تقييم تأثير المركبات الفينولية في المستخلص المائي لأوراق الرمان والزيتون كمضادات اكسدة ومضادات بكتيرية في لحوم العجول

حسنين جهاد نعمة

الجامعة التقنية الوسطى –المعهد التقني / كوت - قسم صحة المجتمع

Evaluation Effect of Phenolic Compounds in Aqueous Extracts of Pomegranate and Olive Leaves as Antioxidant and Antibacterial in beef

H.J. Neamah

Abstract

The present study was aimed to know the effects of phenolic compounds were extracted from pomegranate and olive leaves which evaluated in beef. The results were showed effect plant extracts as antibacterial by agar diffusion method (Inhibition Zone Diameter) compared to antibiotics standard (cefamandol, cefixime and piperacillin) . On the other side, used Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) analysis to investigate on the meat oxidative , control treatment (C) showed exhibited the greater values of TBA, and lower TBA values were observed in pomegranate and olive leaves extract treatment combinations (POE) 3% followed by pomegranate leaves extract treatment (PE) 3% and olive leaves extract treatment (OE). Bacterial contamination in beef was determined and compared with Iraqi standard microbiological limits, the aerobic total plate bacteria in (PE) treatment lowest number followed by OE and POE compared with the control treatment in which increased of content from total aerobic bacteria.

المستخلص

هدفت هذه الدراسة تقييم تأثير ألمركبات ألفينولية المستخلصة من اوراق الرمان والزيتون في لحوم العجول.أظهرت النتائج تأثير المستخلصات النباتية كمضادات أكسدة من خلال النشر بالاجار (قياس قطر التثبيط) مقارنةً مع مضادات حيوية قياسية (cefamandol ، cefixime و piperacillin). من جانب اخر ، أستخدام تحليل حامض الثايوباربيوترك (TBARS) للتحري عن الاكسدة في اللحم . أظهرت معاملة السيطرة ارتفاع في قيمة TBA ، ولوحظ انخفاض في قيمة TBA في معاملة المستخلص المائي لخليط أوراق الرمان والزيتون (POE) بتركيز 3% وتلتها معاملة المستخلص المائي لأوراق الرمان (PE) بتركيز 3% ومعاملة المستخلص المائي لأوراق الزيتون 3% (OE). تم تحديد حالات التلوث البكتيري في لحم العجول ومقارنتها مع

الحدود المايكروبايلوجية القياسية العراقية، أنخفضت البكتريا الهوائية الكلية في معاملة PE وتبعتها معاملة OE و POE مقارنة مع معاملة السيطرة التي ارتفع فيها المحتوى من البكتريا الهوائية .

المقدمة

ان منتجات اللحوم قد تكون معرضة للتلف من قبل أثنين من الاسباب الرئيسة وهي الاكسدة الكيميائية للدهون و النمو الجرثومي على اللحم خلال الخزن ، أذ يؤدي كلا السببين الى انخفاض في جودة اللحوم و تغييرات على الصفات الحسية كاللون والنكهة والرائحة (1) . أتجه الباحثون لأيجاد وسائل تمنع من تدهور الصفات النوعية للحوم كاستعمال مضادات اكسدة ومضادات مايكروبية من مصادر مختلفة طبيعية كانت ام صناعية ، ولقد ازداد في الاونة الاخيرة الطلب على مضادات الاكسدة الطبيعية مقارنةً بالصناعية لكونها امنة اكثر،إذ أشار الباحثين الى الأثر السلبي في استخدام مضادات الاكسدة الصناعية لانها قد تكون مسممة او مسببة للسرطان و أنخفاض الرغبة من قبل المستهلكين على الاغذية ذات المواد الحافظة و الأضافات الصناعية (2 و 3) ، حاليا تستخدم المستخلصات النباتية في الحد من تدهور الصفات النوعية للحوم وخاصة الاكسدة ، هذه المضادات الطبيعية لها دور كبير في ايقاف تكون الجذور الحرة في الدهون والاغذية ومنها اللحوم المحتوية على الدهن فتسبب في زيادة مدة صلاحيتها و مدة خزنها (4) . إن مضادات الاكسدة الطبيعية والتي مصدرها النباتات تحتوي على مركبات فعالة تسمى بالمركبات الفينولية كالفلافونويدات والانثوسيانين والتانينات والتي تعد المجاميع الكيميائية الرئيسة والتي لها دور في الحفاظ على الصفات النوعية للحوم من خلال

نشاطها البايلوجي العالي (5) . إن استخدام المركبات الكيميائية الطبيعية المستخلصة من النباتات قد يكون بديلاً جيداً لسلامة الغذاء لما لها من أثر في تثبيط او خفض معدل النمو المايكروبي وليس فقط تحسين الصفات النوعية للاغذية ، حيث اثبتت الدراسات دور المستخلصات النباتية كمضادات للنمو المايكروبي في اللحوم نظراً للتنوع الكيميائي لها (6)، وهناك الكثير من النباتات لها القدرة على منع تدهور الصفات النوعية والصحية للحوم كأستخدام مستخلص نبات الحلبة وأكليل الجبل والشاي الاخضر والاسود (1) ، وأوراق الزيتون أو اوراق وحبوب و قشور الرمان (7،8) ، لذلك صممت هذه الدراسة لبيان اهمية اضافة المستخلص المائي لاوراق الرمان والزيتون كمضادات أكسدة ومضادات بكتيرية للحوم العجول خلال الخزن.

المواد وطرائق العمل

تحضير المستخلص المائي لأوراق الرمان والزيتون

تم قطف أوراق الرمان والزيتون من اشجارها في مدينة الكوت (جنوب بغداد) بتأريخ 2015/1/5 ، وبعد عملية القطف تم غسل العينات لأزالة الاتربة والغبار عليها ثم تم تجفيفها بالفرن لحين الجفاف وازالة الرطوبة منها ، ثم تم طحنها ووضعها في عبوات وخزنت بالثلاجة لحين الاستعمال ، بعد ذلك اخذ 100غرام من كل عينة وأضيف لها 1 لتر من الماء المقطر (درجة حرارته 30 درجة مئوية) وخلطت بأستخدام جهاز التجنيس المغناطيسي لمدة 60 دقيقة (5) ، بعدها خزنت بالثلاجة (4 ° م) لمدة 24 ساعة ثم تم ترشيح المزيج بأستخدام الشاش الطبي اولاً لازالة الاجزاء الخشنة من المسحوق النباتي ومن ثم تم تمرير السائل بشكل تدريجي على أوراق ترشيح وبأستخدام قمع بخنر تحت التفريغ ، تم فصل المواد العالقة الباقية من خلال استخدام جهاز النبذ المركزي (بسرعة 5000 دروة بالدقيقة لمدة 15 دقيقة) ،المحلول المائي المتبقي وضع في الفرن بدرجة حرارة 40 ° م لحين الجفاف ،تم جمع المستخلص الخام ووضع في عبوات زجاجية وخزن بالثلاجة بدرجة حرارة 4 ° م لحين الاستخدام ثم تم تحضير ثلاثة محاليل من المستخلصات النباتية بتركيز 3% لكل منها ،محلول مستخلص أوراق الرمان ، محلول مستخلص اوراق الزيتون و محلول خليط مستخلصي اوراق الرمان والزيتون (9).

الكشف عن المركبات الفعالة في المستخلص المائي لأوراق الرمان والزيتون

تم الكشف عن المركبات الفعالة باستخدام اختبار أضاف امل من محلول كلوريد الحديديك (1%) الى محلول المستخلص المائي لأوراق النباتات لملاحظة التغير في لون المحلول كدليل على وجود المركبات الفينولية فيها (10).

نشاط المركبات الفعالة في المستخلص المائي لأوراق الرمان والزيتون

تم اختبار النشاط للمركبات الفعالة في المستخلص المائي لأوراق النباتات المضاد للبكتريا الموجودة في اللحوم ومقارنتها باثر المضادات الحيوية القياسية cefamandol ، cefixime و piperacillin على البكتريا مختبرياً ، بأستخدام طريقة قياس قطر التثبيط (disk diffusion method) على البكتريا المعزولة مسبقاً من اللحوم وهي الاشرشيا القولونية *Escherichia coli* والكليبسيلا *Klebsiella* (11) . زرعت أطباق بتري تحوي وسط Hinton Mueller agar ،بالبكتريا المعدة مسبقاً ،إذ زرع سطح الأكار بواسطة مسحة قطنية (Cotton Swab) معقم من خلال تخطيط الأكار بالبكتريا من جميع الجهات لكي تتوزع الكمية بالتساوي، وأستخدم ثلاثة أطباق لكل عترة بكتيرية وبعدها تركت الأطباق لتجف لمدة 15 دقيقة، بعد ذلك وضعت أقراص المضادات الحيوية بواسطة ملقط معقم على سطح المرق المغذي المزروع. أستخدم 4 أقراص لكل طبق بينها مسافات متباعدة متساوية بين القرص والآخر وحضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة 37° م لمدة 24 ساعة اعتماداً على مدة النمو لكل بكتريا. تبعت الطريقة نفسها للمستخلصات النباتية، اذ أستخدمت أوراق ترشيح وقصت بأستخدام الثاقبة اليدوية وعقمت وشبعت بالمستخلصات النباتية المختلفة بتركيز 10 و 20% (10ملغرام و20 ملغرام لكل 100 مل ماء مقطر) لكلا المستخلصين وحضنت بدرجة حرارة 37 ° م لمدة 24 ساعة (11).جرى قياس قطر منطقة التثبيط حول أقراص المضادات الحيوية وأقراص المستخلصات النباتية بالمليمتر بواسطة المسطرة الاعتيادية (12) .

تحضير عينات اللحم

حصل على عينات اللحوم من افخاذ العجول من محلات القصابة وأجري ازالة للانسجة الرابطة والدهن الخارجي قدر الامكان وكذلك العظام وبعد الحصول على اللحم الشرح (Lean) ،قسم اللحم الى اربع مجاميع (كل مجموعة 1 كغم) ،اعتبرت المجموعة الاولى معاملة سيطرة Control بعد غمر اللحم في هذه المجموعة بالماء المقطر ، المجموعة الثانية غمرت بمحلول يحتوي على 3% من المستخلص المائي لأوراق الرمان والمجموعة الثالثة غمرت بمحلول يتكون من 3% مستخلص أوراق الزيتون أما المجموعة الرابعة فقد غمرت بمحلول مكون من 3% خليط مستخلص أوراق الرمان والزيتون (باوزان متساوية) وخزنت جميع المعاملات بالتبريد (0-4 °م) لمدة 24 ساعة ، بعدها تم غسل عينات اللحوم المعاملة بالماء ولمستخلصات وتنشيف المعاملات الأربع وقسمت الى اجزاء ثم وضعت في اكياس البولي اثيلين وغلفت بأوراق الالمنيوم فويل وخزنت بالتجميد - 18 °م لمدة 60 يوم [15].

قياس اكسدة الدهون بواسطة تحليل حامض الثايوباربيوترك (TBARS)

قيست أكسدة الدهون في عينات للحم من خلال تقدير قيمة TBA حسب طريقة (16) والتي تتلخص بخلط 10غم لحم مع 25 مل محلول مكون من (20%) حامض الخليك ثلاثي الكلور(TCA) Trichloro acetic acid المذاب في حامض الفسفوريك ذي تركيز(2 مولاري) في جهاز التجنيس ولمدة (1.5 دقيقة) ثم تم نقل الخليط الى دورق سعة (50 مل) وتم أكمال الحجم بالماء المقطرلحد العلامة، ثم أخذ من الخليط (25 مل) ورشح بورق ترشيح رقم (1) وبعدها تم أخذ (5 مل) من الراشح وأضيف إليه (5مل) من كاشف TBA تركيز (0.005 مولاري) المذاب في الماء المقطر حضر المحلول الضابط (Blank) بمزج 5 مل من الماء المقطر مع 5 مل من محلول كاشف TBA. مزجت محتويات أنابيب الإختبار بصورة جيدة وتم غلقها بسدادات محكمة وحفظت في مكان معتم لمدة 15-17 ساعة في درجة حرارة الغرفة ثم تم قياس الامتصاصية (A) للون الناتج على

الطول الموجي (530) نانوميتر بأستخدام جهازالمطياف الضوئي .وحسبت قيمة TBA بضرب قيمة الامتصاصية بالعامل (5.2) وتم التعبير عن قيمة TBA على اساس ملغم مالون الديهايد Malonaldehyde (MDA) لكل كغم لحم وحسب المعادلة الاتية:-

قيمة TBA

(ملغم MDA/كغم لحم) = A_{530} × 5.2 [17]

العد البكتيري

أخذت عينات مختلفة من اللحم وحضرت منها التخافيف وذلك بأخذ 25 غرام من كل عينة إلى انبوبة التخفيف الأولى الحاوية على 225 مل من ماء الببتون الدارئ بتركيز 0.1%، والمعقم بالموصدة للحصول على ست تخافيف عشرية من خلال نقل 1مل في كل مرة إلى 9 مل من ماء الببتون المحضر والمعقم مسبقاً. أستخدمت هذه التخافيف في عد البكترية النامية (18) .

حساب اعداد مستعمرات البكتريا الهوائية الكلية

استخدمت طريقة الصب في الاطباق بالاعتماد على الطريقة الموصوفة من قبل (18) والتي تتضمن وضع 1 مل من المخفف المعد مسبقا في طبق بتري ثم صب 15 مل من المرق المغذي Nutrient agar بعده تم خلط الاطباق بشكل هادئ من خلال تحريك الطبق على شكل ر قم 8 ثم تركت الاطباق لحين تصلب الوسط المغذي وبعدها قلبت الاطباق وحفظت بالحاضنة بدرجة حرارة 37 ° م لمدة 48 ساعة ثم تم حساب عدد المستعمرات على اساس 1غرام من العينة.

التحليل الاحصائي

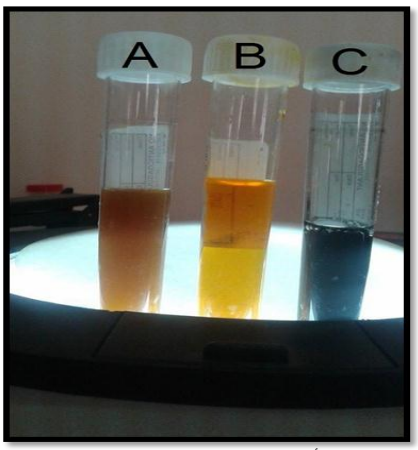
أخضعت البيانات لتحليل التباين (ANOVA) باستخدام (19)، تم استخدام اختبار دانكن متعدد الحدود لإيجاد الفرق المعنوي بين متوسط قيم كل المعاملات (20).

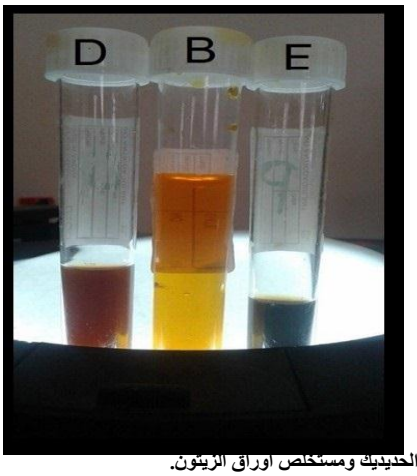
النتائج والمناقشة

الكشف عن المركبات الفينولية في المستخلصات المائية لأوراق الرمان والزيتون

عند إضافة كلوريد الحديديك (1%) إلى المستخلص المائي لأوراق الرمان 3% والمستخلص المائي لأوراق الزيتون 3%، لوحظ تكون لون اخضر داكن نتيجة تفاعل كلوريد الحديديك مع المركبات الفينولية في المستخلصات النباتية (10) ، كدليل على وجود المركبات الفينولية في ألمستخلصات لأوراق الرمان والزيتون كما موضح بشكل (1) .

شكل (1) التفاعل بين كلوريد الحديديك والمركبات الفينولية الموجودة في المستخلص المائي لأوراق النباتات.





A:المستخلص المائي لأوراق الزيتون ، B:محلول كلوريد الحديديك 1% ، C:التفاعل بين كلوريد الحديديك ومستخلص أوراق الزيتون.

D:المستخلص المائي لأوراق الرمان،E: التفاعل بين كلوريد الحديديك ومستخلص أوراق الرمان .

النشاط المضاد للبكتريا (قياس قطر منطقة التثبيط)

أهمية أوراق الرمان والزيتون كمضادات بكتيرية تتوضح من خلال جدول (1) ، إذ يشير الى الدور الفعال الذي تقوم به المستخلصات المائية لأوراق الرمان والزيتون في تثبيط النمو البكتيري مقارنة بمجموعة من المضادات الحيوية القياسية cefamandol (ma) ، cefixime (cfm) و piperacillin (pi) ، فقد أظهرت النتائج أرتفاعاً معنوياً ($p<0.01$) في قابلية المستخلص المائي لأوراق الرمان بتركيز 20% (P20) والمستخلص المائي لأوراق الزيتون بتركيز 20% (O20) والمستخلص المائي لأوراق الرمان بتركيز 10% (P10)على تثبيط النمو لبكتريا الاشرشيا القولونية من خلال زيادة قطر التثبيط للاقراص بمقدار 14.658 ، 13.225 ، 12.8مليمتر (ملم) على التوالي ، في حين لم يلاحظ وجود فروق معنوية بين المستخلص المائي لأوراق الزيتون بتركيز 10% (O10) والمضادات الحيوية ma ، cfm و pi أذ بلغ قطر التثبيط 8.95 ، 8 ، 8.05 و 9,225 ملم على التوالي .أما بالنسبة الى تأثير المستخلص النباتي على بكتريا الكليبسيلا فكما هو موضح جدول (1) يلاحظ أرتفاع معنوي في قطر منطقة التثبيط عند استخدام تركيز 20 و 10 % من المستخلص المائي لأوراق الرمان و 20% من المستخلص المائي لأوراق الزيتون الى 11.15 ، 9.8 و 9.65 ملم على التوالي مقارنةً بالمضادات الحيوية القياسية عدا ma التي سجلت منطقة تثبيط 10.975 ملم ، بينما كان قطر التثبيط عند استخدام المستخلص المائي لأوراق الزيتون بتركيز 10% 9 ملم ، في حين سجل انخفاض معنوي في قطر التثبيط لباقي المضادات الحيوية cfm و pi بلغت 7,25 و 7,5 ملم على التوالي . أن هذا الاثر الواضح لاستخدام المستخلصات المائية لأوراق الرمان والزيتون في زيادة قطر التثبيط ضد بكتريا الاشرشيا القولونية والكليبسيلا مقارنة بمجموعة من المضادات الحيوي قد يعود الى فاعلية المركبات الفينولية الموجودة بشكل طبيعي في المستخلصات وخاصة Tanins التي قد تؤثر بشكل كبير على طبيعة بروتينات البكتريا مما يؤدي الى قتلها او التأثير على الغشاء البلازمي وتغيير خواصة الوظيفية لفعالية المستخلصات وتاثيرها في نفاذية غشاء الخلية البكتيرية وعمل االانزيمات الناقلة أذ تتراكم المادة المستخلصة خارج الخلية

البكتيرية وبالتالي تثبيط نموها (21 و22) ، وذلك يعود الى ان السلاسل الالفاتية الجانبية على حلقة الفينول في المستخلص تجعل جزيئة الفينول محبة للدهون من خلال مجاميع الهيدروكسيل الثالاثية في حلقة β والتي تزيد من فاعلية المستخلص تجاه البكتريا (23) .

جدول (1) تأثير المستخلصات المائية لأوراق الرمان والزيتون بتراكيز مختلفة على البكتريا من خلال قياس قطر منطقة التثبيط .

قطر منطقة التثبيط (ملم)				
المعاملات	**الاشرشيا القولونية**	**SE**	**الكليبسيلا**	**SE**
P20	14.658^{a}	0.81	11.15^{a}	0.473
P10	12.8^{a}	0.989	9.8^{a}	0.337
O20	13.225^{a}	0.415	9.65^{a}	0.651
O10	8.95^{b}	0.538	9^{ab}	0.408
MA	8^{b}	0.645	10.975^{a}	0.522
CFM	8.05^{b}	0.457	7.25^{b}	1.108
PI	9.225^{b}	0.415	7.5^{b}	0.957

P20 ، P10 :اقراص مستخلص أوراق الرمان بتركيز 20و10% على التوالي .

O20 ، O10: اقراص مستخلص أوراق الزيتون بتركيز 20 و 10 % على التوالي .

MA: cefamandol ، CFM: cefixime ، PI: piperacillin (مضادات حيوية).

SE: الخطأ القياسي .

المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة (b،a) ضمن العمود الواحد بين المعاملات تختلف معنويا فيما بينها عند مستوى معنوية $p<0.01$.

قيمة حامض ثايوباربيوترك Thiobarbituric acid (TBA)

يتبين من النتائج في الجدول (2) وجود اختلافات معنوية ($p<0.01$) في قيمة TBA بين المعاملات أذ يلاحظ أرتفاع القيمة في معاملة السيطرة C بمقدار 0.375 ملغم مالون الديهايد/كغم لحم ،في حين سجلت اقل قيمة في معاملة خليط المستخلصات المائية لأوراق الرمان والزيتون POE بمقدار 0.11 ملغم مالون الديهايد /كغم تبعتها معاملتي المستخلص المائي لأوراق الرمان PE والزيتون OE بقيمة 0.148 و 0.268 ملغم مالون الديهايد /كغم على التوالي .إن المركبات

الفينولية الموجودة خاصة بالمستخلصات النباتية تحتوي على أثنين على الاقل من مجاميع الهيدروكسيل التي لها أهمية في الحد من اكسدة الدهون(24) إذ تقوم مجاميع الهيدروكسيل بوظيفة كبح عملية تكوين الجذور الحرة ومن ثم المحافظة على خواص اللحوم (5) .لوحظ ان مستخلصات أوراق الرمان والزيتون تحتوي كمية من المركبات الفينولية المتعددة كالفلافونويدات (25) .هذه المركبات الكيميائية يعزى لها الدور في كبح الاكسدة بالدهون نظراً لأحتوائها على عدد كبير من الجاميع الهيدروكسيلية داخل الهياكل الفينولية الموجودة بشكل طبيعي في أوراق الرمان (26) وأوراق الزيتون (27) .والمفترض ان المجاميع الهيدروكسيلية تهب أيونات الهيدروجين فتمنع من تكوين الجذور الحرة وبالتالي عرقلة اكسدة دهون اللحم (27)

جدول (2) تأثير المستخلصات المائية لأوراق الرمان الزيتون على قيمة حامض الثايوباربيوترك في اللحوم المعاملة بها.

المعاملات	قيم حامض الثايوباربيوترك TBARS ملغم مالون الديهايد/كغم (المتوسط الحسابي)	SE
C	0.375 [a]	0.043
PE	0.148 [c]	0.028
OE	0.268 [b]	0.039
POE	0.11 [c]	0.006

C:معاملة السيطرة ، PE:معاملة 3% مستخلص أوراق الرمان ، OE: معاملة 3% مستخلص أوراق الزيتون ، POE: معاملة 3% مستخلص خليط أوراق الرمان والزيتون ، SE: الخطأ القياسي .

المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة (c،b،a) ضمن العمود الواحد بين المعاملات تختلف معنويا فيما بينها عند مستوى معنوية $p<0.01$.

عد البكتريا الهوائية الكلية

يوضح الجدول رقم (3) مستوى التلوث المايكروبي من خلال العد لمحتوى اللحم من المستعمرات البكتيرية الهوائية الكلية حيث اظهرت النتائج الى ارتفاع المحتوى البكتيري في معاملة السيطرة التي بلغ فيها عدد المستعمرات 8.6×10^5 مستعمرة في 1 غرام لحم ، في حين سجلت معاملة مستخلص أوراق الرمان PE اقل نمو بكتيري بلغ 2.5×10^5 مستعمرة /1غم ، وتليها معاملة مستخلص خليط أوراق الرمان والزيتون POE ومعاملة مستخلص أوراق الزيتون OE بمقدار 4.03×10^5 و 5.9×10^5 مستعمرة /غم على التوالي ، هذه النتائج أتفقت مع (29 و 30) فقد حدد ان المحتوى البكتيري في غرم لحم $10^3 - 10^7$ مستعمرة غرام ، وقد أوضح (31) الى اثر المركبات الفينولية الموجودة في مستخلص أوراق الزيتون في تحديد النمو البكتيري كالاشرشيا القولونية و الكليبسيلا والسالمونيلا وغيرها ،وأقترح (5) الى ان تاثير مستخلص أوراق الرمان على البكتريا يعود الى احتواء المستخلص كمية كبيرة من المركبات الفينولية والفلافونويدات التي تعمل كمضادات لنمو البكتريا من خلال التأثير على الغشاء البلازمي للخلايا البكترية وتغيير خواصه الوظيفية (21).

جدول (3) تاثير المعاملة بالمستخلصات المائية لأوراق الرمان والزيتون وخليطهما على البكتريا الهوائية الكلية في لحوم العجول (×10 ^{5}).

المعاملات	اعداد المستعمرات البكتيرية الهوائية (مستعمرة / 1 غم لحم)	SE
C	8.6 ^{a}	0.231
PE	2.5 ^{d}	0.233
OE	5.9 ^{b}	0.066
POE	4.03 ^{c}	0.088

C:معاملة السيطرة ، PE:معاملة 3% مستخلص أوراق الرمان ، OE: معاملة 3% مستخلص أوراق الزيتون ، POE: معاملة 3% مستخلص خايط أوراق الرمان واليتون ، SE: الخطأ القياسي .

المتوسطات التي تحمل حروفا مختلفة (a ، b ، c ، d) ضمن العمود الواحد بين المعاملات تختلف معنويا فيما بينها عند مستوى معنوية $p<0.01$.

من خلال هذه الدراسة نستنتج وجود أثر فعال للمستخلصات المائية لاوراق الرمان والزيتون على النمو البكتيري باللحوم الحمراء ،من خلال خفض معدل النمو البكتيري للبكتريا الهوائية الكلية ورفع قطر منطقة التثبيط عند استخدام اقراص بتراكيز مختلفة من المستخلصات النباتية ،وكذلك اهمية استخدام المستخلصات النباتية المائية في زيادة حفظ اللحوم من خلال خفض قيم الاكسدة في اللحم بالاستدلال من خلال قيم حامض ثايوباربيوترك .

نوصي بدراسة الاثر الفعال للمستخلص المائي لاوراق الرمان والزيتون على الصفات النوعية للحوم كاللون والطراوة وقابلية اللحم على حجز الماء وكذلك دراسة فاعلية المستخلص الكحولي لاوراق الرمان على معد النمو المايكروبي وقيم الاكسدة في اللحوم الحمراء.

المصادر

1-Rababah, T.M., Hettiarachchy, N.S. and Horax, R.(2004). Total phenolics and antioxidant activities of fenugreek, green tea, black tea, grape seed, ginger, rosemary, gotu kola, and ginkgo extracts, vitamin E, and tertbutylhydroquinone , J. of Agric. and Food Chem., 52 :5183-5186.

2- Juntachote ,T., Berghofer, E., Sıebenhandl and Bauer ,S. F.(2006). The oxidative properties of Holy basil and Galangal in cooked ground pork, Meat Sci., 72: 446-456.

3- Barlow , S.M.(1990). Toxicological Aspects of Antioxidants Used as Food Additives. Food Science Seriesk, 253-307.

2- **Singh, R.P., Murthy,C. and Jayaprakasha, G.K.(2002).** Studies on the antioxidant

3- activity of pomegranate (Punica granatum) peel and seed extracts using in vitro models. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:81-86.

5-Elfalleh W., Tlili, N .,

Nasri,N ., Yahia, Y. , Hannachi,H. N .,Chaira, M. Y. and Ferchichi ,A.(2011). Antioxidant Capacities of Phenolic Compounds and Tocopherols from Tunisian Pomegranate (*Punica granatum*) Fruits. J. Food Sci., 76:707-713.

6-Negi, P. S.(2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application., 156 : 7–17.

7-Pereira, A.P., Ferreira, I. , Marceline,F., Valentao ,P. Andrade P., Seabra R, Estevinho,L. Bento ,A. and Pereira ,J.A.(2007). Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (Oleaeuropaea L.) leaves. Molecules, 12: 1153-1162.

8-Nawwar, M. A. M., Hussein,S. A. M , Merfort , I . (1994).NMR Spectral analysis of polyphenols from Punica granatum. Phytochemistry., 36:793-798.

9-Sakai ,Y., Nagase, Ose, H., Sato,Y. ,Yamaada,T. A. Hibi, M. and Yamaada , F.(1986). "Antmutagenicity of extracts from crud drugs in Chinese medicine," Mulat. Res., 174: 1-4.

for Organic Chemistry, p 410.

determining 2 –thiobarbituric acid value of pork and beef during storage.J.Food.Sci.,35:582-585.

17- Tarladgis ,B.G., Pearson , A.M., Dugan –JR . L.R. (1964). Chemistry of the 2-thiobarbituric acid test for detemination of oxidative rancidity in foods. II. Formation of the TBA-malonaldehyde complex without acid-heat treatment. J. Sci. Food Agric., 15: 602–604.

18- American Puplic Health Association, A.P.H.A. (1978). Standard Methods for the examination of food. 14th ed.Washington D.C.

19- SAS. (2010). Statistical Analysis System, User Guide: statistical. Version 9.1th ed. SAS Inst. Inc. Cary, N.C. USA.

20- Duncan , D.B. (1955). Multiple ranges and multiple test. *Biometric*, 11: 16.

21- Apak, R., Güçlü, K., Dernirata, B., Özyürek, M.,Çelik,S.E., Bektaşoğlu,B. ,Berker,K.I. and Özyurt,D. (2007). Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. Molecules, 12: 1496-1547.

10- Pasto, D.J. and Johnson , C.R.(1979). Laboratory Text

11- Gram, L., Melchiorsen, J., Spanggaard, B., Huber ,I. and Nielsen, T. F.(2004). Inhibition of Vibrio anguillarum by Pseudomonas fluorescens AH2, a possible probiotic treatment of fish. Appl. Environ. Microbiol., 65:969–973.

12- Nair, R., Kalariya, T. and Sumitra, C. (2005). Antibacterial activity of some selected indianmedicinal flora. Turk. Jou. Biol.,29: 41-47.

13- Pannu R. , Dahiya ,S. , Sabhlok, V.P., Kumar D., Sarsar, V. and Gahlawat , S.K. (2014). Effect of probiotics, antibiotics and herbal extracts against fish bacterial pathogens. Ecotoxicol. Environ. Contam., 9(1):13-20 .

14- Barry, A. l., Coyle ,M.B., Thornsberry, Gerlach, C.,E.H. and Hawkinsons , R.W.(1979). Methods of Measuring Zones of Inhibition with the BauerKirby Disk Susceptibility test. Jornal of Clinical Microbiology, 10 (6): 885-889.

15- Kheder, R. H. and Saleh, H.H.(2014). Effect of olive leaf extract on physicochemical characteristics of Karadi ram meat during frozen storage. Res. Opin. Anim. Vet. Sci., 4(6): 294-298.

16- Witte,V.C., Krause, G. and Bailey, M. E. (1970). A new extraction methods for

22- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol.Rev, 12 (4):564-582.

23. Angeh, J.E. (2006). Isolation and characterization of antibacterial compounds present in members of Combretum section Hypocateropsis .Ph.D, facul. Veterinary Sc., Univ.Performance.

24- Keceli, T., and Gordon, M.H.(2002). Ferric ions reduce the antioxidant activity of the phenolic fraction of virgin olive oil. Journal of Food Science, 67: 943-947.

25- Bouaziz, C., E.Sharaf , E. O., El Golli, A., Abid-Essefi, C., Brenner ,C.and Bacha H.L.(2008). Different apoptotic pathways induced by zearalenone, T-2 toxin and ochratoxin A in human hepatoma cells, Toxicol., 254 19-28.

26- Martins, P., F., Barbosa, S., Pinheiro, V., Mourao, J.L. and Outor-Monteiro, D. (2009). The effect of olive leaves supplementation on the feed digestibility, growth performance of pigs and quality of pork meat. Meat Science, 82: 438-443.

27- Omulokoli E, Khan, B., Chhabra ,S . (1997). Antiplasmodial activity of four Kenyan medicinal plants. J. Ethnopharmacol., 56(2):133–137.

28- McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M., and Robards, K.(2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73: 73-84.

30-Dempster, J.F. (1986). Bacteriological status of minced beef. Irish J. F. Sci. Technol.,2:1-11.

31-Owen ,RW, Haubner, R., Mier ,W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B. and H.Bartsch . (2003) . Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. Food Chem Toxicol. May,41(5):703-17.

وزارة التخطيط والتعاون الانمائي-الجهاز-29

المركزي للتقيس والسيطرة النوعية

.(2006) الحدود المايكروبية في الاغذية ، المواصفات ا لقياسية رقم3 /2270 - _ الجزء الثالث.