

تشكيل غلاف بوليميري قابل للأكل من السَّحلب المُدعَّم بخلاصة أوراق البطم ودراسة فعاليته المضادة للبكتيريا.

أ.د. علي محمد علي *

د. وسام عباس زم **

م. رزان محسن حسن ***

(تاريخ الإيداع 2021/ 12/ 19 . قُبِلَ للنشر في 2022/ 3/ 15)

□ ملخص □

تمَّ في هذا البحث دراسة تأثير خلاصة أوراق نبات البطم على الفعاليَّة المضادة للبكتيريا لغلاف السَّحلب القابل للأكل المُدعَّم بهذه الخُلاصة، حيث تمَّت إضافتها بثلاثة تراكيز مختلفة [w/w] (1, 3, 5%). بيَّنت نتائج الدَّراسة بأنَّ أغلفة السَّحلب المُعدَّلة بالتراكيز الثلاثة المختلفة من خلاصة أوراق البطم ذات فعاليَّة مضادة لنمو البكتيريا. وحققَ التَّركيزان 3% [w/w] و 5% [w/w] في غلاف السحلب حديث التَّشكيل، نفس الفعاليَّة ضدَّ البكتيريا مقارنةً بغلاف الشَّاهد حديث التَّشكيل، كما أدى تخزين غلاف الشَّاهد والأغلفة المدعَّمة بخلاصة أوراق البطم لمدَّة شهر وشهرين إلى ازدياد حمولتها البكتيريَّة مقارنةً بالحمولة البكتيرية للأغلفة حديثة التَّشكيل. وقد أظهرت النَّتائج أنَّ إضافة خلاصة أوراق البطم إلى غلاف السَّحلب بتركيز 5% [w/w] أدى إلى انخفاض معنوي واضح بمحتوى الأغلفة من الرُّطوبة بنسبة 16.66% مقارنةً بغلاف الشَّاهد وانخفاض بدرجة الحموضة بمقدار 26.19% مقارنةً بغلاف الشَّاهد.

الكلمات المفتاحيَّة: غلاف قابل للأكل، السَّحلب، خلاصة أوراق البطم، مركَّبات مضادة للبكتيريا.

*أستاذ في قسم تقانة الاغذية، كلية الهندسة التَّقنيَّة، جامعة طرطوس، سوريا.

**أستاذ مساعد في قسم كيمياء الأغذية والتَّحليليَّة، كلية الصيدليَّة، جامعة الوادي، سوريا.

***هندسة تقانة الأغذية، كليَّة الهندسة التَّقنيَّة، جامعة طرطوس، سوريا.

Formation of an edible polymeric film of Salep fortified with Pistacia leaves extract and study its antibacterial activity.

Dr. Ali Muhammad Ali*

Dr. Wissam Abbas Zam**

Eng. Razan Mohsen Hasan***

(Received 19 / 12/ 2021 . Accepted 15/ 3/ 2022)

□ ABSTRACT □

In this research, the effect of pistacia leaves extract on the antibacterial activity of edible salep film fortified with this extract was studied. The extract was added with three different concentrations (1, 3, 5%) [w/w].

The results showed that the modified salep films with three different concentrations of pistacia leaves extract had antibacterial activity. Both concentrations 3% [w/w] and 5% [w/w] of newly formed salep film, achieved the same antibacterial activity compared to newly formed control film. The storage of the control film and the films fortified with pistacia leaves extract for a period of one and two months led to an increase in bacterial load, compared to the bacterial load in newly formed films. The results showed a significant decrease in moisture content by 16.66% compared to control film and a decrease in (pH) by 26.19% compared to control film, when extract was added at a concentration of 5%.

Keywords: edible film, Salep, pistacia leaves extract, Antibacterial compounds.

*Professor, Department of Food Technology, Faculty of Technical Engineering, Tartous University, Syria.

**Associate Professor, Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Al Wadi University, Syria.

***Department of Food Technology, Faculty of Technical Engineering, Tartous University, Syria.

1-مقدمة:

حظيت الأغلفة الصالحة للأكل (Edible Films) خلال السنوات القليلة الماضية بالاهتمام المتزايد كونها قابلة للتحلل الحيوي ، مما يخفف من مشكلة التلوث البيئي الذي يسببه استخدام الأغلفة البلاستيكية التقليدية [1]. يحتوي الغلاف المثالي القابل للأكل على ثلاثة مكونات رئيسية هي: مادة تشكيل الغلاف، ومواد الإضافة، والمذيب المناسب. وهذا يعتمد على خصائص الذوبان الطبيعي للمواد المكونة للغلاف، وتعتبر البروتينات والسكريات المتعددة والدهون أحد أهم مكونات الغلاف الرئيسية [2]. وباعتبار السحلب متعدد سكاريد فيمكن استخدامه لتشكيل أغلفة بوليميرية قابلة للأكل، وتستخدم لتعبئة وتغليف المنتجات الغذائية ذات النشاط المائي المنخفض والمتوسط [3]. كما ظهرت العديد من التوجهات لتدعيم الأغلفة القابلة للأكل بمضادات بكتيرية طبيعية آمنة صحياً (GRAS) عموماً عن مضادات الميكروبات الكيميائية التي تعرض صحة الإنسان للخطر [4, 5]. ويعتمد انتشار مضادات الميكروبات في الغلاف على حجم الجزيء المنتشر و قطبيته وشكله، وعلى التركيب الكيميائي للغلاف [6]. وتتوزع المركبات الفينولية (phenolic compounds) في جميع أنحاء المملكة النباتية، وقد أثبتت الكثير من الدراسات الكيميائية احتواء نبات البطم (Pistacia) على مستقلبات ثانوية، إذ تحتوي هذه المستقلبات على أصناف مختلفة من المركبات الفينولية النشطة حيوياً [7]، ومن هذه المركبات ميرسين (myrcene)، ولوتولين-7-غليكوزيد (luteolin-7-glucoside)، و R-بينين (R-pinene)، وأبيغنين-7-غليكوزيد (apigenin-7-glucoside) [8, 9].

وقد أثبتت العديد من الدراسات أهمية هذه المركبات كمضادات للأكسدة ومضادات للميكروبات [10, 11]. ويُعتبر المحتوى من الرطوبة عاملاً محدد المدى قابلية الأغلفة للتحلل الحيوي، وتُعتبر خاصية الحساسية للماء واحدة من المشاكل الرئيسية التي تواجه الأغلفة المصنّعة من البولي سكاريدات [12].

2-أهمية البحث وأهدافه:

بالرغم من حصول تطورات كبيرة في مجال علم الصحة وتقنيات الإنتاج الغذائي، فقد تزايد الاهتمام بقضية سلامة الغذاء (food safety) باعتبارها تتعلق بالصحة العامة، ونظراً لتزايد الطلب على أغذية آمنة من الناحية الميكروبيولوجية، وقدرة الأغلفة القابلة للأكل على إطالة مدة صلاحية الأغذية والحفاظ على سلامتها وكذلك دورها الهام كحامل لطيف واسع من الإضافات الغذائية مثل مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات، والحد من ارتحال الرطوبة والنكهة والزوايح بين مكونات الغذاء، ولكون هذه الأغلفة القابلة للتحلل تشكل حلاً واعداً لتجنب التأثيرات السلبية للأغلفة البوليميرية الصناعية على البيئة، فقد توجه البحث إلى تشكيل غلاف قابل للأكل، مادته الأساسية هي السحلب ومن ثم تدعيم هذا الغلاف بخلاصة أوراق نبات البطم، ودراسة فعالية تراكيز مختلفة من هذه الخلاصة على الخصائص الميكروبيولوجية للغلاف المصنّع.

3- مواد البحث وطرقه:**3-1- المواد المستخدمة:**

أوراق البطم حيث تم الحصول عليها من شجيرات البطم المتواجدة في جبال الساحل السوري (قرية النقيب في ريف مدينة طرطوس)، ومذيب الأسيتون المخبري ذو درجة نقاوة (99%) من شركة (Sharlau, Spain)، و استخدم وسط النمو الجرثومي الصلب (Plate Count Agar; TGE-Agar) المزود من شركة (Sifin, Germany)، ومادة السُّحلب البوليميرية المزودة من شركة (Kahramanmaras, Turkey)، وجليسرين مخبري بدرجة نقاوة (99%) مزود من شركة (Eurolab.UK).

3-2- تحضير العينات:

تم تحضير خلاصة أوراق البطم بواسطة عملية غمر (نقع) 1 [g] من مسحوق أوراق نبات البطم في 50 [ml] من مذيب الأسيتون 40% عند درجة حرارة 40°C ولمدة 7 [min] 15.

تم تحضير أربعة مزائج مختلفة، حيث تكونت عينة الشاهد من محلول السُّحلب 1% [w/w] والجليسرين 1.3% [w/w] حيث أضيف الجليسرين إلى محلول السُّحلب المحضّر وتم خلط المزيج حتى تمام التجانس.

حضرت العينات الثلاث الباقية بمزج محلول السُّحلب 1% [w/w] مع مزيج الجليسرين 1.3% [w/w] وخلاصة أوراق البطم التي تمت إضافتها بثلاثة تراكيز مختلفة على التوالي (1, 3, 5) [w/w]. وتم تجنيس الخلائط الثلاثة الناتجة، تم تجنيس المحاليل الأربعة باستخدام خلّاط ميكانيكي من نوع (RZR 2021)، مزود من شركة (Heidolph, Germany) واستمرّ التّحريك لمدة 20 [min] بسرعة دوران 300 [rpm] ودرجة حرارة 45 °C.

تم تشكيل الأغلفة بطريقة صبّ المذيب (Solvent Casting) من خلال صبّ المحاليل على ألواح زجاجية التي صممت بأبعاد [cm] (20, 10, 3)، مع مراعاة توحيد السماكات أثناء الصبّ من خلال ضبط الألواح الزجاجية بشكل أفقي بواسطة مسطرة زبقيّة. وثرّكت المزائج للتريّد لمدة 24 [h] إلى أن تزول الفقاعات. ووضعت الألواح الزجاجية في المُجفّف المخبري من نوع (FN 500) لمدة 36 [h] عند درجة حرارة 45°C واتّبعَت خطوات العمل وفقاً للإجراء المتبع من قبل الباحثين (Djomeh) و [3] (Ekrami).

وتمّ الترميز للسُّحلب بالرمز (S) Salep والجليسرين بالرمز (G) Glycerin وللنسبة المئوية لخلاصة أوراق البطم بالرمز Pistacia Leaves Extract (PLE) [w/w] (0, 1, 3, 5) وتمثّل هذه النسب بالترتيب (الشاهد، والغلاف الحاوي على الخلاصة بتركيز 1%، والغلاف الحاوي على الخلاصة بتركيز 3%، والغلاف الحاوي على الخلاصة بتركيز 5%) وجميع النسب وزنيّة. ويوضّح الشكل (1) صورة لغلاف السُّحلب القابل للأكل الذي تمّ تشكيله على لوح زجاجي.



الشكل (1): صورة لغلّاف السحلب القابل للأكل الذي تمّ تشكيله على لوح زجاجي.

ويوضّح الشّكل (2) صورة لأغلّفة السّحلب القابلة للأكل وهي بالترتيب من اليسار إلى اليمين (غلّاف الشّاهد، وغلّاف السّحلب الحاوي على الخلاصة بتركيز 1%، وغلّاف السّحلب الحاوي على الخلاصة بتركيز 3%، وغلّاف السّحلب الحاوي على الخلاصة بتركيز 5%).



الشكل (2): أغلّفة السّحلب القابلة للأكل وهي بالترتيب من اليسار إلى اليمين، (S₁/G_{1.3}), (S₁/G_{1.3}/PLE₁), (S₁/G_{1.3}/PLE₃), (S₁/G_{1.3}/PLE₅).

3-3- درجة حموضة محلول الأغلّفة:

بعد تحضير نماذج الأغلّفة الأربعة تمّ أخذ وزن 1 [g] من كل غلّاف، وحلّه في 25 [ml] من الماء المُقَطَّر وتركه حتّى تمام الانحلال، ثمّ قياس (pH) كل محلول باستخدام جهاز قياس الـ (pH) من نوع (EZDO, Taiwan).

3-4- محتوى الأغلفة من الرطوبة:

تم تحديد النسبة المئوية لمحتوى الأغلفة من الرطوبة (MC%) Moisture Content عن طريق التّجفيف في فرن التّجفيف المخبري عند درجة حرارة 105°C حتّى ثبات الوزن [13]. تمّ اختبار ثلاث مكرّرات لكل عيّنة وتمّ التّعبير عن النتائج بالنسبة المئوية . بعد ذلك وُضعت العينات المُختبّرة على أطباق بتري زجاجية، وتم تسجيل أوزانها قبل وبعد التجفيف باستخدام الميزان الحساس. تمّ حساب (MC%): وهي النسبة المئوية لفقدان الوزن على أساس الوزن الأصلي، وذلك باستخدام العلاقة (1)[14]:

$$MC\% = [(M_i - M_d) / (M_i - M_p)] \times 100 \quad (1)$$

حيث:

M_i : وزن الطّبّق مع عيّنة الغلاف قبل التّجفيف.

M_p : وزن الطّبّق فارغ.

M_d : وزن الطّبّق مع عيّنة الغلاف بعد التّجفيف.

3-5- الدراسة البكتيرية للأغلفة المُحضّرة:

تمّ إجراء الاختبار في المخبر الجرثوميّ في مرفأ طرطوس حيثُ طبّقت إجراءات العمل وفق المواصفة القياسية السّوريّة الخاصّة بالتّعداد العام للأحياء الدّقيقة م.ق.س رقم 600 لعام [15]2005.

3-5-1- تحضير الوسط المغذّي:

حضّر وسط النّمّو الجرثومي من النوع (PCA) Plate Count Agar الخاصّ بالتّعداد العامّ للجراثيم بأخذ 18.5 [g] منه وتمديده ليتر بالماء المُقطّر، بعد ذلك تمّ غلي المزيج حتّى تمام الانحلال ثمّ وُضع ضمن جهاز التّعقيم الرّطب (autoclave) من النوع (Astell) لمدّة [min] 15 عند درجة حرارة 121°C، ومن ثمّ تُرك ليبرد، بحيث تمّ الحصول على ناتج مُتصلّب، يوضع ضمن ميكرويف من النوع (Wattar) عند درجة حرارة 40°C لمدّة [min] 5 ليتحوّل إلى الحالة السائلة.

3-5-2- تحضير المُعلّق الأوّلي للعيّنة والتّمديدات العشريّة:

يُحضّر المُعلّق الأوّلي للعيّنة والتّمديدات العشريّة من 10^{-1} إلى 10^{-3} المناسبة حسب المواصفة القياسية السّوريّة رقم [16] (2228)، حيث تُهضّم عيّنة الغلاف بمزجها بنسبة (1:10) مع ماء البيبتون (peptone water)، ثمّ توضع في الهاضمة من النوع (BagMixer, Interscience). حيث أنّ مدّة تهضيم العيّنة هي دون [min] 0.5 وفقاً لتعبير الجهاز.

3-5-3- إجراء عمليّتي الزرع والتّحضير:

تمّت هذه العمليّة قرب اللّهب، حيث يُنقل [ml] 1 من المُعلّق الأوّلي إلى طبّقي بتري مُعقّمين باستخدام ماصّات مُعقّمة، ثمّ يُنقل إلى طبّقي بتري آخرين بواسطة ماصّات جديدة مُعقّمة [ml] 1 من المُنتج المُمدّد بنسبة 10^{-2} . ومن ثمّ يُصبّ حوالي [ml] 15 من مُستنبت آغار التّعداد (PCA) عند درجة حرارة (44-47°C) في كلّ من طبّقي البتري على ألاّ يتجاوز الزمن المُنفضي بين نهاية تحضير المُعلّق الأوّلي ولحظة صبّ المُستنبت في الطّبقيين [min] 15، ثمّ يُمزج اللّقاح المزروع مع الآغار بعناية، وتُرك المزيج ليتصلّب على سطح أفقي بارد. بعدها تُقلب الأطباق المُحضّرة وتوضع في الحاضنة عند درجة حرارة (37±1)°C لمدّة [h] 48 والحاضنة من النوع (Bechickung100-800).

3-5-4- تعداد المستعمرات البكتيرية:

بعد الانتهاء من عملية التّحضير، تُؤخذ العينات ويُجرى التّعداد الجرثومي لها باستخدام عدّاد المُستعمرات البكتيرية (colony counter) من النوع (glexy230). يتمّ التعبير عن النتائج ويُحسب عدد الأحياء الدّقيقة في [ml] أو [g] 1 من المُنتج وفقاً للعلاقة (2) التّالية:

$$\text{Total Count of Germs (TCG)} = C \times 1/d \quad (2)$$

حيث:

Total Count of Germs (TCG) : عدد الأحياء الدّقيقة في [ml] أو [g] 1 من المُنتج [CFU/g] Colony forming unit/gram.

C: مجموع عدد المُستعمرات في الطّبِق.

d: معامل التّمديد للطبق الذي ظهرت فيه المُستعمرات البكتيرية.

تمّت دراسة التّعداد الجرثومي العامّ على الأغلفة الأربعة حديثة التّشكيل، ثمّ بعد مُضيّ شهر وشهرين على تصنيعها.

3-6- التّحليل الإحصائي:

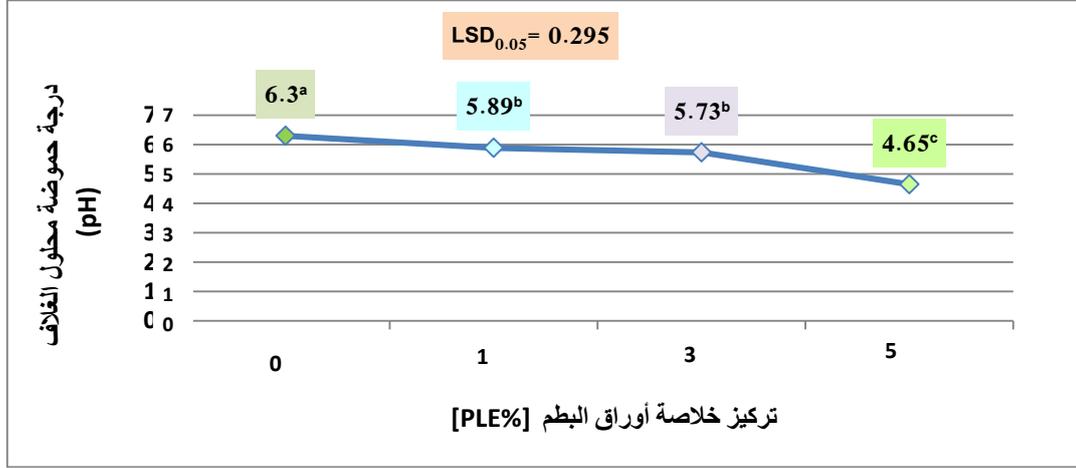
تمّ القيام بتحليل إحصائي للنتائج باستخدام البرنامج الإحصائي (COSTAT) v.6.4، من خلال التّحليل Analysis of variance (ANOVA) الذي يحدّد المعنويّة. حيث

Least Significant Difference (LSD) هو أقل فرق معنوي، عند مستوى معنويّة 5%.

4- النتائج والمناقشة:

4-1- اختبار درجة حموضة محلول الأغلفة:

يوضح الشُّكل (3) العلاقة بين درجة حموضة محلول كل غلاف وتركيز خُلاصة أوراق البطم [%].



الشُّكل (3): العلاقة بين درجة حموضة محلول كل غلاف وتركيز خُلاصة أوراق البطم [%].

ويُلاحظ من خلال الشُّكل (3) ازدياد في حموضة محلول غلاف السُّحلب مع ازدياد تركيز خُلاصة أوراق البطم المُضافة، لكن لم يلاحظ وجود فرق معنوي في قيمة الرِّقم الهيدروجيني 5.89^b , 5.73^b (pH) للغلافين الحاويين على الخلاصة بنسبة $1\% [w/w]$ و $3\% [w/w]$ PLE على التوالي. وقد حَقَّقَ التَّرْكِيز $5\% [w/w]$ المُضاف من الخُلاصة النَّبَاتِيَّة أَقْلَ قيمة لدرجة الحموضة 4.65^c (pH). ويُعرَى هذا لكون المركَّبات الفينوليَّة تمتلك صفة حامضيَّة وهي من المكونات الأساسية في خلاصة أوراق البطم [17] ويُلاحظ من الشُّكل (3) حصول ازدياد بالحموضة بازدياد تركيز خلاصة أوراق البطم.

4-2- اختبار رطوبة الأغلفة:

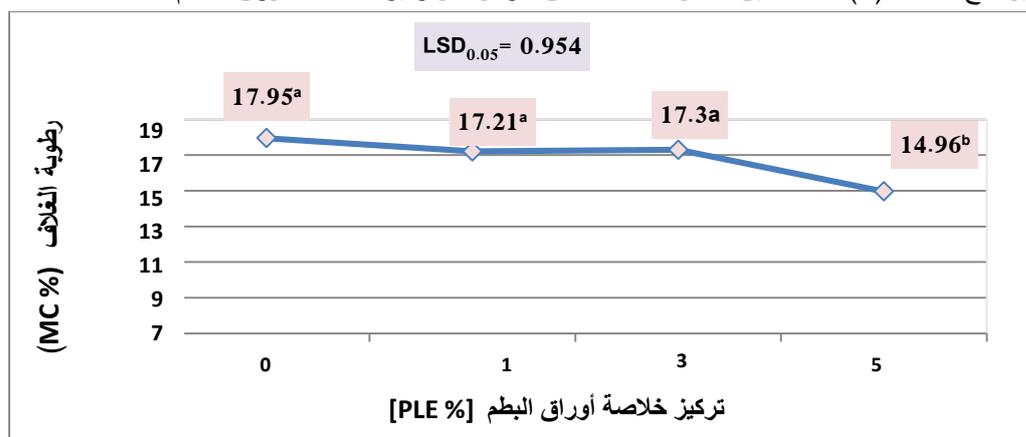
يعتمد محتوى الرُّطوبة الموجودة في الغلاف على البنية الكيميائية للمواد الداخلة في تركيبه والخاصية الهيجروسكوبية، ونظراً لارتفاع نسبة الرُّطوبة في غلوكومانان السُّحلب Salep Glucomannan (SG)، فإنَّه يقل التشابك بين جزيئات البوليمير الحيوي بشكل كبير في بنية الغلاف المنتج، كما تُعزى الرُّطوبة العالية لهذه الأغلفة إلى تأثير الماء كملدِّن [18].

وفيما يلي يوضح الجدول (1) القيم التكرارية الثلاث للنسبة المئوية لمحتوى أغلفة السُّحلب من الرُّطوبة مع حساب قيمة المتوسط الحسابي والانحراف المعياري.

الجدول (1): القيم التكرارية الثلاث للنسبة المئوية لمحتوى أغلفة السُّحلب من الرُّطوبة مع حساب قيمة المتوسط الحسابي والانحراف المعياري.

العَيِّنَات	شاهد (S ₁ /G _{1.3})	الغلاف 1 (S ₁ /G _{1.3} /PLE ₁)	الغلاف 2(S ₁ /G _{1.3} /PLE ₃)	الغلاف 3 (S ₁ /G _{1.3} /PLE ₅)
محتوى أغلفة السُّحلب من الرُّطوبة (%)	17.95	17.27	17.31	15.06
	17.971	17.372	17.18	15.02
	17.945	16.987	17.41	14.8
المتوسط الحسابي	17.95533	17.20967	17.3	14.96
الانحراف المعياري	0.013796	0.199465	0.115326	0.14

ويوضح الشكل (4) العلاقة بين محتوى الأغلفة من الرطوبة وتركيز خلاصة أوراق البطم المُضافة.



الشكل (4): العلاقة بين محتوى الأغلفة من الرطوبة وتركيز خلاصة أوراق البطم [%].

وبتبيين من خلال الشكل (4) حصول انخفاض في قيمة الـ (MC%) من 17.95^a% إلى 14.96^b%، مع ازدياد تركيز الخلاصة النباتية من 0% إلى 5%. ولم يتبين وجود فرق معنوي كبير بين رطوبة الأغلفة المحتوية على الخلاصة بنسبة [w/w] (0, 1, 3%) على التوالي التي سجلت القيم التالية على التوالي (17.95^a, 17.21^a, 17.3^a%) بينما حصل انخفاض معنوي ملحوظ إلى القيمة 14.96^b% للغلاف الحاوي على الخلاصة بتركيز [w/w] 5%. تتحكم المركبات الفينولية المضادة للأكسدة بمحتوى الأغلفة من الرطوبة، كما تتربط المجموعات الهيدروفيلية كمجموعات الهيدروكسيل والكربوكسيل لمركبات البولي فينولات الموجودة في مستخلص أوراق البطم مع الماء [19]. وتتوافق نتائج هذه الدراسة مع ما توصل إليه الباحث (Norajit) وزملاؤه [20]، كما تزداد إمكانية الارتباط بين المستخلص وبين المجموعات الهيدروكسيلية الهيدروفيلية للبوليمير وفقاً لنتائج دراسة قام بها الباحث (Ekrami) وزملاؤه [21].

ويعزى الانخفاض في رطوبة الغلاف إلى الارتباطات المتشكلة بين (الجليسرول- نشاء)، والتي تقلل من امتصاص الماء من الجو كما يعزى الانخفاض في الرطوبة للحموض العضوية الموجودة والتي تشكل تشابك مع النشاء حيث تزيد هذه الحموض العضوية من الطبيعة الهيدروفوبية للسطح وتزيد طاقة السطح بسبب تشكل الرابطة الهيدروجينية [22].

4-3- الاختبار الجرثومي للأغلفة:

يوضح الجدول (2) تأثير زمن التخزين وتركيز خلاصة أوراق البطم على الحمولة البكتيرية [CFU/ml] للمزائج المختلفة لأغلفة السُّطلب المدروسة.

الجدول (2): تأثير زمن التخزين وتركيز خلاصة أوراق البطم على الحمولة البكتيرية [CFU/ml] للمزائج المختلفة لأغلفة السُّحلب المدروسة.

العينات					
LSD _{0.05}	الغلاف 3 (S ₁ /G _{1.3} /PLE ₅)	الغلاف 2 (S ₁ /G _{1.3} /PLE ₃)	الغلاف 1 (S ₁ /G _{1.3} /PLE ₁)	شاهد (S ₁ /G _{1.3})	زمن تخزين العينة
	عدد المستعمرات البكتيرية [CFU/ml]				
430.18	100 ^{B-c}	200 ^{B-c}	800 ^{C-b}	3500 ^{C-a}	حديثة التشكيل
2536.14	200 ^{AB-c}	300 ^{B-c}	14500 ^{B-b}	400000 ^{B-a}	بعد شهر
4718.13	300 ^{A-c}	500 ^{A-c}	40000 ^{A-b}	1000000 ^{A-a}	بعد شهرين
	103.29	102.14	1800.30	4601.13	LSD _{0.05}

• الأحرف الكبيرة للمقارنة ضمن العمود الواحد - والأحرف الصغيرة للمقارنة ضمن الصف الواحد.

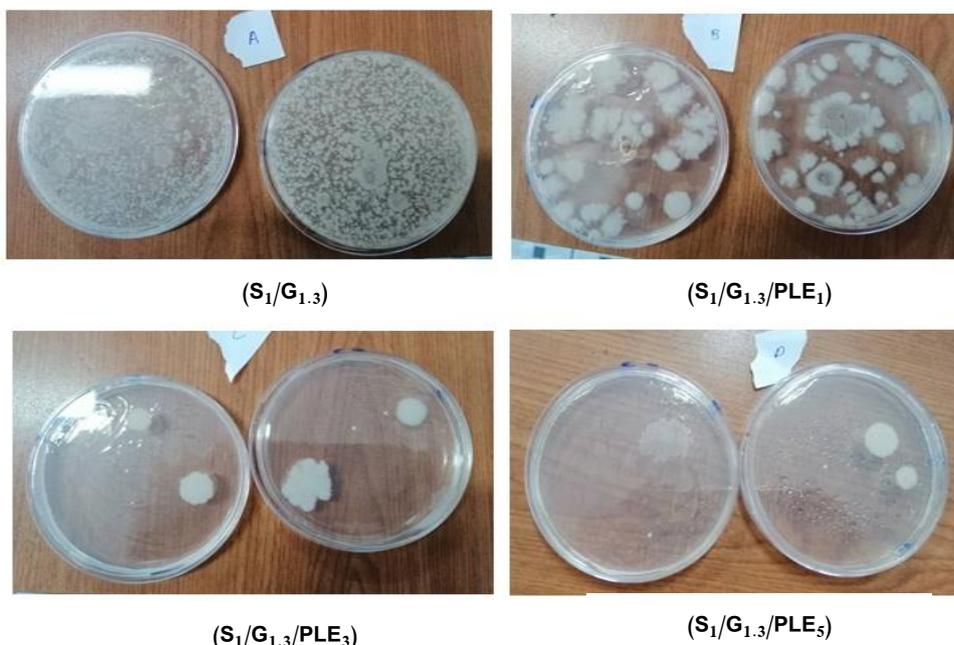
يتبين من خلال معطيات الجدول (2) حصول تناقص في عدد المستعمرات البكتيرية مع ازدياد تركيز الخلاصة النباتية في الغلاف من 0% [w/w] إلى 5% [w/w]. حيث بلغ عدد المستعمرات البكتيرية النامية في الأغلفة الأربعة حديثة التشكيل [CFU/ml] (1×10^2 , 2×10^2 , 8×10^2 , 35×10^2) على الترتيب، الحاوية على الخلاصة بالتركيبة التالية [w/w] (0, 1, 3, 5). في حين بلغ عدد هذه المستعمرات البكتيرية النامية بعد مضي شهر من التشكيل: [CFU/ml] (2×10^2 , 3×10^2 , 145×10^2 , 4000×10^2) على الترتيب، بينما ارتفع عدد المستعمرات البكتيرية النامية في الغلاف بعد مضي شهرين من التشكيل إلى: (3×10^2 , 5×10^2 , 400×10^2 , 10000×10^2) [CFU/ml] على الترتيب.

ولم يُلاحظ أي نشاط مثبّط لنمو البكتيريا الغلاف السُّحلب الشاهد عند مقارنته مع الأغلفة المدعّمة بالمستخلص النباتي، حيث تبين أنّ الغلاف الحاوي على خلاصة الأوراق الغضة بتركيز 1% [w/w] له تأثير مثبّط لنمو البكتيريا، حيث خفّضت عدد المستعمرات البكتيرية بنسبة 77%، فقد كان هناك فرق معنوي واضح بعدد المستعمرات البكتيرية [CFU/ml] 3500^a و 800^b [CFU/ml] بين غلاف الشاهد والغلاف الحاوي على 1% [w/w] من خلاصة أوراق البطم على الترتيب، كما لوحظ أنّ هذا الفرق المعنوي واضح أيضاً بين هذين الغلافين بعد مضي شهر وشهرين من التخزين.

كما تبين أيضاً من خلال النتائج التي يوضّحها الجدول (2) حصول انخفاض في عدد المستعمرات البكتيرية للأغلفة حديثة التشكيل بنسبة 94.3% عند وجود الخلاصة النباتية بنسبة 3% [w/w]. كما أدى تعديل الأغلفة بنسبة 5% [w/w] من خلاصة أوراق البطم إلى تخفيض عدد المستعمرات البكتيرية بنسبة 97.2% مقارنةً بغلاف الشاهد. وتبين أنّه لا يوجد فرق معنوي بين عدد المستعمرات البكتيرية النامية [CFU/ml] 200^c و 100^c [CFU/ml] في الغلافين الحاويين على الخلاصة بتركيز 3% [w/w] و 5% [w/w] على الترتيب. وهذا ما لوحظ أيضاً بعد مضي شهر وشهرين من تخزين نفس الغلافين.

يوضّح الجدول (2) ازدياد عدد المستعمرات البكتيرية في غلاف الشاهد بشكل كبير جداً، بعد مضي شهرين على تخزين الأغلفة، حيث وصلّ التعداد العام للبكتيريا إلى حوالي 10^6 [CFU/ml] مقارنةً بالتعداد العام للبكتيريا في غلاف

الشاهد حديث التشكيل وغلّاف الشاهد المخزّن لمدة شهر. كما حصلَ أيضاً ازدياد بعدد المستعمرات البكتيرية في الغلاف الحاوي على الخلاصة بتركيز [w/w] 1% بفوارق معنوية واضحة. بينما لم يكن هناك ازدياد معنوي ملحوظ بعدد المستعمرات البكتيرية في الغلاف الحاوي على الخلاصة بتركيز [w/w] 3% بعد مضي شهر من التخزين^B [CFU/ml] 300 مقارنةً بالغلّاف حديث التشكيل حيث وصل عدد المستعمرات البكتيرية في هذا الغلاف إلى ^B 200 [CFU/ml] بينما كان الفرق واضحاً بعدد المستعمرات البكتيرية بعد مضي شهرين من تخزين الغلاف حيث وصل إلى ^A 500 [CFU/ml]. وكان الغلاف الحاوي على الخلاصة بتركيز [w/w] 5% أفضلها، حيث لم يكن هناك فارق معنوي واضح بعدد المستعمرات البكتيرية [CFU/ml] 200^A و [CFU/ml] 300^A بعد مضي شهر وشهرين من التخزين على التوالي، فقد حافظت على فعاليتها فترة أطول مقارنةً بباقي الأغلفة، وبالنتيجة لم يظهر الغلاف المحتوي على خلاصة أوراق البطم بنسبة 1% [w/w] ثباتية ميكروبيولوجية تحاكي الثباتية الميكروبيولوجية الملاحظة عند التركيزين [w/w] 3% و [w/w] 5%. ويوضّح الشكل (5): أطباق بتري الحاوية على المستعمرات الجرثومية النامية في المزارع المختلفة لأغلفة السّحلب المدروسة بعد شهرين من تشكيلها.



الشكل (5): أطباق بتري الحاوية على المستعمرات الجرثومية النامية في المزارع المختلفة لأغلفة السّحلب المدروسة بعد شهرين من تشكيلها.

تبيّن من خلال النتائج التي يوضّحها الجدول (2) أنه لم يكن لغلّاف السّحلب فعالية واضحة ضد نموّ البكتيريا، وبذلك تتوافق نتائج هذه الدراسة مع ما توصّل إليه الباحث (Xu) وزملاؤه [23]، حيث أنه لم يكن لغلّاف غلوكومانان نبات الكونجاك (KG) konjac Glucomannan أي تأثير مثبّط للبكتريا الكروية العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*). كما توصّل الباحث (Li) وزملاؤه [24] لنفس النتيجة حيث لم يكن لغلّاف الغلوكومان أي تأثير مثبّط للكائنات الحية الدقيقة التالية المختبرة (*E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*)، كما أشار الباحث (Lu) [25]، أيضاً إلى أنه لم يكن لـ (KGkonjac)

Glucomannan أي نشاط مضاد لأنواع البكتيرية (*S. aureus, B. subtilis, E. coli, P. aeruginosa, Saccharomyces*).

وتبيّن من خلال المعطيات الواردة في الجدول (2) أنّ لمستخلص أوراق البطم تأثير فعّال ضدّ نموّ البكتيريا. وتعود قدرة هذا المُستخلص على تثبيط الميكروبات لاحتوائه على مركّبات فينولية وفلافونويدات (flavonoids) كمركّبات اللوتيوولين-7-غليكوزيد (luteolin-7-glucoside)، ولوتيوولين (luteolin)، وأبيغنين-7-غليكوزيد (apigenin-7-glucoside) وقلويدات [9]. كما توصّل الباحث (Kaya) وزملاؤه [19] لنتائج مشابهة فقد كان لمستخلص أوراق البطم الترينثيني (*Pistacia terebinthus*) المحتوي على مركّبات عطرية طيارة أهمّها البولي فينولات والفلافونويدات، الممزوج مع أغلفة الكيتوزان أعلى فعّالية ضدّ الميكروبات (*P. microbilis, P. vulgaris, P. aeruginosa, E. coli*) مقارنةً بغلاف الشاهد وخصوصاً ضدّ البكتريا موجبة الغرام والتي تتصف بقدرتها الطبيعية المقاومة للمضادات البكتيرية.

ووفقاً للمعطيات المبينة في الجدول (2) فقد انخفض التعداد البكتيري مع ازدياد تركيز خُلاصة أوراق البطم في غلاف السُّحلب، حيث تتوافق نتائج هذه الدّراسة مع ما توصّل إليه الباحث (Ekrami) وزملاؤه [21] عند دراسة تأثير الازدياد بتركيز خلاصة النّوع على الفعّالية المضادة للبكتيريا لغلاف السُّحلب. كما توصّلت الباحثة (Maryam) وزملاؤها [26]، إلى نتائج مشابهة عند دراسة تأثير الازدياد بتركيز زيت الزعتر البرّي على الفعّالية المضادة للبكتيريا لغلاف (الأغار-سيلوز).

كما وصّحت المعطيات الواردة في الجدول (2) ازدياد عدد المستعمرات البكتيرية مع ازدياد الزّمن، ويعود هذا لانخفاض تركيز المركّبات الفعّالة المضادة للميكروبات مع الزّمن، حيث تتوافق نتائج هذه الدّراسة مع النّتائج التي توصّلت إليها الباحثة (Gonzalez) وزملاؤها [27]. وأخيراً لا بدّ من التّويه إلى أنّ كميّة الفينولات المتبقية في الغلاف خلال فترات التّخزين تعتمد على شروط طريقة التّجفيف المستخدمة ونوع وحجم الفينولات المُضافة [28].

ويُلاحظ من البيانات المُوضّحة بالشكل (3) حصول ازدياد في حموضة محلول غلاف السُّحلب (انخفاض درجة الـ pH) مع ازدياد تركيز خُلاصة أوراق البطم المُضافة وهذا الأمر يترافق مع الانخفاض في التّمو البكتيري وتوضّح هذه النّتائج وجود علاقة وثيقة بين حموضة خُلاصة أوراق البطم والتّمو البكتيري بتناسب عكسي. تتوافق نتائج هذه الدّراسة مع عدة أبحاث على سبيل المثال فقد أظهر الباحث (Doughari) [29]، حصول ازدياد في نشاط مستخلص أوراق النّمر الهندي ضدّ البكتيريا ضمن المجال (pH)=2-6، بينما حصل تناقص بفعّالية مستخلص النّبات ضدّ البكتيريا عند قيم الـ (pH) القلوية. كما توصّلت الباحثة (Maria) وزملاؤها [30] لنتائج مشابهة على محلول التّغطية المُركّب من الألبينات وميروس التفاح المُدعّم بزيت اللّيمون وزيت الأوريغانو، فقد حصل انخفاض في نموّ مستعمرات البكتيريا الهوائية المحبة للبرودة (psychrophilic) عند قيمة pH<3.6 مقارنةً مع محاليل التّغطية ذات درجة الحموضة pH=4.5. كما لوحظت نتائج مشابهة في دراسة أُجريت من قبل الباحث (Duan) وزملاؤه على غلاف (الكيتوزان-الليزوزيم) [31].

يساهم الغليسيرين في زيادة انحلالية الخلاصة ضمن شبكة الغلاف وتبيديها بشكل منتظم داخله مما يزيد من فعالية الخلاصة بتثبيط نمو البكتيريا [32].

5-الاستنتاجات والتوصيات:

5-1- الاستنتاجات:

- أعطت خلاصة أوراق البطم الغضة ذات التركيز [w/w] 5% المضافة لأغلفة السحلب القابلة للأكل، أقل محتوى من الرطوبة.
- لم يحدث تغير واضح يُذكر بقيمة الـ (pH) بين محلولي غلاف السحلب المحتويين على الخلاصة النباتية بالتركيزين [w/w] 1% و 3% [w/w]، في حين أنه حصل انخفاض واضح بقيمة (pH) محلول الغلاف المحتوي [w/w] 5% من الخلاصة النباتية.
- أظهرت جميع التراكيز المضافة من خلاصة الأوراق فعالية واضحة ضد نمو البكتيريا على الأغلفة المشكّلة حديثاً والمُحرّنة، مع تفوق التركيزين [w/w] 3% و [w/w] 5% بالفعالية.
- يُعد غلاف السحلب المكوّن من سحلب (S) بنسبة 1% وجليسرين (G) بنسبة 1.3% وخلاصة أوراق البطم (PLE) بالنسبة [w/w] 5% ذو فعالية مضادة للبكتيريا وصالحاً للتخزين والأكل.

5-2- التوصيات:

- وفقاً للنتائج الإيجابية للاختبارات التي تم تطبيقها على الأغلفة الأربعة الواردة في هذه الدراسة:
- يُوصى باستخدام الغلاف المكوّن من السحلب (S) والجليسرين (G) وخلاصة أوراق البطم (PLE) بالنسبة [w/w] 5%، في تغليف الأغذية.
- دراسة استخدام بوليميرات أخرى مثل ألجينات الصوديوم، والسيللوز وهلام بذور الكتان والكيوتوزان والتشاء لتحضير الأغلفة القابلة للأكل من أجل تحسين المحتوى من الرطوبة ودراسة خصائصها الميكانيكية.
- تعديل الأغلفة القابلة للأكل بمضادات مكرّبة كدقائق الفضة النانوية أو دقائق أكسيد الزنك (ZnO) ومقارنتها بالفعالية المضادة للميكروبات للأغلفة المصنّعة.

المراجع:

- [1] Cao, N.; Fu, Y.; He, J. (2007), *Mechanical properties of gelatin films cross-linked, respectively, by ferulic acid and tannin acid*. Food Hydrocolloids. 21: 575–584.
- [2] Erkmen, O.; Barazi, O. A. (2018), *General characteristics of edible films*. Journal of Food Biotechnology Research. 2(1):3.

- [3] Ekrami, M.; Emam-Djomeh, Z. (2014), *Water vapor permeability, optical and mechanical properties of salep-based edible film*. Journal of Food Processing and Preservation. 38: 1812–1820.
- [4] Campos, A. C; Gerschenson, N. L.; Flores, K. S. (2010), *Development of edible films and coatings with antimicrobial activity*. Food Bioprocess Technol. Springer.
- [5] Haddad, S.; Guendouzene, L. (2016), *formulation of an aromatic fermented milk with lentiscus*. Master, University of Bejaia.
- [6] Cagri, A.; Ustunol, Z.; Ryser, E. T. (2001), *Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing p-aminobenzoic or sorbic acids*. Journal of Food Science. 66(6): 865-870.
- [7] Zam, W.; Ali, A.; Hasan, R. (2020), *Determination of phenolic compounds' extraction conditions from Pistacia palaestina leaves at two different stages of maturity*. Current Nutrition & Food Science. 16: 1-6.
- [8] Flamini, G.; Bader, A.; Cioni, L. P.; Katbeh-Bader, A.; Morelli, I. (2004), *Composition of the essential oil of leaves, galls, and ripe and unripe fruits of Jordanian Pistacia palaestina Boiss*. J. Agric. Food Chem. 52: 572-576.
- [9] Kavak, D. D.; Altıok, E.; Bayraktar, O.; Ulku, S. (2010). *Pistacia terebinthus extract: As a potential antioxidant, antimicrobial and possible-glucuronidase inhibitor*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 64: 167–171.
- [10] Hafsé, M; Benbrahim, F. K; Saidi, A; Farah, A. (2013), *Volatile components and antibacterial profile of essential oils extracted from leaves and twigs of Pistacia lentiscus L*. British Microbiology Research Journal. 3(4): 602-611.
- [11] Edrah, S; Alafid, F; Kumar, A. (2015), *Preliminary phytochemical screening and antibacterial activity of Pistacia atlantica and Prunus persica plants of Libyan origin*. International Journal of Science and Research. 4(2): 1552-1555.
- [12] Rubilar, J; Cruz, R; Silva, H; Vicente, A; Khmelinskii, I; Vieira, M. (2013), *Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract*. Journal of Food Engineering. 115: 466–474.
- [13] Brodnjak, U; Todorova, D. (2018), *Chitosan and rice starch films as packaging materials. Original scientific paper*, published by the University of Novi Sad, Faculty of Technical Sciences, Department of Graphic Engineering and Design. P. 275-280.
- [14] Zahedi, Y; Ghanbarzadeh, B; Sedaghat, N. (2010), *Physical properties of edible emulsified films based on pistachio globulin protein and fatty acids*. Journal of Food Engineering. 100:102–108.
- [15] ISO 4833/2003, ISO 7218/2001.
- [16] ISO 6887-1/1999.
- [17] Sobiesiak, M. (2017), *Chemical structure of phenols and its consequence for sorption processes*. In book Phenolic compounds-natural sources, importance and applications. InTech, Croatia. DOI:10.5772/66537.
- [18] Kurt, A; Kahyaoglu, T. (2014), *Characterization of a new biodegradable edible film made from salep glucomannan*. Carbohydrate Polymers. 104: 50–58.
- [19] Kaya, M; Khadem, S; Cakmak, S. Y; Mujtaba, M; Ilk, S; Akyuz, L; Salaberria, M. A; Labidi, J; Abdulqadira, H. A; Deligoz, E. (2018), *Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of Pistacia terebinthus for active food packaging*. RSC Adv. 8: 3941.
- [20] Norajit, K; Kim, K; Ryu, G. (2010), *Comparative studies on the characterization and antioxidant properties of biodegradable alginate films containing ginseng extract*. Journal of Food Engineering. 98: 377–384.

- [21] Ekrami, M; Emam-Djomeh, Z; Ghoreishy, A. S; Najari, Z; Shakoury, N. (2019), *Characterization of a high-performance edible film based on Salep mucilage functionalized with pennyroyal (Mentha pulegium)*. Biological Macromolecules. 133:529-537.
- [22] Gutiérrez, T; González, G. (2010), *Effect of cross-linking with Aloe vera gel on surface and physicochemical properties of edible films made from plantain flour*. Journal of Food Engineering. 98: 377–384.
- [23] Xu, X; Li, B; Kennedy, J. F; Xie, B. J; Huang, M. (2007), *Characterization of konjac glucomannan–gellan gum blend films and their suitability for release of nisin incorporated therein*. Carbohydrate Polymers. 70: 192–197.
- [24] Li, B; Kennedy, J.F; Peng, J. L; Yie, X; Xie, B. J. (2006), *Preparation and performance evaluation of glucomannan–chitosan–nisin ternary antimicrobial blend film*. Carbohydrate Polymers. 65: 488–494.
- [25] Lu, J; Wang, Xiaodan; Xiao, Ch. (2008), *Preparation and characterization of konjac glucomannan/poly(diallyldimethylammonium chloride) antibacterial blend films*. Carbohydrate Polymers. 73: 427–437.
- [26] Atef, M; Rezaei, M; Behrooz, R. (2015), *Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil*. Food hydrocolloids. 45: 150-157.
- [27] Gonzalez, L; Martinez, Ch; Chiralt, A; Chafer, M. (2010), *Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films*. Journal of Food Engineering. 98: 443-452.
- [28] Moradi, M; Tajik, H; Rohani, S; Oromiehie, R. A. (2012), *Malekinejad, H; Aliakbarlu, J; Hadian, M. Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with Zataria multiflora Boiss essential oil and grape seed extract*. Food Science and Technology. 46: 477-484.
- [29] Doughari, J. (2006), *Antimicrobial Activity of Tamarindus indica Linn*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 5(2): 597-603.
- [30] Grau, M; Massilia, R; Fortuny, R; Bustillos, R; Mchugh, T; Beloso, O. (2007), *Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples*. Postharvest Biology and Technology. 45: 254–264.
- [31] Duan, J; Park, S; Daesche, M; Zhao, Y. (2007), *Antimicrobial chitosan-lysozyme (cl) films and coatings for enhancing microbial safety of mozzarella cheese*. Journal of Food Science. 72(9): 355-362.
- [32] Maizura, M; Fazilah, A; Norziah, M, H; Karim, A,A.(2007), *Antibacterial activity and mechanical properties of partially hydrolyzed sago starch–alginate edible film containing lemongrass oil*. Food Chemistry and Toxicology. 72: 6.