تأثير إضافة زيت قشر الليمون على منع النمو الجرثومي مخبرياً وصناعياً

The effect of adding lemon peel oil in prevent microbes growth, in vitro and industrially

م. دانيا الحصني [1] د. نسرين البيطار[2] أ. د . ياسر العمر[3]

Eng. Dania Al Hosni[1] Dr. Nisreen Al Bitar[2] Prof. Dr .Yaser Al Omar[3]

(1) طالبة ماجستير، قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، جامعة البعث، سورية.

(1) Master student, Department of Food Engineering, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Al-Baath University, Syria.

(2) قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، جامعة البعث، سورية.

(2) Department of Food Engineering, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Al-Baath University, Syria.

(3) قسم أمراض الحيوان، كلية الطب البيطري، جامعة حماه، سورية.

(3) Department of Animal Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Hama University, Syria.

الملخص

يهدف البحث إلى فحص وتقييم الفعالية المضادة للميكروبات لزيت قشر الليمون (Citrus Limon) المستخلص بالتقطير بالماء ضد بكتريا العنقوديات الذهبية (*Staphylococcus aureus*) الموجبة لصبغة غرام و السالمونيلات (*Salmonella spp*) والاشريكية القولونية (*Escherichia coli*) السالبة لصبغة غرام وضد أعفان *Aspergillus niger* و*Aspergillus falvus* - و *Rhizopus sp* لكونها المسببات الشائعة لأمراض الإنسان فضلاً عن تسببها في تلف المنتجات الغذائية. تم استخدام طريقة الانتشار بالحفر وقياس قطر دائرة التثبيط أظهرت النتائج أن بكتريا الاشريكية القولونية (*Escherichia coli*) قد كانت الأكثر حساسية للزيت من بين أنواع البكتريا المدروسة في حين كان فطر*Aspergillus niger* الأقل مقاومة مقارنة مع بقية الفطور المدروسة. تم إضافة الزيت المستخلص بثلاثة نسب إلى خليط الكيك (0.3-0.5-1%) إضافة لرش سطح الكيك بالزيت بعد الخبز والتبريد كمعاملة رابعة وذلك لمعرفة مدى فعالية المستخلص في منع النمو الميكروبي في الكيك المخبوز ومدى تأثيره على الخصائص الفيزيائية والكيميائية للكيك مقارنة مع شاهد (بدون إضافة) ، وقد بينت النتائج أن بإضافة زيت الليمون العطري بنسبة 1% كان فعالاً في منع نمو الأعفان والبكتريا خلال مدة حفظ الكيك التي بلغت 28 يوم بدرجة الحرارة المحيطة (20±2).ولم يكن له أي تأثير سلبي على درجة الحموضة والنشاط المائي ، بل كان هناك تحسين طفيف لصلابة ولون لبابة الكيك .

الكلمات المفتاحية: زيوت عطرية، زيت قشر الليمون، كيك، مضادات ميكروبية.

Abstract

The study was targeted to evaluate the activity of microbes inhibition of lemon peel oil (Citrus limon) extracted using water distillation, as antibacterial of *Staphylococcus. aureus* (Gram-positive)

©2023 The Arab Center for the Studies of Arid Zones and Dry Lands, All rights reserved. **ISSN: 2305-5243; AIF-023 (p: 15 -28)**

,*Salmonella spp and Escherichia coli* (negative gram) and anti-fungs (*Aspergillus niger Aspergillus falvus and Rhizopus sp,* as long as those considered main causes of human diseases in addition to cause the spoilage of food products . The method of well diffusion was used to measure the cycle diameter of inhibition the cycle diameter, *Escherichia coli* bacteria was the most sensitive of essential oil comparing to other studied bacteria. Fungs of *Aspergillus niger* was less resistance too, comparing with other fungs. The results were showed that the *Escherichia coli* bacteria was the most sensitive to essential oil comparing to other studied bacteria. While Fungs of *Aspergillus niger* was less resistance comparing with other studied fungus. The extracted essential oil was mixed with cake in three levels (1-0.5and 0.3 %) In addition to spraying the surface of the cake with oil after baking and cooling as a fourth treatment to illustrated the effectiveness of the extract in inhabitation of microbes growth in backed cake and its effect in the physical properties of the cake compared with control(without addition). The results were showed that the addition of lemon essential oil at a rate of 1% was effective in preventing the growth of fungus and bacteria during the cake keeping period, which reached 28 days at ambient temperature (20±2). There was no any negative effect on pH degree and water activity (a_w) but there was a slight improvement in the hardness and color of the cake crumb.

Key words: Essential oils, lemon peels extract, Cake, Anti microorganisms.

المقدمة

تؤدي المنتجات المخبوزة دوراً هاماً في نظامنا الغذائي، فهي تؤمن معظم احتياجنا من السعرات الحرارية ونصف احتياجنا من البروتين إضافة إلى كونها منتجات جاهزة ومريحة (Kent, 1983) وهذا ما زاد من حجم مبيعاتها في السنوات السابقة. يعد الكيك مثالاً جيداً عن المنتجات المخبوزة التي حظيت باهتمام متزايد فهو منتج محبب للناس في جميع أنحاء العالم، والكيك عبارة عن خبز أجريت عليه بعض التعديلات والإضافات لإغنائه من سكر ودسم وبيض وغيرها. الكيك عبارة عن رغوة شبه جافة ناتجة عن تصلب وسط سائل ينتفخ بواسطة الغازات الناتجة عن تفاعل المواد الكيميائية أو الهواء المتمدد أو بخار الماء المتكون (Solaka, 1990). يتمتع الكيك برطوبة عالية مما يجعله عرضة لنمو وتكاثر الكائنات الحية الدقيقة خاصة عند تخزينه بدرجة حرارة الغرفة (Saranraj and Geetha, 2012).

في وقتنا الحاضر، لا يكاد يخلو أي منتج غذائي في الغالب من مواد حافظة، الهدف من إضافة هذه المواد هو محاربة التلف الميكروبي الذي تسببه كل من البكتيريا والعفن والفطريات والخميرة، تستخدم المواد الحافظة في الأغذية أيضاً لإبطاء أو منع التغييرات في اللون أو النكهة أو الملمس وتأخير التزنخ، وبالتالي باستخدام هذه المواد يصبح المنتج قادراً على الاحتفاظ بجودته أطول فترة ممكنة. وفي السنوات الأخيرة تم الإبلاغ عن أن المواد الكيميائية المستخدمة كمواد حافظة في الأغذية تمتلك آثاراً جانبية، يمكن أن يكون تفاعلها خفيفاً جداً وقد يهدد الحياة، وخاصة عند استخدامها بكميات غير منضبطة قد تسببت الإصابة بأمراض سرطانية وغيرها من الأمراض التنكسية مما لزم البحث عن بدائل طبيعية لها (Skandamis *et al.*,2001). في الخبز ومنتجات المخابز الأخرى يتم استخدام حمض السوربيك أو البنزويك أو أحد أملاحهما كمواد حافظة كيميائية، مؤخراً تم الإبلاغ عن مشكلة تكون البنزين من حمض البنزويك في الأطعمة عن طريق نزع ذرة كربوكسيل من قبل بعض الأحياء الدقيقة المسببة للتلف (Krisch *et al.*, 2011). وهذا ما زاد من قلق المستهلكين تجاه هذه المواد وزاد من مطالبتهم الملحة لاستبدالها بمواد حافظة من مصادر طبيعية وخاصة استبدال كل من السوربات و البنزوات في المنتجات المخبوزة (Samapundo *et al.*,2006)، مما دفع العلماء لإجراء بحوث مكثفة عن بدائل للمواد الحافظة الاصطناعية من مصادر طبيعية (Oiye and Muroki, 2002).

تعد الزيوت العطرية المستخلصة من النباتات ومكوناتها من أهم البدائل الطبيعية التي تغلبت على هذه المشاكل، كونها مثبطات معروفة للكائنات الحية الدقيقة (Macwan *et al.*, 2016). تعرف الزيوت العطرية المستخلصة من النبات بأنها سوائل زيتيه طبيعية معقدة التركيب تستخرج من أجزاء مختلفة من النبات سواء من الأوراق أو الأزهار أو القشور أو البذور وغيرها ، يتم استخلاصها بعدة طرق إما تقطيرها بالجرف بالبخار أو الماء أو استخلاصها بالمذيبات أو عصرها على البارد (Giwa *et al.*, 2018) ، تمتلك الزيوت العطرية خواصاً مضادة للفيروسات والبكتريا والفطريات وخواصاً مبيدة للحشرات (Sarkic and Stappen, 2018). (أبلغت العديد من الدراسات عن الفعالية المضادة للزيوت العطرية ضد مجموعة واسعة من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام وضد مجموعة مختلفة من الخمائر والفطور وقد وصل تأثيرها أيضا على بعض الميكروبات المقاومة للمضادات الحيوية (and

(Soni Soni, 2014) (Kirbaşlar *et al*., 2009)، في دراسته عمل على المقارنة بين فعالية الزيت العطري لمجموعة من ثمار الحمضيات التركية و بعض المضادات الحيوية (البنسلين-جي ، الأمبيسيلين ، السيفوتاكسيم ، فانكومايسين) في منع نمو بعض أنواع البكتريا والفطريات ، أعطى الزيت العطري المستخلص من قشور الحمضيات فعالية مقاربة لبعض أنواع المضادات الحيوية ضد البكتريا وكان ذا فاعلية على جميع أنواع الفطريات المدروسة على عكس المضادات الحيوية التي لم تبدِ الفطريات أية حساسية لها، وهذا ما جعل الزيوت العطرية لقشور الحمضيات من المرشحات الجيدة كمواد حافظة طبيعية في الأغذية .

زيوت الحمضيات هي خليط من أكثر من مائة مركب يمكن تقريبه إلى ثلاثة أجزاء: هيدروكربونات تيربين والمركبات المؤكسجة والمركبات غير المتطايرة، يتكون زيت قشر الليمون العطري بشكل أساسي من هيدروكربونات أحادية التربين بنسبة 89.9 % وهيدروكربونات مضاعفة مرة ونصف بالنسبة للتربين بنسبة 5.1% ومركبات استيرية بنسبة 1.8% . تم استخدام زيوت الحمضيات بشكل واسع صناعياً في العديد من المنتجات بما في ذلك الأغذية والمشروبات (Kotzekidou *et al*., 2007)، في الخبز والمنتجات المخبوزة. أشارت دراسة إلى أن إضافة زيت قشر الجير بتركيز عالٍ كان فعالاً في تثبيط كل من*Staphylococcus epidermidis* و *Bacillus subtilis* التي تم عزلها من الكيك والمعجنات المملوءة بالكريما مما أدى إلى تحسين فترة تخزينها (jafari *et al* ,.2011)، وفي دراسة أخرى بينت بأن إضافة كل من زيت قشر الليمون والبرتقال إلى الكيك حسن من خصائصه الحسية وقلل من صلابته وخفض النمو الميكروبي مما أطال مدة تخزينه (Amer, 2018).

هدف البحث:

1- تقييم الفعالية المضادة للكائنات الحية الدقيقة لزيت قشر الليمون المستخلص بالتقطير بالماء.

2-إطالة مدة حفظ الكيك باستخدام مواد حافظة طبيعية مستخلصة من زيت قشر الليمون للحد من الأضرار الناتجة عن العضويات الدقيقة، وتحديد التركيز الأمثل للحفظ.

مواد البحث وطرائقه

مواد البحث:

مكونات الكيك: تم الحصول على مكونات الكيك من السوق المحلية في سورية، دقيق استخرج 72% والبيض والسكر والزيت والحليب ومسحوق الخبيز وبعض المحسنات .

1- الحمضيات: تم جمع ثمار فاكهة الليمون (انتردوناتو) (Citrus limon) الناضجة السليمة والخالية من العيوب من السوق المحلية في مدينة حماه / سورية.

2- السلالات البكتيرية والفطريات: (*Staph. aureus, Salmonella spp, E. coli ,Rhizopus spp, Aspergillus spp and Penicillium spp*) تم الحصول عليها من مجموعة الاحياء الدقيقة / كلية الطب البيطري / جامعة حماه/ سوريا.

3- اوساط الزرع الجرثومي: وسط أجارمولر هينتون (MHA) Mueller-Hinton agar- وسط الأجار المغذي (NA) Agar Nutrient- وسط شيجلا سالمونيلا أجار(SS) Salmonella Shigella agar - وسط بيرد باركير أجار (BP) Bird Parker Agar - وسط بطاطا ديكستروز أجار(PDA) Potato dextrose agar - وسط فيوليت ريد اجار (VRB) Violet Red Bile Agar، جميع الأوساط المستخدمة هي عبارة عن أوساط مصدرها شركة هايميديا الهندية (Himedia).

4- المواد الكيميائية: تم الحصول على كبريتات الصوديوم اللامائية من مخبر الكيمياء الحيوية / كلية الهندسة الكيميائية والبترولية / جامعة البعث.

5- أقراص حساسية من الصادات الحيوية (الأمبيسللين والسيفالكسين والبنسللين والستربتومايسين والأموكسيللين والسبيراميسين والانروفلوكساسين والسيفيبيم.

طرائق البحث:

- **استخلاص الزيت العطري من قشر الليمون بالتقطير بالماء (Water distillation):**

تم غسل الثمار جيداً وتجفيفها ثم بُشرت طبقة الفلافيدو (flavedo) الصفراء بمبشرة يدوية وأخذ وزن (150 g) منها باستخدام ميزان رقمي ومن ثم نُقلت إلى قارورة مستديرة القاع مع كمية كبيرة من الماء المقطر لتغطيتها، تم توصيل القارورة بالعمود الثابت المتصل بالمكثف ،يتبخر الماء حاملاً الزيت العطري ويتجمع في المكثف الذي يكثف خليط الزيت والبخار ، يُجمع ناتج التقطير الذي هو عبارة

طبقتين من الزيت والماء (الزيت في الأعلى الماء في الأسفل) في سيلندر وبعد ذلك يسحب الزيت بماصة معقمة ويجفف بكبريتات الصوديوم اللامائية ويحتفظ به في زجاجة عاتمة عند الدرجة 4 مئوية لحين الاستخدام (Giwa *et al*., 2018).

- **دراسة الفعالية المضادة للميكروبات لزيت قشر الليمون المستخلص:**

تم إجراء الاختبار باستخدام طريقة الانتشار بالحفر وحدد زمن بدء قراءة النتائج بعد 48 للبكتريا و 72 ساعة للفطور بواسطة قياس أقطار منطقة تثبيط النمو (Inhibition zone) حيث اتبعت طريقة (Thitilertdecha *et al*., 2008).

- **دراسة الفعالية المضادة للبكتريا وقياس قطر دائرة التثبيط:** حضرت السلالات البكتيرية قبل يوم من إجراء الاختبار، نوع ايجابي الغرام *Staphylococcus aureus* ونوعين جرثوميين سلبيي الغرام *Escherichia coli* و *Sallmonela.sp* حيث تم استنبات السلالات في مرق المغذيات (nutrient broth) وحضنت عند الدرجة 37 مئوية لمدة 24 ساعة وبعدها تم نشر 100ميكرولتر من اللقاح القياسي لكل بكتريا (10^6 CFU/ mL; 0.5 Mac-Farland) بالتساوي على أطباق Muller Hinton Agar الذي ورد سابقاً باستخدام ماسحات قطنية معقمة، ومن ثم تركت الأطباق عند درجة حرارة الغرفة لمدة 15-20 دقيقة للسماح لسطح الأجار بالجفاف بعد ذلك تم إجراء حفر بقطر 5mm باستخدام بنشر معدني خاص باختبارات الترسيب في الآجار الهلامي) وملئ كل حفرة بكمية 20µl من الزيت العطري المستخلص (Deans and Dorman,1999)، وبعدها حضنت الاطباق على الدرجة 37 درجة مئوية لمدة 48 ، 24 ساعة. تم تسجيل قطر دائرة التثبيط إلى أقرب قياس معياري بالميلي متر بشكل يشابه أقراص التحسس. كما استخدم أقراص الحساسية كشواهد للزيوت المستخدمة واستخدمت أقراص من الصادات الحيوية ذات الطيف المتوسط كالأمبيسلين والسيفالكسين والبنسللين والستربتومايسين وصادات ذات طيف واسع كالأموكسيللين والسبيراميسين والانروفلوكساسين والسيفيبيم.

- **دراسة الفاعلية المضادة للفطريات وقياس قطردائرة التثبيط**: تم زراعة العزلات الفطرية على مستنبت بطاطا ديكستروز اجار عند الدرجة 28 مئوية لمدة 3-5 أيام ، تم أخذ أطباق ديكستروز اجار معقمة وباستخدام البنشر المعدني تم اجراء حفر بقطر 5mm على الاجار ومُلئت الحفر 20 µl من الزيت المستخلص ، ولُقح القرص الفطري في مركز الطبق ، تم تحضين الاطباق عند الدرجة 28 مئوية ،تم إجراء التقييمات عن طريق القياس اليومي لقطر المستعمرة ، بدءاً من 24 ساعة بعد بدء التجربة والانتهاء عندما تمت تغطية ثلثي سطح اللوحة بالفطر ، تم اعتبار ظهور مناطق التثبيط على أنه وجود تأثير مضاد للميكروبات في مادة الاختبار.

- **تحضير كيك الكؤوس (الكب كيك):** مكونات الكيك دقيق (100غ)، بيض (85غ)، سكر (85غ)، زيت عباد الشمس (65غ)، ماء(25غ)، مسحوق الخبيز (4غ)، مع إضافة بعض المحسنات .

اعتبر خليط الكيك السابق هو كيك الشاهد المقارن مع باقي المعاملات، تم تحضير المعاملات كما يلي:

- ✓ الخلطة (A1) تم إضافة 0.3 %من زيت قشر الليمون الى الخليط .
- ✓ الخلطة (A2) تم إضافة 0.5 % من زيت قشر اليمون الى الخليط.
- ✓ الخلطة (A3) تم إضافة 1% من زيت قشر الليمون الى الخليط .
- ✓ الخلطة (A4) تم رش سطح الكب الكيك بالزيت بعد الخبز والتبريد.

- **تحضير الكيك:**

تم تحضير الكيك من خلال خلط السكر مع البيض على سرعة متوسطة لمدة 5 دقائق ومن ثم إضافة زيت عباد الشمس مع النسب المختلفة من الزيوت العطرية لكل خلطة وثم اضافة الدقيق بالتناوب مع الماء و الخلط بسرعة منخفضة لمدة 3 دقائق ومن ثم إجراء الخبيز بالفرن عند الدرجة 170°C لمدة 20 دقيقة، بحيث يحضر الكيك بواقع 3 مكررات 1 للفحوصات الفيزيائية و 1 للفحوصات الميكروبية و1 للفحوصات الكيميائية.

- **حفظ الكيك:** بعد ترك الكب كيك يبرد لمدة 60 دقيقة يتم تخزينه في أكياس من السلوفان وإغلاقها بألة لحام خاصة وذلك عند درجة الحرارة المحيطة (20±2) لمدة 28 يوم .

- **الاختبارات الكيميائية للكيك:** تقدير درجة الحموضة pH: تم وزن 5 g من كل عينة وأضيف لها 50 مل ماء مقطر ومزجت جيداً وقيس الرقم باستخدام جهاز قياس الحموضة الالكتروني HM- 60 G (pH Meter) وذلك وفق الطريقة القياسية (AACC 01-52**).**

- **الاختبارات الفيزيائية للكيك:**

- تقدير الفعالية المائية: تم تقدير النشاط المائي باستخدام جهاز (Lab master a_w novasina).
- قياس القوام: باستخدام جهاز (TAXT plus texture analyser) بحيث يقيس قوة الاختراق العظمى (نيوتن) وتم ضبط الجهاز بحيث استخدم حساس SMS p/4 وكانت الشروط المطبقة: السرعة:mm/s 5 والمسافة : 20 mm
- تحديد لون الكيك: (konica Minolta CM- 3500d, Japan).

- **الاختبارات الميكروبيولوجية:** في بداية التخزين تم إجراء بعض التحاليل الميكروبية للكشف عن وجود بعض أنواع البكتريا المسببة للتسممات الغذائية (في المنتجات المخبوزة) وفق (Swalson and Hanlin, 2001)، ومن ثم إجراء التعداد العام للبكتريا الهوائية والتعداد العام للخمائر والفطور كل 7 أيام خلال فترة التخزين وذلك للتأكد من سلامة الكيك على الصحة تم استخدام طريقة أجار عد الأطباق (PCA).

إعداد التخفيف المطلوبة للتعداد: حضر التخفيف باتباع طريقة (Seeley and VanDemark,1962) بوزن 10 غ من الكيك بأكياس معقمة وإضافة90 مل من بيئة (Peptone Water PW) ومن ثم التجنيس في جهاز ستوماخر لمدة 60 ثانية لتحضير التخفيف الاول 10^{-1}.

1. الكشف عن وجود المكورات العنقودية موجبة التخثر: تم إجراء الكشف عن وجود المكورات استنادا إلى ما ذكره (Baird-barker 1993) طريقة تلقيح الأطباق المصبوبة وذلك بنقل 0.1 مل من التخفيف السابق وفرده على الوسط الانتقائي الخاص بالمكورات (Baird-parker agar) بواسطة ناشر زجاجي معقم وتراعى وجود الظروف المعقمة، حضنت الأطباق عند درجة حرارة 37 مئوية لمدة 24 ساعة ، وتم حساب تعداد البكتريا الحية في 1 غ من عينة الكيك بضرب عدد المستعمرات في الطبق في التخفيف المناسب.
2. الكشف عن وجود الاشريكية القولونية: كما الطريقة في الكشف عن المكورات ولكن باستخدام وسط فيوليت ريد اجار (Violet Red Bile Agar).
3. الكشف عن وجود السالمونيلات: تم إجراء الكشف عن وجود السالمونيلا من خلال مرق سيلينت سيستين كوسط تكثيري مسبق للكيك قبل الزرع ومن ثم أخذ مسحة وزراعتها على وسط شيجلا سالمونيلا اجار الانتقائي (SS) وتحضينها عند الدرجة 37 لمدة 24 ساعة (Andrews and Hammack, 2007).
4. التعداد العام للبكتريا الهوائية: أجري الاختبار بنقل 0.1 مل من التخفيف السابق إلى أطباق بتري المعقمة الحاوية على وسط Nutrient Agar وباستخدام قضيب زجاجي معقم على شكل حرف L تم إجراء فرد الكمية المذكورة ، وتم تحضين الأطباق عند الدرجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة وقرأت النتائج من خلال عد المستعمرات النامية في الأطباق التي تحتوي 300- 30 مستعمرة وجرى تقدير أعداد البكتريا بضرب عدد المستعمرات بمقلوب التخفيف ويعبر عن النتيجة بعدد الخلايا بالغرام الواحد من العينة حسب القانون التالي (Seeley and VanDemark,1962)، (Harrigan and McCance ,1976)

$$\propto = \frac{a \times 100}{10}$$

$\propto$: التعداد العام للجراثيم، a : أعداد المستعمرات في الطبق الواحد

5. التعداد العام للخمائر والفطور: أجري الاختبار بنقل 0.1 مل التخفيف من التخفيف السابق إلى أطباق بتري معقمة حاوية على وسط Potato Dextros Agar (PDA) وباستخدام قضيب زجاجي معقم على شكل حرف L تم إجراء فرد الكمية المذكورة ، وتم تحضين الأطباق عند الدرجة 25 درجة مئوية لمدة 72 ساعة من خلال عد المستعمرات النامية في الأطباق وجرى تقدير أعداد الخمائر والفطور بضرب عدد المستعمرات بمقلوب التخفيف ويعبر عن النتيجة بعدد الخلايا بالغرام الواحد (Beneke, 1962). تم حساب المستعمرات التي نمت بعد التحضين وعبر عنها بشكل خلية / الغرام.

- **التحليل الاحصائي:** تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام اختبار الإشارة (Sign test) نظرا لأن أعداد المكررات أقل من 6 مكررات وهو مشابه في تطبيقاته اختبار التباين باتجاه وحيد (One way of Variance, ANOVA) (Noordhuizen *et al*., 1997) عند مستوى المعنوية ($\alpha = 0.05$) والذي يندرج ضمن الاختبارات اللامعلمية والتي تهدف إلى مقارنة المتوسطات بشكل فردي. استخدم في عمليات التحليل الإحصائي برنامج (SAS, 2018).

النتائج والمناقشة

1. الفعالية المضادة للميكروبات لزيت قشر الليمون المستخلص:

على الرغم من تعرض الكيك للمعاملة الحرارية (الخبيز) إلا أن المعالجات التي يتعرض لها ما بعد مرحلة الخبز(من التلامس مع المعدات والمواد الاولية أو المناولة بين العمال) لا يمكن له أن ينجو من ملوثاتها سواءً الملوثات البكتيرية أو الأبواغ الفطرية (Saranraj and Geetha,2012). يعد البيض أهم مصدر محتمل للتلوث بالسالمونيلا والأشريكية القولونية، أما بالنسبة للمكورات العنقودية فمصدرها الرئيسي الحشوات المستخدمة في المنتجات المخبوزة والكيك فلقد كانت سبب العديد من حالات التسمم التي أبلغ عنها، تستطيع أبواغ الفطريات أن تنجو من درجات الحرارة المرتفعة والنمو في الكيك خلال فترة الحفظ عند توافر الظروف الملائمة ، يتم عرض نتائج الفعالية المضادة للبكتريا والفطريات لزيت قشر الليمون الذي تم فحصه ضد مسببات الأمراض المختلفة التي تنقلها الأغذية بطريقة الانتشار بالحفر .

يظهر الجدول (1) نتائج فعالية زيت قشر الليمون المستخلص ضد كل من البكتريا و الفطور، لقد أظهرت نتائجنا بأن زيت قشر الليمون يمتلك نشاط مضاد للبكتريا سالبة الغرام أقوى من البكتريا الموجبة وكانت أقصى منطقة تثبيط قد أظهرها ضد الايشريكية القولونية بقطر دائرة تثبيط (23mm) تليها للمكورات العنقودية بقطر (17mm) أما السالمونيلا كانت الأقل حساسية بقطر (16mm)، وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل إلي (Bozkurt *et al*.,2017) الذي أشار إلى أن الزيت العطري لقشر الليمون انتردوناتو أظهر أقل نشاط ضد *S. typhimuri* و*E. faecalis* ، بينما كان له أعلى نشاط ضد *E. coli* تليه *S. aureus*.

كانت فعالية الزيت العطري أقل تجاه العفن الفطريات والعفن أعطت حساسية أقل تجاه الزيت المستخلص فطر *Aspergillus niger* كان الأكثر حساسية بقطر (18mm) وبلغ قطر دائرة التثبيط لكل من (*Rhizopus sp* و *Aspergillus falvis*) و11 و 13 ملم على التوالي بعد 72 ساعة من الحضن ،تم فحص هذ الفطور نظراً لوجودها على سطح الكيك (Jarvis, 2001) ووجد ايضاً بأن هذه النتيجة تتوافق مع نتائج دراسات سابقة و تختلف مع غيرها وهذا يعود الى اختلاف فترة النضج وطريقة الاستخلاص (Caccioni *et al* .,1998)، و يمكن تفسير الفعالية المضادة للميكروبات لوجود الليمونين ولكنه لا ينفرد وحده بالتأثير المضاد للميكروبات بل يتآزر مع مركبات اخرى موجودة في الزيت وهذا ما يفسر أن الليمون هو النوع الاكثر فعالية وفقاً (بدر الدين وزملائه، 2012) الذي وجد أن زيت الليمون يحتوي على نسبة عالية من β –Pinene و α -Pinene (مجموع نسبتهما 8.385%) مقابل مع مجموعها في زيت البرتقال والكريفون والبوميلي والنارنج التي تراوحت من (0.635-1.568)% وغيرها من المركبات الفعالة مثل Citral الذي أثبت فعاليته كمركب فعال مضاد للأعفان والبكتريا كما في دراسة سابقة (Souza *et al* .,2005)، وفقًا لهذه النتائج يمكن أن يمنع الزيت العطري لقشر الليمون بكتيريا التلف وبالتالي يقلل من مخاطر الأمراض المرتبطة باستهلاك المنتجات الملوثة .

الجدول (1): الفعالية المضادة للميكروبات لزيت قشر الليمون ضد الكائنات الحية الدقيقة المختبرة بطريقة الانتشار بالحفر.

الاحياء الدقيقة المختبرة	درجة حرارة الحاضنة (c^0)	مورفولوجيا المستعمرة	قطر التثبيط (mm)
***Salmonella* spp**	37	مستعمرات ذو لون اسود	$16^{(N)}$
Escherichia coli	37	مستعمرات ذات لون زهري	$23^{(b)}$
Staphylococcus aureus	37	مستعمرات على شكل عنقودي	$17^{(N)}$
Aspergillus niger	25	أبيض ثم أخضر مسود	$18^{(b)}$
Aspergillus falvis	25	أبيض ثم أخضر	$13^{(N)}$
Rhizopus sp	25	أسود	$11^{(N)}$

b:markable significance , N:None significance

2. نتائج التحليل الفيزيائي للكيك:

تم إجراء التحاليل الفيزيائية كل 10 أيام للكيك طيلة فترة الحفظ، وتعد هذه الاختبارات هامة كون درجات الحرارة المحيطة ومستويات درجة الحموضة لأنواع الكيك بين (7.5-5.4) والنشاط المائي في النطاق 0.75 إلى 0.98 مجالات تعمل على تعزيز تلف الأطعمة المخبوزة بالعفن والخميرة والبكتريا .(El-Kadi *et al* ., 2018).

1.2. نتائج درجة الحموضة:

في هذه الدراسة لم تظهر تغيرات كبيرة في قيم pH خلال فترة التخزين ، أعلى قيمة كانت بداية التخزين كانت 6.85 تناقصت خلال فترة الحفظ ووصلت إلى 6.78 كأدنى قيمة بالنسبة لعينة الشاهد. وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه (Alrefaie and Bostan, 2017) باستخدامه زيتي القرنفل وزيت عشبة الليمون العطريين في الكيك بحيث أشار إلى أن قيم pH تناقصت خلال فترة التخزين بحيث كانت قيم pH الأولية 7.66 ولم تكن بعيدة عن نتائجنا.

الجدول رقم (2): التغيرات في قيم pH خلال مدة التخزين

الزمن / المعاملة	(pH)			
	0-day	10-day	20-day	28-day
شاهد	6.85±0.01	6.83±0.02	7.80±0.01	6.78±0.05
زيت ليمون 0.3%	6.81±0.07	6.79±0.02	7.79±0.01	6.75±0.05
زيت ليمون 0.5%	6.79±0.03	6.77±0.02	7.76±0.01	6.71±0.05
زيت ليمون 1%	6.78±0.03	6.75±0.02	7.70±0.01	6.69±0.05
زيت ليمون رش سطحي	6.84±0.01	6.83±0.02	7.81±0.01	6.77±0.05

2.2. نتائج النشاط المائي (a_w):

يوجد الماء في الأغذية بشكلين الحر والمرتبط الماء المرتبط هو الذي يكون داخلاً في تركيب جزيئات الغذاء المختلفة ، أما الماء الحر هو الماء المتاح بيولوجيا والذي يساعد في نمو البكتريا والخمائر والفطور مؤثراً بذلك على جودة الغذاء وسلامته ، يعد اختبار النشاط المائي على درجة كبيرة من الأهمية فهو يفيد في معرفة مدى سلامة الغذاء واستقراره أثناء فترة صلاحيته وتخزينه تعتمد قابلية المنتجات الغذائية للهجوم الميكروبي إلى حد كبير على توافر الماء في المنتج بدلاً من محتوى الرطوبة والذي عبرنا عنه بالنشاط المائي، المكونات المختلفة الموجودة في الكيك تتنافس فيما بينها من أجل الارتباط مع الماء من أجل الذوبان والإماهة، ، فمثلا السكريات والأملاح عند ذوبانها تقلل من ضغط البخار وتوافر الماء لأي كائن حي دقيق متواجد في المنتج الغذائي (Bennion and Bamford, 1997)، وبالتالي ينخفض النشاط المائي وتزداد مدة الصلاحية بزيادة تركيز هذه المواد، يبين الجدول (3) بأن قيمة النشاط المائي تنخفض تدريجياً مع الزمن لجميع العينات أثناء فترة التخزين ولكن بشكل ضئيل وذلك نتيجة هجرة الرطوبة من اللب إلى سطح الكيك (Cauvain and Young, 2009) بسبب نفاذية الغلاف (Gelinas *et al*., 1999). لم تسجل أية فروقات معنوية في التغيرات في قيم (a_w) خلال مدة التخزين في الأيام المتوالية (0-10-20-28) ما بين الشاهد ومجاميع التجربة ($p>0.05$) الجدول رقم (3).

الجدول رقم (3): التغيرات في النشاط المائي خلال مدة التخزين

الزمن / المعاملة	(a_w)			
	0-day	10-day	20-day	28-day
شاهد	0.819±0.001	0.812±0.004	0.795±0.001	0.779±0.002
زيت ليمون 0.3%	0.811±0.002	0.793±0.003	0.786±0.0017	0.771±0.001
زيت ليمون 0.5%	0.817±0.001	0.785±0.005	0.774±0.002	0.769±0.004
زيت ليمون 1%	0.801±0.002	0.798±0.005	0.780±0.001	0.777±0.001
زيت ليمون رش سطحي	0.811±0.002	0.798±0.002	0.787±0.001	0.776±0.001

2.3. نتائج قياس الصلابة:

على الرغم من أن معدل بيات الكيك أبطأ من الخبز (عبارة عن مجموعة من التغيرات الفيزيائية والكيميائية) بسبب انخفاض كمية النشاء فيه مقارنة بالخبز ووجود السكر والدسم كمكونات رئيسية في تركيبته (Gelinas *et al*., 1999) لكنه يحدث قبل التدهور الميكروبي في الكيك ويحدد مدة صلاحيته وبالتالي دراسة القوام من أهم المؤشرات التي تحدد مدة صلاحية المنتج ومدى قبول المستهلك أو رفضه فالصلابة تزداد خلال فترة التخزين وتعطينا لبابة كيك مفتتة غير محبذة للاستهلاك، ويمكن تفسير الصلابة التي تحدث للبابة الكيك بأنها ضعف في الروابط الداخلة في تكوين البنية (Sych *et al* .,1987) وذلك نتيجة لما يدعى البيات (Cauvain and Young.,2007). يوضح الجدول (4) نتائج قيم الصلابة لعينات الكيك التي ازدادت بشكل طردي مع زمن التخزين لكل من عينة الشاهد وعينة زيت الليمون بالإضافات 0.3%-0.5%-1% على التوالي وهذا النتائج تتفق مع ما توصل إليه (Amer,2018) في دراسته بأن الكيك المخزن بدرجة حرارة الوسط المحيط ازدادت صلابته بشكل تدريجي طيلة فترة التخزين ، لاحظنا من نتائجنا بأن عينة الشاهد أعطت قيم صلابة أعلى قليلاً من العينات المضاف لها زيت الليمون العطري ، وهذا يتفق مع ما تم التوصل إليه من قبل (Hussein *et al*., 2019) بأن بإضافة زيت البرتقال العطري إلى الكيك حسن من القوام بشكل طفيف .

بمقارنة قيم الصلابة خلال مدة التخزين من الزمن صفر وحتى اليوم الثامن والعشرين فقد تبين عدم وجود فروقات معنوية خلال الزمن (0 - 10 - 20) بينما تبين وجود فروقات معنوية بسيطة ما بين فترات التخزين المذكورة أعلاه مع فترة التخزين باليوم (28) ($p=0.01$)،($p<0.05$) الجدول رقم (4).

الجدول رقم (4): نتائج قيم الصلابة (N) خلال مدة التخزين

الزمن / المعاملة	Hardness			
	0-day	10-day	20-day	28-day
شاهد	1.6532±0.067	1.8653±0.1015	1.8997±0.0344	2.2323±0.077
زيت ليمون 0.3%	1.4894±0.069	1.8120±0.0467	1.9302±0.0595	2.1798±0.0593
زيت ليمون 0.5%	1.4432±0.0128	1.7481±0.0267	1.8504±0.0513	2.1355±0.0463
زيت ليمون 1%	1.4306±0.0286	1.7129±0.0391	1.7532±0.1732	2.0681±0.0543
زيت ليمون رش سطحي	1.5997±0.0293	1.8703±0.0786	1.9069±0.0542	2.1906±0.0610

2.3. نتائج تحليل اللون:

يؤثر اللون بشكل مباشر على انتباه المستهلك ويتم تقيمه باستخدام مقياس اللون تم تحديد معلمات اللون (L*, a* and b*) للكب كيك باستخدام جهاز قياس اللون المخبري تم قياس L* السطوع / القتامة يتراوح من (0-100)،a* الأحمر إلى الأخضر، b* اصفر إلى أزرق . لم تكن هنالك فروقات واضحة لنتائج اللون لجميع العينات بالنسبة للون القشرة بالنسبة للبابة أعطت خفة أعلى قليلا بالنسبة لعينة زيت الليمون 1%، (Kim *et al*.,1997) تعد اللبابة مؤشر يعكس الألوان المواد الخام الدخلة في تركيب المنتجات وتفاعلاتها. من الجدول رقم (5) وباستخدام اختبار الاشارة (sign test) لتقييم الفروقات المعنوية في نتائج قياس اللون لقشرة الكب كيك خلال مدة التخزين سجلت فروقات معنوية بسيطة ما بين الشاهد ومجاميع التجربة ($p=0.01-0.05$) خلال الفترات المختلفة المدرجة أعلاه وما بين القيم l*,a*,b* ما بين الشاهد ومجاميع التجربة. ومن الجدول رقم (6) وباستخدام اختبارات الإشارة (Sign Test) سجلت فروقات معنوية بسيطة ما بين القيمة l*,a*,b* بين الشاهد ومجاميع التجربة ($p>0.01<0.05$).

الجدول رقم (5): نتائج قياس اللون لقشرة الكب كيك خلال مدة التخزين

القشرة												الزمن / المعاملة
28day			20day			10day			0day			
L	a	B	L	a	b	L	a	b	L	a	b	
61.99±0.09	13.75 ±0.18	36.41 ±0.49	60.35 ±0.25	14.54 ±0.11	38.62 ±0.06	58.66 ±0.34	15.81 ±0.08	38.59 ±0.11	55.73 ±0.08	16.17 ±0.04	40.17 ±0.07	**شاهد**
61.22±0.01	12.16 ±0.24	37.65 ±0.56	60.78 ±0.30	13.57 ±0.02	38.17 ±0.07	59.04 ±0.18	14.16 ±0.02	39.11 ±0.12	57.09 ±0.16	15.37 ±0.08	41.00 ±0.70	**زيت ليمون مضاف0.3%**
62.60 ±0.55	12.20 ±0.17	36.97 ±0.05	61.11 ±0.14	13.66 ±0.36	38.22 ±0.10	60.51 ±0.43	14.21 ±0.20	39.16 ±0.36	57.93 ±0.81	15.72 ±0.04	41.16 ±0.07	**زيت ليمون مضاف0.5%**
60.99±0.03	13.35 ±0.16	36.89 ±0.19	59.18 ±0.22	14.27 ±0.29	38.24 ±0.02	57.82 ±0.18	15.33 ±0.21	38.86 ±0.34	55.15 ±0.12	16.43 ±0.31	40.29 ±0.13	**زيت ليمون مضاف 1%**
60.25±0.04	13.23 ±0.03	36.13 ±0.10	58.10 ±0.10	14.81 ±0.23	39.15 ±0.12	57.28 ±0.06	15.25 ±0.07	37.19 ±0.06	55.30 ±0.20	16.38 ±0.11	40.19 ±0.20	**زيت ليمون بالرش**

الجدول رقم (6): نتائج قياس اللون للب الكب كيك خلال مدة التخزين

اللب												الزمن / المعاملة
28day			20day			10day			0day			
L	a	B	L	A	b	L	a	b	L	a	b	
76.98 ±0.06	-0.43 ±0.21	23.51 ±0.43	75.38 ±0.41	0.85 ±0.01	24.27 ±0.07	73.90 ±0.37	1.09 ±0.03	25.15 ±0.17	73.55±0.17	1.30 ±0.08	26.96 ±0.01	**شاهد**
76.26 ±0.34	0.52 ±0.02	22.36 ±0.41	76.48 ±0.22	0.62 ±0.40	23.41 ±0.26	74.38 ±0.05	1.30 ±0.02	24.84 ±0.16	73.43±0.43	1.35 ±0.02	26.11 ±0.11	**زيت ليمون مضاف0.3%**
76.99 ±0.015	0.40 ±0.02	20.75 ±0.38	75.11 ±0.10	0.57 ±0.03	21.33 ±0.18	75.13 ±0.12	1.12 ±0.08	24.16 ±0.24	74.30±0.27	1.10 ±0.12	24.21 ±0.005	**زيت ليمون مضاف0.5%**
77.90 ±0.07	-0.41 ±0.22	21.44 ±0.37	75.90 ±0.08	0.45 ±0.05	21.86 ±0.45	74.95 ±0.66	0.94 ±0.07	22.42 ±0.38	74.15±0.09	1.26 ±0.03	23.63 ±0.19	**زيت ليمون مضاف 1%**
75.74 ±0.17	0.45 ±0.04	20.81 ±0.54	73.26 ±0.16	0.755 ±0.05	22.04 ±0.12	71.60 ±0.07	1.23 ±0.02	23.78 ±0.09	69.59±0.40	1.28 ±0.06	25.27 ±0.11	**زيت ليمون بالرش**

3. نتائج التحليل الميكروبي للكيك:

1.3. نتائج الكشف عن وجود بعض أنواع البكتريا المسببة للتسمم الغذائي:

لم نلاحظ أي وجود للبكتريا المسببة للأمراض، ويمكن تفسير ذلك بان كافة الاحياء الدقيقة الإعاشية تموت اثناء مرحلة الخبيز بسبب ارتفاع درجة الحرارة الجدول رقم (7).

الجدول رقم (7): نتائج الكشف عن البكتيريا الممرضة في الكيك

البكتريا / المعاملات	Zero-day		
	Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*	*Salmonella spp*
شاهد	-	-	-
زيت ليمون 0.3%	-	-	-
زيت ليمون 0.5%	-	-	-
زيت ليمون 1%	-	-	-
زيت ليمون رش سطحي	-	-	-

(-): عدم وجود نمو جرثومي (no bacteria growth).

2.3. التعداد العام للبكتريا الهوائية:

تم إجراء التعداد العام للبكتريا في بداية التخزين بعد التصنيع مباشرة و كل سبعة أيام حتى نهاية فترة التخزين ، أظهرت النتائج أنه في بداية تخزين الكيك لم تظهر أية مستعمرات في جميع العينات حتى الأسبوع الأول من التخزين ، وكان الحد الاقصى للتعداد من بين عينات الكيك المدروسة لعينة الشاهد الجدول (8)، في الأسبوع الأول لاحظنا بدء ظهور المستعمرات البكتيرية في عينة الشاهد ($1*10^2$) وبدأت بالتزايد بشكل تدريجي خلال فترة التخزين أما في الاسبوع الثاني بدأ ظهور المستعمرات البكتيرية في الكيك بالرش السطحي ($2*10^2$)، في الأسبوع الأول عند استخدام أقل نسبة من الزيت 0.3% لم نلاحظ أي نمو بكتيري حتى الأسبوع الثاني $1*10^2$ ، وعند استخدام النسبة 0.5% أدى إلى تأخير ظهور البكتريا حتى الأسبوع الثالث $2*10^2$ ، بحيث لم يظهر أي نمو بكتيري عند إضافة الزيت بنسبة 1% حتى الاسبوع الاخير ، جميع التراكيز المضافة من الزيت أعطت فعالية في تخفيض الحمل الميكروبي وكلما زاد تركيز الزيت لاحظنا زيادة الفعالية وهذا ما يتشابه مع ما توصل إليه في دراسته (Khaki *et al*.,2012) ويتوافق مع (Soni and Soni ,2014) بأن فعالية الزيوت العطرية تزداد بزيادة تركيز الزيت حيث أن انخفاض عدد الميكروبات يعتمد على تركيز الزيت العطري فكلما زاد تركيز الزيت كلما كان التأثير المضاد للميكروبات عاليا وقد يمنع بشكل تام من نمو الكائنات الحية الدقيقة، بهذا نجد أن بزيادة التركيز تزداد فعالية الزيت في تخفيض التعداد البكتيري ويكون تركيزاً فعالاً في الحفظ. من الجدول رقم (8) تبين وجود فروقات معنوية واضحة في عينة الشاهد خلال الأسبوع الثالث والرابع (p=0.000)، بينما كانت هنالك فروقات معنوية متوسطة في عينة الشاهد ما بين الأسبوع الأول والثاني (p=0.001).

- أما بالنسبة لزيت الليمون بنسبة 0.3% لم تكن هنالك فروقات معنوية ما بين الأسبوع الثاني والثالث بينما كانت هنالك فروقات معنوية متوسطة ما بين الأسبوع الثالث والرابع .
- زيت الليمون 0.5% كانت هنالك فروقات معنوية متوسطة ما بين الأسبوع الثالث والرابع
- زيت الليمون 1% لم تكن هنالك فروقات معنوية .
- زيت الليمون رش سطحي كانت هنالك فروقات معنوية متوسطة ما بين الأسبوع الثاني والثالث، بينما كانت هنالك فروقات معنوية واضحة ما بين الأسبوع الثاني والثالث ، بينما سجلت في الأسبوع الثالث والرابع فروقات معنوية واضحة.

الدراسة المقطعية المتصالبة احصائياً Statistical crossed sectional:

لم تكن هنالك أية فروقات معنوية ما بين عينات الشاهد وعينات زيت الليمون في الأسبوع الأول وكذلك في الأسبوع الثاني (p>0.05). بينما كانت هنالك فروقات معنوية واضحة ما بين عينة الشاهد وعينات زيت الليمون بالنسب المختلفة في الأسبوع الثالث (p=0.0001). وحيث سجلت فروقات معنوية واضحة جداً ما بين عينات الشاهد وعينات الإضافات الزيتية (p=0.000).

الجدول رقم (8): تأثير إضافة زيت قشر الليمون في أعداد البكتريا الهوائية الكلية خلال مدة حفظ الكيك عند درجة الحرارة المحيطة

المعاملة / الزمن	التعداد العام للبكتريا الهوائية (cfu/g)				
	بداية التخزين	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع
شاهد	-	$^{(N)}1*10^2$	$^{(b)}3*10^2$	$^{(a)}7*10^2$	$^{(a)}11*10^2$
زيت ليمون 0.3%	-	-	$^{(N)}1*10^2$	$^{(b)}2*10^2$	$^{(b)}4*10^2$
زيت ليمون 0.5%	-	-	-	$^{(b)}2*10^2$	$^{(b)}3*10^2$
زيت ليمون 1%	-	-	-	-	$^{(N)}1*10^2$
زيت ليمون رش سطحي	-	-	$^{(b)}2*10^2$	$^{(b)}4*10^2$	$^{(a)}6*10^2$

استخدمت رموز لتمييز الفروقات بين تعداد البكتريا خلال الأزمنة المختلفة، (a): فروقات معنوية واضحة- (b): فروقات معنوية متوسطة- (N): لا توجد فروقات معنوية.

3.3. التعداد العام للخمائر والفطور:

توضح النتائج المبينة في الجدول (9) عدم ملاحظة أي نمو للأعفان في كل من بداية التخزين والاسبوع الأول وتبين أيضاً أن إضافة زيت قشر الليمون إلى الكيك بنسبة إضافة 1% أدى إلى تأخير ظهور العفن خلال مدة الحفظ مقارنة بعينة الشاهد التي بلغ أعداد مستعمرات الأعفان فيها $3*10^2$ ، $5*10^2$ ، $9*10^2$ على التوالي ، ووجدنا نمو مستعمرات بعينة الرش السطحي بداية من الأسبوع الثاني ،أما للعينة ذات نسبة الإضافة 0.3% و0.5% من زيت الليمون لاحظنا نمو العفن من الأسبوع قبل الأخير للحفظ.

من الجدول رقم (9): سجلت نتائج في تقييم أعداد الخمائر والفطور خلال مدة الحفظ المدرجة بالدراسة فكانت كما يلي : -عينات الشاهد سجلت فروقات معنوية متوسطة ما بين الأسبوع الأول والثالث (p=0.0001)، بينما كانت هنالك فروقات معنوية واضحة جداً ما بين الأسبوع الثاني والرابع (p=0.000) وفروقات معنوية واضحة ما بين الأسبوع الثالث والرابع (p=0.001). - زيت الليمون 0.3% فروقات معنوية متوسطة ما بين الأسبوع الثاني والثالث (p=0.0001) بينما كانت هنالك فروقات معنوية واضحة جداً ما بين الأسبوع الثاني والرابع (p=0.0001) وكانت هنالك فروقات متوسطة ما بين الأسبوع الثالث والرابع (p=0.0001). - زيت الليمون 0.5% كانت هنالك فروقات معنوية متوسطة ما بين الأسبوع الثالث والرابع (p=0.0001). - زيت ليمون رش سطحي كانت هنالك فروقات معنوية متوسطة في الأسبوع الثاني والثالث (p=0.0001) ولم تكن هنالك اية فروقات ما بين الأسبوع الثاني والرابع (p>0.0005) وكانت هنالك فروقات معنوية متوسطة بين الأسبوع الثالث والرابع (p=0.0001).

الدراسة المقطعية المتصالبة احصائياً Statistical crossed sectional:

كانت هنالك فروقات معنوية واضحة جداً ما بين عينات الشاهد وكافة العينات المضاف لها زيوت (p=0.0001).

الجدول رقم (9): تأثير إضافة زيت قشر الليمون في أعداد الخمائر والفطور خلال مدة حفظ الكيك عند درجة الحرارة المحيطة

المعاملة / الزمن	التعداد العام للخمائر والفطور cfu/g				
	بداية التخزين	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع
شاهد			$^{(b)}3*10^2$	$^{(a)}5*10^2$	$^{(a)}9*10^2$
زيت ليمون 0.3%	-	-	$^{(N)}1*10^2$	$^{(b)}3*10^2$	$^{(a)}5*10^2$
زيت ليمون 0.5%	-	-	-	$^{(N)}1*10^2$	$^{(b)}3*10^2$
زيت ليمون 1%	-	-	-	-	$^{(N)}2*10^2$
زيت ليمون رش سطحي	-	-	$^{(b)}2*10^2$	$^{(b)}4*10^2$	$^{(a)}2*10^2$

استخدمت رموز لتمييز الفروقات بين تعداد البكتريا خلال الأزمنة المختلفة، (a): فروقات معنوية واضحة -(b): فروقات معنوية متوسطة- (N): لا توجد فروقات معنوية.

من الجدول المدرج أعلاه يشير إلى أن التعداد العام للخمائر والفطور أن هنالك فروقات معنوية مرتفعة (واضحة جداً) mark able significance ما بين مجموعة الشاهد ومجاميع التجربة ($p<0.0001$).

الاستنتاجات

- أعطى زيت قشر الليمون فعالية مضادة للميكروبات مقاربة للمضادات الحيوية.
- انخفاضاً طفيفاً في قيم pH خلال فترة التخزين ولم نلاحظ أية فروقات بقيمة pH بين عينة الشاهد والعينات التي تحتوي على زيت الليمون بنسبه الثلاثة.
- انخفاض في قيمة الفعالية المائية لجميع العينات طيلة فترة التخزين.
- أبدت عينة الكيك زيت الليمون 1% قيم صلابة أقل مقارنة بعينة الشاهد لوحظ زيادة في قساوة الكيك مع الزمن لجميع العينات .
- حدوث تغيرات في لون الكيك مع الزمن بسبب شفافية الغلاف وتعرض الكيك للضوء طيلة فترة الحفظ.
- انخفاض التعداد الكلي للبكتريا والخمائر والفطور باستخدام الزيت العطري، وازدياد الانخفاض بزيادة تركيز الزيت.

المقترحات

- إجراء دراسات حول تقييم فعالية زيوت قشور الحمضيات الأخرى والاستفادة منها كونها منتجات نفايات ثانوية في سورية.
- تطبيق استخدام تقنيات مختلفة لتطبيق الزيت في الأغذية كدمجه مع الأغلفة بدون تعرضه للحرارة للحفاظ على معظم مكوناته.
- تطبيق استخدام أغلفة غير نفوذة للحفاظ على جودة الكيك أطول فترة ممكنة.
- تطبيق إضافة الزيت العطري لحشوات المنتج المخبوز لتحقيق أقصى استفادة وخاصة الحشوات اللبنية التي تعد المصدر الأكبر للتلوث البكتيري.

المراجع

- بدر الدين، رضوان، العقلة، بسام، والأمير، لينة (2013). دراسة التركيب الكيميائي والتضاد البكتيري للزيوت العطرية المستخلصة من قشور ثمار الحمضيات. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، المجلد (29)، العدد الثاني. دمشق.
- ALREFAIE, S., &, K BOSTAN. (2017). Effect of Clove and Lemongrass Essential Oils as Natural Antioxidants on Cake Shelf Lif. Aydın Gastronomy, 1(2), 1-15.
- Amer, T. A. (2018). Effect of Lemon and Orange Oils on shelf life of Cake. Sciences, 8(04), 1364-1374.
- -Andrews, W. H., & T. S. Hammack, (2007). Salmonella. Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration Retrieved from http://www.fda.gov/downloads/ Food/FoodScienceResearch/UCM309839.pdf
- Baird-Baker ,B. (1993).Microbiology . Journal_ Gentic Microbial ,Vol.(30), No.409_413.
- Beneke, E.S., 1962. Medical Mycology. Lab. Manual. Burgess Pub. Co. Minneapolis, Minnesota.
- Bennion, E. B., & G. S. T. Bamford, (1997). The technology of cake making. Springer Science & Business Media:16th ed / South Bank University London, UK .
- Bozkurt, T., Gülnaz, O., & Y. A. Kaçar, (2017). Chemical composition of the essential oils from some citrus species and evaluation of the antimicrobial activity. IOSR J Environ Sci Toxicol Food Technol, 11(10), 29-33.
- Caccioni,D.R.;Guizzardi,M.;Biondi,D.M.;Renda,A. and G;Ruberto, (1998). Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on Penicillium digitatum and Penicillium italicum. Int. J. Food Microbiol. 43, 73–79

- Cauvain, S. P., & L. S. Young, (2009). Bakery food manufacture and quality: water control and effects. John Wiley & Sons .
- Cauvain, S.P.; L.S. Young. (2007) Technology of Breadmaking; Springer Science & Business Media: New York, NY, USA; ISBN 978-0-387-38565-5.
- Deans, S.G. and H.J.D. Dorman, (1999). Antimicrobial agent from plant: Antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol. 88(2): 308316.
- El-Kadi, S. M., El-Fadaly, H. A., & E. S. M. El-Gayar, (2018). Examination of pathogenic bacteria in some cake samples. International journal of microbiology and application, 5(3), 56-63.
- GELINAS, P., ROY, G. and M. GUILLET, (1999). Relative effects ofingredients on cake staling based on an accelerated shelf lifetest. J. Food Sci. 64, 937–940.
- Giwa, S. O., Muhammad, M., & A. Giwa, (2018). Utilizing orange peels for essential oil production. *J Eng Appl Sci*, *13*(1), 17-27.12-Tao, N. G., Y.J. Liu, Y.F. Tang, J.H. Zhang, M.L. Zhang and H.Y. Zeng, 2009. Essential oil composition and antimicrobial activity of Citrus reticulate. Chemistry of Natural Compounds, 45, 437-438.
- Harrigan, W.F. and M.E. McCance, (1976) Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology. Academic Press Incorporated, London.
- Hussein, A. M., Mahmoud, K. F., Hegazy, N. A., Kamil, M. M., Mohammad, A. A., & F. M. Mehaya, (2019). Efficiency of micro and nano encapsulated orange peel essential oils on quality of sponge cake. J Environ Sci Tech, 12, 26-37.
- Jafari S, Esfahani S, Fazeli MR, Jamalifar H, Samadi M and N, Samadi(2011). Antimicrobial activity of Lime essential oil against food-brone pathogens isolated from Cream-filled cakes and pastries. International journal of biological chemistry; 5: 258-265.
- Jarvis, B. (2001). Mould spoilage of food. Process Biochemistry, 7:11-14.
- Kent, N.L. (1983). Technology of cereals. Third Edition. Pergamon Press, Oxford.
- Khaki, M., Sahari, M. A., & M.Barzegar, (2012). Evaluation of antioxidant and antimicrobial effects of chamomile (Matricaria chamomilla L.) essential oil on cake shelf life, PP: 9-18, Vol. 3, No. 43.
- Kim, Y.S., T.Y. Ha, S.H. Lee and H.Y. Lee, (1997). Properties of dietary fiber extract from rice bran and application in bread-making. Korean J. Food Sci. Technol., 29: 502-508.
- Kirbaşlar, F. G., Tavman, A., Dülger, B., & G. Türker, (2009). Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. Pak. J. Bot, 41(6), 3207-3212.
- Kotzekidou P, Giannakidis P,andNA Boulamatsis .(2007) Antimicrobial activity of some plant extracts and essential oils against foodborne pathogens invitro and on the fate of inoculated pathogens in chocolate. Food Science Technology;41:119–127.
- Krisch, J., Tserennadmid, R., & C. Vágvölgyi, (2011). Essential oils against yeasts and moulds causing food spoilage. Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances, Badajoz, Spain.
- Macwan SR, Dabhi BK, Aparnathi KD and JB, Prajapati .(2016). Essential Oils of Herbs and Spices: Their Antimicrobial Activity and Application in Preservation of Food. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 5(5):885-901.
- Noordhuizen, J. P. T. M., Frankene, K., Thrusfield, M. V. and Graat, E. A. (1997). Application of quantitative methods in epidemiology. Wageningen Pres. Publ. 2nd ed. 2001. Wageningen, The Netherland, 429 pp
- Oiye, S. O. and N. M Muroki,. (2002). Use of Spices in food. The Journal of Food Technology in Africa. 7: 39-44.

- Samapundo S.; Devlieghere, F.; Vroman. A. and M. Eeckhout. (2016), Antifungal properties of fermentates and their potential to replace sorbate and propionate in pound cake. International Journal of Food Microbiology, 237, 157–163.
- Saranraj, P. and M. Geetha, (2012). Microbial Spoilage of Bakery Products and its Control by Preservatives. International J of Pharmaceutical and Biological Archives. 3(1): 38-48.
- Sarkic, A., & I.Stappen, (2018). Essential oils and their single compounds in cosmetics—A critical review. Cosmetics, 5(1), 11.
- SAS.(2018).Manual Guide Line. Microsoft CO.Limeted .USA.WA.State.
- Skandamis,p., K. Koutsoumanis, K. Fasseas and G. J. e. Nychas., (2001). Inhibition of Oregano Essential Oil and EDTA on E.coli 0157: H7. Ital. J Food. Sci. 13 : 55-65.
- Solaka, Amgad boya, (1990). Breads and Pastry, Ministry of High Education and Scientific Research, book house for printing and publishing at Mosul University/ Mosul/Iraq.
- Soni S, Soni UN. In–vitro antibacterial and antifungal activity of selected essential oils. International Journal of Pharmaceutical Science. 2014;6:586–596.
- Souza, E. L. d.; Lima, E. d. O.; Freire, K. R. d. L.and C. P. d.; Sousa, (2005) , Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. Braz. Arch. Biol Technol. 48, 245-250
- Seeley Jr, H. W., & ,P. J. VanDemark, (1962). Microbes in action. A laboratory manual of microbiology. Microbes in action. A laboratory manual of microbiology.
- Swalson, K. M. J., Petran,R. L.,& , J.H. Hanlin (2001). Culture methods for enumeration of microrganisms. In F. R. Downes, & K. Ito (Eds.), Compendium of methods for microbial examination of foods (4th ed.). Washington: American Public Health Association.
- Sych, J., Castaigne, F., & ,C. Lacroix, (1987). Effects of initial moisture content and storage relative humidity on textural changes of layer cakes during storage. Journal of Food Science, 52(6), 1604-1610.
- Thitilertdecha, N., A. Teerawutgulrag and N. Rakariyatham, (2008). Antioxidant and antibacterial activities of nephelium lappaceum l. Extracts. Food Sci Technol, 41: 2029-2035.

N° Ref: 1072