2015).

يمكن أن يعود الاختلاف بتراكيز المواد الفينولية بين الدراسات لعوامل عديدة تتضمن ظروف الاستخلاص (Al Diab. 2018) وجزء النبات المستخدم وطور النمو وزمن جني النبات ونوع المحلات المستخدمة (Boix, Victório et al. 2011) (Munoz 2002).

2–التعداد العام لعينات الفروج عند تطبيق خلاصة إكليل الجبل

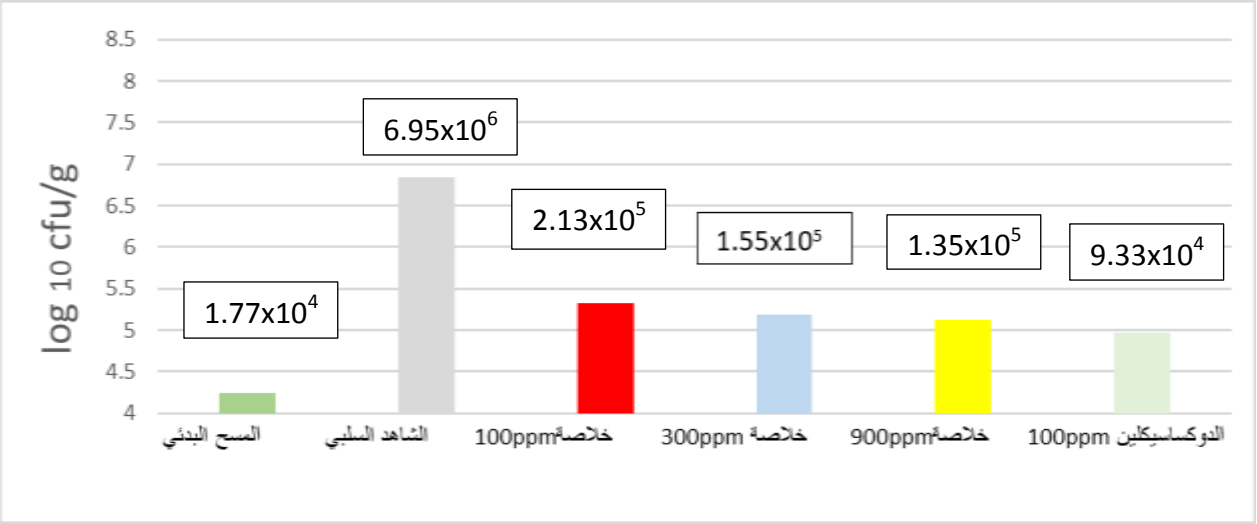
ازداد النمو الجرثومي بعد مرور يوم من تخزين عينة الشاهد السلبي بالمقارنة مع المسح البدئي، و كانت الخلاصة بتركيز 900ppm هي الأفضل تأثيراً إذ انخفض التعداد العام للجراثيم من 4.77 $\log_{10}$cfu/g إلى 3.68$\log_{10}$ cfu/g . بلغت قدرة فعالية الخلاصة الفينولية على خفض التعداد الجرثومي مقارنة مع الشاهد السلبي –76%–66%) (88% للتراكيز (100ppm–300ppm–900ppm) على التتالي، وبمقارنة تأثير الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل مع الشاهد الإيجابي (الدوكساسيكلين) لوحظ أنه في اليوم الأول لتطبيق الخلاصة كان التركيز (900ppm) هو الأفضل حيث بلغت فعاليته 89% من فعالية الصاد الحيوي بينما الخلاصة بتركيز (300ppm) كانت فعاليتها (42%)والخلاصة بتركيز 100ppm بفعالية 30% .



الشكل (2) تأثير خلاصة إكليل الجبل على عينات الفروج بعد مرور يوم على تطبيقها

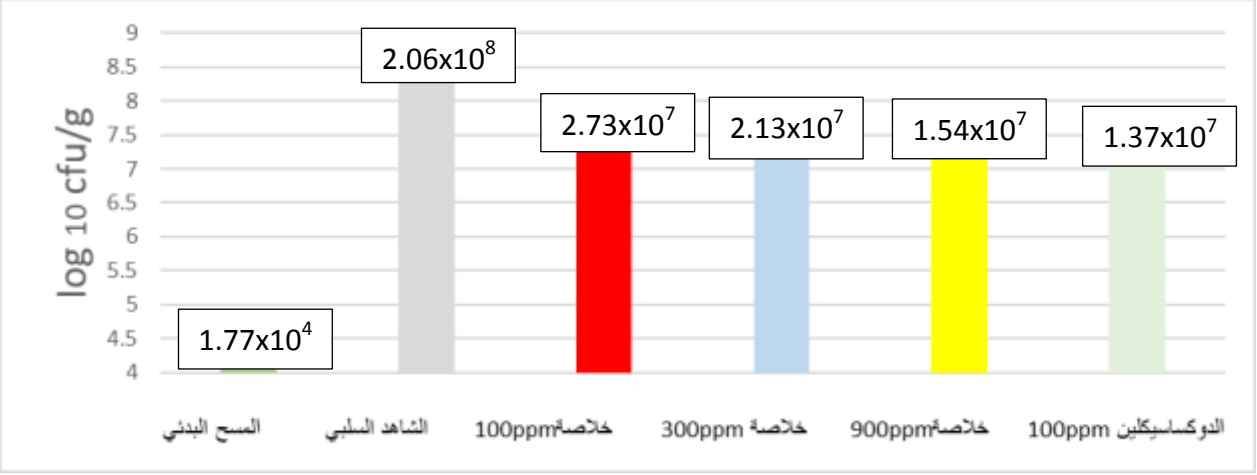
في اليوم السابع من تطبيق الخلاصة الفينولية، لوحظ أن التعداد العام للجراثيم ازداد في جميع العينات المعالجة بالخلاصة الفينولية عن التعداد في اليوم الأول حيث بلغ للعينات المعالجة بتراكيز (100ppm–300ppm–900ppm) 5.33 $\log_{10}$ cfu/g و 5.19 $\log_{10}$ cfu/g و 5.13 $\log_{10}$ cfu/g على التتالي. بينما وصل التعداد العام لعينة الشاهد السلبي إلى 6.84 $\log_{10}$ cfu/g شكل(3) وبذلك يكون قد تجاوز الحد المسموح به وهو 10^6 CFU/ g (Ann *et al* .2019) ،و بلغت نسبة تأثير الخلاصة على خفض التعداد الجرثومي للتراكيز (100ppm–300ppm–900ppm) مقارنة مع الشاهد السلبي 96% و 97% و 98% على التتالي، وبمقارنة تأثير الخلاصات الفينولية لإكليل الجبل مع الشاهد الإيجابي (الدوكساسيكلين) فقد كانت فعالية الخلاصة

بتراكيز (100ppm–300ppm–900ppm) تعادل (43%–60%–68%) على التتالي من فعالية الدوكساسيكلين ومنه نجد أن الخلاصة بتركيز 900ppm هي الأفضل تأثيراً.



الشكل (3) تأثير خلاصة إكليل الجبل على عينات الفروج بعد مرور سبعة أيام على تطبيقها

يظهر الشكل (4) النتائج بعد أربعة عشر يوماً من تطبيق الخلاصة الفينولية، ازداد النمو الجرثومي بشكل كبير مقارنة مع المسح البدئي، من جهة ثانية بلغت قدرة الخلاصة الفينولية على خفض التعداد الجرثومي للتراكيز (100ppm–300ppm–900ppm) مقارنة مع الشاهد السلبي 86% و 89% و 92% على التتالي، وعلى الرغم من هذه الفعالية فإن جميع العينات المعالجة بالخلاصة الفينولية حتى التركيز 900ppm والعينة المعالجة بالدوكساسيكلين قد تجاوزوا الحد المسموح به وهو 7 $\log_{10}$ Cfu/g (Senter, Arnold *et al.* 2000) بعد مرور أربعة عشر يوماً من تطبيق الخلاصة. بمقارنة تأثير الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل مع الشاهد الإيجابي (الدوكساسيكلين) كانت فعالية الخلاصتين بتركيز (100ppm–300ppm) (50%–64%) بينما بلغ تأثير الخلاصة الفينولية بتركيز 900ppm (88%) من فعالية الصاد الحيوي .



الشكل (4) تأثير خلاصة إكليل الجبل على عينات الفروج بعد مرور أربعة عشر يوماً على تطبيقها

وعند إجراء مقارنة من خلال تطبيق اختبار استيودينت بين التعداد العام لجميع تراكيز الخلاصة والشاهد السلبي فكانت ($p<0.05$) وبالتالي تملك جميع تراكيز الخلاصة فعالية مضادة للجراثيم. كما تم تطبيق اختبار استيودينت بين تأثير الخلاصة الفينولية والصاد الحيوي على التعداد العام للجراثيم كانت قيمة ($p<0.05$) وكان الدوكساسيكلين هو الأفضل تأثيراً حيث وصل التعداد العام لعينة الفروج المعالجة بالدوكساسيكلين في اليوم الرابع عشر إلى $7.139\log_{10}$ cfu/g بينما في الخلاصة بتركيز 900ppm وصل إلى $7.19\log_{10}$ cfu/g

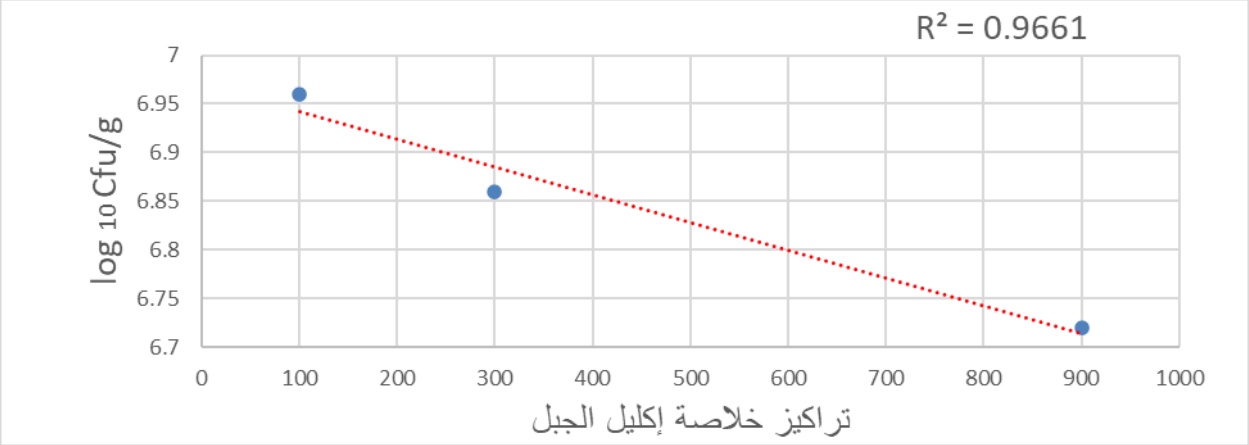
تأتي فعالية إكليل الجبل المضادة للجراثيم وخاصة الجراثيم إيجابية الغرام لوجود المركبات اللاقطبية كمركبات ثنائية التربين الفينولية التي تعمل على زيادة نفوذية الغشاء الخلوي (Essid, Smeti *et al.* 2018) .

إن تأثير الخلاصة في دراستنا كانت أقل بالمقارنة مع دراسة أجريت من قبل Zhang وزملاؤه حيث قاموا بتطبيق الخلاصة الإيتانولية لإكليل الجبل بتركيز 1% ، حيث وصل معه التعداد العام في اليوم الخامس عشر إلى 6.32 $\log_{10}$Cfu/g (Zhang, Wu *et al.* 2016).وهناك دراسة أخرى أجريت من قبل الباحث Teruel وزملائه حيث تم إضافة إكليل الجبل بتركيز 120ppm على عينات من السجق المصنعة من لحم الخنزير والمخزنة لمدة 15 يوم بدرجة حرارة $^{\circ}$C 4، حيث وصل التعداد العام للجراثيم في اليوم الخامس عشر إلى $6.9\log_{10}$Cfu/g (Teruel, Egea *et al.* 2014) ، بينما في دراستنا وصل التعداد العام للعينات المضاف لها خلاصة إكليل الجبل بتركيز 100ppm إلى $7.43\log_{10}$Cfu/g في اليوم الرابع عشر.

وهناك دراسة أخرى أجريت من قبل Essid وزملائه على السجق المصنع من لحم الأغنام خلال تجفيفه، حيث طبقت مساحيق إكليل الجبل على السجق بتراكيز 4%-2% وتمت مراقبتها لمدة 6 أيام، حيث انخفض التعداد العام في يوم تطبيق الخلاصة بتركيز 4% إلى 3.77 $\log_{10}$Cfu/g . بينما في اليوم السادس وصل التعداد العام لعينة الشاهد السلبي إلى 6.07 $\log_{10}$Cfu/g ، والعينات المعالجة بمساحيق إكليل الجبل بتركيز 2% وصل تعدادها إلى 5.38 $\log_{10}$Cfu/g و بتركيز 4% وصل إلى 4.17 $\log_{10}$Cfu/g(Essid, Smeti *et al.* 2018) .

3- دراسة علاقة الارتباط بين تراكيز الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل والتأثير المضاد للجراثيم

من خلال الشكل (5) لوحظ وجود علاقة ارتباط قوية بين تراكيز الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل وتأثيرها على الجراثيم حيث بلغت قيمة $R^2=0.9661$ ، وهذا يدل على أنه كلما ازداد تركيز الخلاصة الفينولية يزداد تأثيرها المضاد للجراثيم، وقد أكد اختبار بيرسون على قوة الارتباط بين تراكيز الخلاصة المختلفة والتعداد العام للجراثيم. إن هذه النتيجة متوافقة مع دراسة أجريت من قبل Zhang وزملاؤه حيث أكد على وجود علاقة ارتباط قوية بين المحتوى الفينولي للخلاصات النباتية وتأثيرها المضاد للجراثيم (Zhang, Wu *et al.* 2016) ، حيث يمكن للمواد الفينولية أن تحطم الجدار الخلوي للجراثيم وتوقف عمل الغشاء الخلوي وتؤثر على اصطناع DNA-RNA وتخرب البروتينات الناقلة (Papuc, Goran *et al.* 2017).



الشكل (5) علاقة الارتباط بين تراكيز الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل وتأثيرها على التعداد العام للجراثيم

الاستنتاجات والتوصيات

- أظهرت الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل فعالية مضادة للجراثيم خلال فترة تخزين لحوم الفروج التي وصلت إلى 14 يوماً. مما يمكن من استخدامها لزيادة فترة صلاحية اللحوم المحفوظة.
- وجود علاقة ارتباط قوية بين تراكيز الخلاصة الفينولية لإكليل الجبل وتأثيرها المضاد للجراثيم.
- استخدام خلاصة إكليل الجبل لحفظ منتجات اللحوم عوضاً عن المواد الحافظة الكيميائية.

Reference

1. AL ASAAD, N., AND D. AL DIAB. *Antioxidant Activity and Phenolic Content of Eight. Mediterranean Fruit Juices*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology. 9(3), 2016,: p. 3299-3304.
2. AL DIAB, D., N. HASAN AND A. NEZAM . *Using albumin denaturation inhibition method to determine the anti-inflammatory activity of phenolic compounds in some locally available fruit juices.* Tishreen University Journal-Medical Sciences, 2021, Series 43(1)
3. ALDIAB, D. *Usage of Phenolic Extract of Grape Waste as Natural Antioxidant for Milk Proteins.*journal of chemical and pharmaceutical sciences 11,2018,2.
4. ALDIAB, D. *Usage of Phenolic Extract of Grape Waste as Natural Antioxidant for Milk Proteins*. journal of Chemical and Pharmaceutical sciences11,2018,2.
5. ALDIAB, D., *Effect of preparation conditions on phenolic content and antioxidant activity of various teas and herbal teas.* Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences, 2018. 11(3): p. 222-226.
6. AL-DIAB, D., S. SULAEMAN AND D. N. DEEB . "*Studying the Effect of Storage conditions on The Fungal Growth in Infant Cereal Products at Local Market*." Tishreen Univer C sity Journal- Medical Sciences, 2020, Series 42(1)
7. ALSALTI, A. A., HASAN, N., & ALDIA, D. *In-vitro and In-vivo hypoglycemic efficacy of Rosa damascena petals extracts*. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences. Assiut*, *45*(2), 2022, 593-604.

8. ANN, Z. F. AND Y. RUKAYADI . "*Antibacterial activity of ethanolic Piper cubeba L. extract against Escherichia coli and its effect on microbiological quality of raw chicken meat during storage*." International Food Research Journal 26(3) , 2019,: 933-944.
9. BIANCHIN, M., D. PEREIRA, J. D. F. ALMEIDA, C. D. MOURA, R. S. PINHEIRO, L. F. S. HELDT, C. W. I. HAMINIUK AND S. T. CARPES. *"Antioxidant properties of lyophilized rosemary and sage extracts and its effect to prevent lipid oxidation in poultry pâté*." Molecules 25(21),2020, 5160
10. BOIX, Y.F., ET AL., *Glandular trichomes of Rosmarinus officinalis L.: Anatomical and phytochemical analyses of leaf volatiles.* Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology. 145(4),2011, p. 848-856.
11. BURDASS, D., J. GRAINGER AND J. HURST . "*Basic practical microbiology—a manual*." Charles Darwin House, 2016, 12.
12. DEEB, D. N., D. ALDIAB AND S SULAEMAN . *"Effect of storage conditions on bacteriological growth in infant cereals*." Research Journal of Pharmacy and Technology 14(2),2021, 667-672
13. DOULGERAKI, A.I., *ET AL., Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions.* International journal of food microbiology,. **157**(2).2012. p. 130-141.
14. ESSID, I., S. SMETI AND N. ATTI (2018). "*Effect of rosemary powder on the quality of dry ewe sausages.*" Italian Journal of Food Science , 2018, 30.4
15. ESSID, I., S. SMETI AND N. ATTI . "*Effect of rosemary powder on the quality of dry ewe sausages*." Italian Journal of Food Science 30(4),2018.
16. Food chemistry .H.-D. Belitz · W. Grosch · P. Schieberle .2009
17. HORWITZ, W. AND G. LATIMER JR . "*Association of Official Analytical Chemists–AOAC." Official methods of analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg: AOAC International*, 2006.
18. MUNOZ, L. *Spanish medicinal plants. Rosmarinus officinalis L.(Lamiaceae)(rosemary).* Studia Botanica, . 21, 2002, p. 105-118.
19. NEZAM, A., D. AL DIAB AND N. HASAN. "*In-vitro Anti-inflammatory activity of Total Phenolic content of some fruit juices in Syria*." Research Journal of Pharmacy and Technology 14(7), 2021, 3685-3688.
20. NICHOLSON, R. AND W. VERMERRIS . *Phenolic compound biochemistry, Springer Berlin, Germany*,2006.
21. NIETO, G., G. ROS AND J. CASTILLO. "*Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (Rosmarinus officinalis, L.):* A review." Medicines 5(3),2018, 98
22. NKUKWANA, T.T., ET AL., *Fatty acid composition and oxidative stability of breast meat from broiler chickens supplemented with Moringa oleifera leaf meal over a period of refrigeration*. Food Chemistry,. 142: p.2009. 255-261.
23. P. R. HAYES (ED). *Food Microbiology and Hygiene Springer* Science+Business Media Dordrecht,1995 .
24. PAPUC, C., G. V. GORAN, C. N. PREDESCU, V. NICORESCU AND G. STEFAN. *Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products:* Classification, structures, sources, and action mechanisms." Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 16(6),2017, 1243-1268

25. PAPUC, C., G. V. GORAN, C. N. PREDESCU, V. NICORESCU AND G. STEFAN. *Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf-life extension of meat and meat products: Classification, structures, sources, and action mechanisms*." Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 16(6),2017, 1243-1268

26. PATSIAS, A., ET AL., *Combined effect of freeze chilling and MAP on quality parameters of raw chicken fillets.* Food Microbiology,. 25(4).2008. p. 575-581.

27. SAHUNIE, A., & AL-DIAB, D. *تأثير خلاصات إكليل الجبل وخلاصات المردكوش على الثباتية التأكسدية خلال المعالجة الحرارية لزيت دوار الشمس.* Tishreen University Journal-Medical Sciences Series, *45*(1),2023, 293-305.

28. SENDOUS, N., D. ALDIAB. *Study of some affecting factors on phenolic compounds levels and their antioxidant activity in some functional juices*. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 40(5),2018.

29. SENTER, S. D., J. W. ARNOLD AND V. CHEW. *Apc values and volatile compounds formed in commercially processed, raw chicken parts during storage at 4 and 13 C and under simulated temperature abuse conditions*." Journal of the Science of Food and Agriculture 80(10),2000, 1559-1564

30. SHARMA, S. "*Food preservatives and their harmful effects*." International journal of scientific and research publications 5(4),2015, 1-2.

31. SIROCCHI, V., G. CAPRIOLI, C. CECCHINI, M. M. COMAN, A. CRESCI, F. MAGGI, F. PAPA, M. RICCIUTELLI, S. VITTORI AND G. SAGRATINI. *"Biogenic amines as freshness index of meat wrapped in a new active packaging system formulated with essential oils of Rosmarinus officinalis*." International journal of food sciences and nutrition 64(8),2013, 921-928

32. TAJKARIMI, M., S. A. IBRAHIM AND D. CLIVER . "*Antimicrobial herb and spice compounds in food.*" Food control 21(9),2010, 1199-1218

33. TERUEL, M. R., M. D. GARRIDO, M. C. ESPINOSA AND M. B. LINARES. *"Effect of different format-solvent rosemary extracts (Rosmarinus officinalis) on frozen chicken nuggets quality*." Food Chemistry 172,2015, 40-46.

34. TERUEL, R., M. EGEA, M. MARIELLA, M. GARRIDO AND M. LINARES . "*Rosemary extract effect on fresh sausages preservation to replace sulphites*." Session VIII Muscle Biochemistry and Meat Quality Session VIII. a Pages: 462,2014.

35. VICTÓRIO, C. P., C. L. S. LAGE AND R. M. KUSTER . "*Flavonoid extraction from Alpinia zerumbet (Pers.) Burtt et Smith leaves using different techniques and solvents*." Eclética Química 34(1), 2009,19-24.

36. ZHANG, H., J. WU AND X. GUO. "*Effects of antimicrobial and antioxidant activities of spice extracts on raw chicken meat quality*." Food Science and Human Wellness 5(1), 2016, 3.