Journal of Agricultural, Environmental and Veterinary Sciences
Volume (5), Issue (4) : 30 Dec 2021
P: 91 - 104

ISSN: 2522-3364

مجلة العلوم الزراعية والبيئية والبيطرية
المجلد (5)، العدد (4) : 30 ديسمبر 2021م
ص: 91 - 104

Study of the effect of treatment with pomegranate peel extract on the microbial load of coated Awassi lambs' meat samples when preserved by freezing

Raeed Ahmad Al-Hamed
Nuha Shehadeh Al-Ali
Fateh Mamdouh Abdel-Halim
Al-Furat University || Syria
Mahmoud Hussein Al-Nasser
General Authority for Biotechnology || Syria

Abstract: In this study, the effect on the microorganism counts and the changes of this microbial load on the meat of Awassi lambs were studied after being packed and stored for 6 months under freezing conditions (-18 C) through treatment with pomegranate peel extract. The research tests were conducted in the laboratories of the Food Science Department at the Faculty of Agricultural Engineering in Deir Ezzor. The results of the microbial load counts showed significant differences in the numbers of intermediate thermophilic anaerobic bacteria between the samples treated with the extract and the control samples during the storage period. Significant differences were also observed in the numbers of E. coli bacteria, and the samples treated with concentration (1.5%) were the least numbered compared to samples treated with other concentrations. The average logarithm of the numbers of E. coli bacteria in the meat of Awassi lambs decreased from (7.74, 7.45, 6.64) in The beginning of the storage period to (3.72, 2.54, 1.21) at the end, when using pomegranate peel extract concentrations (0.5, 1, 1.5%) respectively. The average logarithm of the number of bacteria Pseudomonas according to the concentration of the extract (0.5%, 1%, 1.5%) from (11.07, 11.02, 10.46) at the beginning of the storage period to (7.12, 6.23, 2.98) at the end of the storage period, respectively, as for the control samples. (Other than the treatment with the extract), the number of bacteria increased in an insignificant way.

Keywords: Pomegranate peel extract, Awassi lamb meat, microbial load, Freezing meat storage.

دراسة تأثير المعاملة بمستخلص قشور الرّمان على الحمولة الميكروبية لعينات لحم حملان العواس المغلّفة عند حفظها بالتجميد

رائد احمد الحميد
نها شحاده العلي
فاتح ممدوح عبد الحليم
جامعة الفرات || سوريا
محمود حسين الناصر

الهيئة العامة للتقانة الحيوية || سوريا

المستخلص: تم في هذا البحث دراسة التأثير على تعداد الكائنات الحية الدقيقة وتغيرات هذه الحمولة الميكروبية على لحم حملان العواس بعد تغليفها وتخزينها لمدة 6 أشهر تحت ظروف التجميد (-18م) من خلال المعاملة بمستخلص قشور الرّمان. وقد أجريت اختبارات البحث في مخابر قسم علوم الأغذية في كلية الهندسة الزراعية بدير الزور، إذ أظهرت نتائج اختبارات تعداد الحمولة الميكروبية وجود فروق معنوية في أعداد البكتريا اللاهوائية المحبة للحرارة المتوسطة بين العينات المعاملة بالمستخلص وعينات الشاهد خلال فترة التخزين. كما لوحظ وجود فروق معنوية في أعداد بكتريا E.coli وكانت العينات المعاملة بالتركيز (1.5%) الأقل تعداداً مقارنة بالعينات المعاملة بالتراكيز الأخرى، فقد انخفض متوسط لوغاريتم أعداد بكتريا E.coli في عينات لحم حملان العواس من (7.74، 7.45، 6.64) في بداية فترة التخزين إلى (3.72، 2.54، 1.21) في نهايتها وذلك عند استخدام تراكيز مستخلص قشور الرّمان (0.5، 1، 1.5%) على التوالي. وانخفض متوسط لوغاريتم أعداد البكتريا Pseudomonas وفقاً لتركيز المستخلص (0.5%، 1%، 1.5%) من (11.07، 11.02، 10.46) في بداية فترة التخزين إلى (7.12، 6.23، 2.98) في نهاية فترة التخزين على التوالي، أما بالنسبة لعينات الشاهد (غير المعاملة بالمستخلص) فقد ازدادت فيها أعداد البكتريا بشكل غير معنوي.

الكلمات المفتاحية: مستخلص قشور الرّمان، لحم حملان العواس، الحمولة الميكروبية، تخزين اللحوم بالتجميد.

1- المقدمة.

تحتوي المنتجات الحيوانية ومنها اللحوم على البروتينات كاملة القيمة الغذائية، حيث تحتوي على جميع الأحماض الأمينية الأساسية وبتركيب متوازن، والتي تساهم في بناء الخلايا وتعويض التالف منها كما تحتوي المنتجات الحيوانية على العناصر الغذائية الهامة الأخرى مثل الفيتامينات والأملاح المعدنية وانتاج الطاقة اللازمة لسير العمليات الحيوية في الجسم، حيث تعدّ اللحوم المصدر الأول للبروتين الحيواني سواءً استهلكت مطبوخةً مع الغذاء أو كمنتجات لحم مصنعة، كما تعتبر من أهم المواد الغذائية على مائدة الطعام حيث تكاد لا تخلو وجبة طعام من اللحوم أو منتجاتها التي تستهلك إما طازجة في عمليات الطبخ والشواء مباشرة أو بعد تصنيعها وتحضيرها. كما تعتبر القيمة البيولوجية العالية للبروتينات الحيوانية اضافة لسهولة هضمها وتمثيلها في الجسم والقيمة المرتفعة للنكهة من العوامل المقررة لدور المنتجات الحيوانية في التغذية (Sharma and Chattopadhyay, 2015).

تشكل المنتجات الغذائية الحيوانية وخاصة اللحوم مصدر خطر على صحة المستهلك إذا لم تتخذ الاجراءات والتدابير والاحتياطات اللازمة في التخزين والتداول والاستهلاك نظراً لسرعة تحللها وفسادها وتلوثها بالأحياء الدقيقة الممرضة وسمومها والتي تنتقل إلى الانسان من خلال استهلاكها تحت ظروف معينة (EFSA, 2009) (Mboto et al, 2012). تتجلى مظاهر فساد اللحوم بنمو الأحياء الدقيقة وتراكم نواتج عملياتها الاستقلابية التي قد تظهر على شكل ألوان وروائح غير مرغوبة فضلاً عن تغير ملمس السطح (Del Rio and Panizo, 2007)، وهنالك العديد من الأحياء الدقيقة القادرة على إفساد اللحوم كالبكتريا المحبة للحرارة المتوسطة مثل الإمعائيات Enterobacteriaceae والمكورات Staphylococcus والبكتريا المتعايشة مع البرودة مثل بكتريا Pseudomonas وبكتريا حمض اللبن Lactobacillus فضلاً عن الخمائر والفطريات (Del Rio and Panizo, 2007).

أجريت العديد من البحوث لإيجاد طرائق لزيادة المدة الزمنية الأكثر فعالية عند حفظ اللحوم بطريقة التبريد ومن هذه الطرائق إضافة مواد مساعدة على الحفظ مصنعة كيميائياً أو مستخلصات عشبية أو أحماض عضوية أو زيوت عطرية فضلاً عن اللجوء إلى حفظ اللحوم مغلفة في جو معدّل أو مفرّغ من الهواء (Gulmez and Vatansever, 2006)، ومن الضروري العمل على تقليل الفساد في اللحوم بحفظه بالتبريد أو التخزين بالتجميد (Doulgerakia *et al.*, 2012)، أن استخدام طرائق الحفظ الكيميائية إلى جانب طرائق الحفظ الفيزيائية سيحسّن من استقرار اللحوم ونوعية المنتج ويحافظ على القيمة الغذائية (Al koujah, 2018).

2- مشكلة البحث:

في الآونة الأخيرة، تم تسليط الضوء على إضافة المركبات الطبيعية كمواد حافظة للحوم الحيوانات المعدّة للاستهلاك البشري، بهدف إطالة عمر هذه اللحوم وقدرتها التخزينية من خلال دورها الطبيعي كمضادات أكسدة ومثبطات لنمو الأحياء الدقيقة (Priyanka *et al.*, 2019) (Costa *et al.*, 2015) (Ozen *et al.*, 2012). لذلك فإن هدف البحث هو دراسة التغيرات الميكروبيولوجية التي ستحصل لعينات لحم حملان العواس المغلّفة أثناء التخزين بالتجميد في ظل المعاملة بمستخلص قشور الرّمان.

3- مواد البحث وطرائقه.

1.3- مواد البحث:

تم تنفيذ البحث في مخابر قسم علوم الأغذية في كلية الزراعة بديرالزور– جامعة الفرات. حيث تم الحصول على قشور الرّمان من السوق المحلية بمدينة ديرالزور وبعدها غُسلت جيداً وجُففت في الظل بدرجة حرارة الغرفة العادية، ثم تم طحنها ونقعها في الماء المقطر للحصول على المستخلص المائي البارد وفقاً لطريقة (Farvin *et al.*, 2012) وتحضير التراكيز المطلوبة بعد استخدام المبخّر الدوراني بأخذ أوزان من المادة الصلبة لاختبار تأثيرها حيث استخدم المستخلص المائي لقشور الرّمان من خلال تجهيز التراكيز (0.5 – 1 – 1.5%).

تم شراء عينات اللحم الطازج المأخوذة من منطقة الفخذ لحملان العواس من السوق المحلية لمدينة ديرالزور، وتم تقطيع اللحم بأبعاد تقريبية (2*2*2) سم، ونُقلت العينات إلى المخبر في أكياس معقمة ثم تمت معاملة جزء من العينات بمستخلص قشور الرّمان بالتراكيز (0.5 – 1 – 1.5%). ومن ثم وضعت في أكياس من البولي ايثيلين وحفظت العينات في التجميد بدرجة حرارة (-18 م) وأجريت الاختبارات عليها خلال فترة التخزين لمدة: 30 – 60 – 90 – 120 – 150 - 180 يوم. كما تم حفظ القسم الأخر من العينات كشاهد بدون معاملة بمستخلص قشور الرّمان.

2.3- الاختبارات الميكروبيولوجية:

1.2.3- تحضير العينات:

تم تحضير العينات حسب الطريقة المتبعة من قبل (ISO6887-1, 1999) حيث تم وزن (10 غ) من اللحم بعد تقطيعها إلى قطع صغيرة، ومن ثم تمديدها بإضافة 10 أضعاف وزنها من وسط التمديد Peptone Water (PW)، ومزجت بعدها بشكل جيد وتركت بعد المزج لمدة ربع ساعة لترسب الجزيئات لنحصل بعد ذلك على معلق أول بتركيز (0.1).

2.2.3 - التعداد العام للأحياء الدقيقة الهوائية المحبة للحرارة المتوسطة:

بعد اجراء التخفيفات اللازمة نقل 1 مل من المعلق الثالث (0.001) بواسطة ماصة إلى طبق بتري فارغ ثم تم صب وسط النمو Plate Count Agar (PCA) (وذلك في ثلاثة مكررات) وتركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة حتى يتصلب وسط النمو وبعدها تم تحضين الأطباق بدرجة 37م لمدة 48 ساعة، وتم حساب عدد المستعمرات الميكروبية وتقريب النتيجة إلى أقرب رقمين عشريين بعد الفاصلة والتي عبّرت عن عدد الأحياء الدقيقة في الغرام.

3.2.3 - التعداد العام للأحياء الدقيقة اللاهوائية المحبة للحرارة المتوسطة:

نقل 1 مل من المعلق الثالث (0.001) بواسطة ماصة إلى انبوب يحتوي وسط Thioglycolate Agar بشكل سائل (وذلك في ثلاثة مكررات) وتركت الأنابيب بدرجة حرارة الغرفة ليتصلب وسط النمو بداخلها، وتم تحضين الأنابيب بدرجة 37م لمدة 48 ساعة، وتم حساب عدد المستعمرات الميكروبية الموجودة في الأنابيب ومراقبة تشكل الغاز.

4.2.3 – التعداد العام لبكتيريا Staphylococcus Spp (المكورات العنقودية):

نقل 0.5 مل من المعلق الأول (0.1) إلى طبق بتري حاوي على وسط النمو المتصلب Baird Parker Agar (BP) (وذلك في ثلاثة مكررات)، وتم تحضين الأطباق بشكل مقلوب بدرجة 37م لمدة 48 ساعة. وتم عد المستعمرات النموذجية للمكورات العنقودية الذهبية الموجودة في الطبق والتي تمتاز بأنها دائرية ملساء لامعة ذات قوام دهني قطرها 1.5 – 3 مم لونها رمادي أو أسود يحيط بها غالباً حلقة بيضاء اللون تليها حلقة خارجية شفافة قطرها حوالي 5 مم.

5.2.3 – التعداد العام لبكتيريا Pseudomonas spp:

نقل 0.5 مل من المعلق الأول (0.1) إلى طبق بتري حاوي على وسط النمو المتصلب Cetrimide Agar (CA) (وذلك في ثلاثة مكررات)، وتم تحضين الأطباق بشكل مقلوب بدرجة 37م لمدة 48 ساعة. وتم عد المستعمرات النموذجية في الطبق والتي تمتاز بأنها ذات لون أخضر مصفر.

6.2.3 – التعداد العام لبكتريا E.Coli:

تم الاختبار وفق طريقة (ISO16654, 2001) وذلك بوزن (10 غ) من العينة في دورق زجاجي (عبوة زجاجية) معقمة لها غطاء يمكن إغلاقه بإحكام ويمدد بإضافة 10 أضعاف وزنها من الوسط المغذي (PW)، وتم زرعها في أطباق بتري معقمة، ومن ثم تم صب ويصب وسط النمو (MAcConky Agar) فوقها وتوزيع الكمية المختبرة في الطبق بشكل جيد، ثم تركت الأطباق لتتصلب بدرجة حرارة الغرفة، وتم تحضينها بشكل مقلوب بدرجة 37م لمدة 24 ساعة. وتم عد المستعمرات النموذجية لبكتيريا E.Coli في الطبق والتي تمتاز بأنها كبيرة حمراء اللون ومحاطة بهالة.

7.2.3 – التعداد العام للخمائر والفطور:

تم إجراء هذا الاختبار حسب (AOAC, 1990) باستخدام بيئة (PDA) (Potatos Dextrose Agar) حيث تم نشر 1 مل من كل تخفيف على سطح الأطباق، وتم تحضين الأطباق على درجة 25م لمدة 72 ساعة.

3.3 - التحليل الإحصائي:

تم إجراء التحليل الاحصائي باستخدام التصميم العشوائي الكامل بواقع ثلاثة مكررات لكل اختبار، وإجراء تحليل التباين باستخدام برنامج Genstat لحساب قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى معنوية 0.05.

4- مناقشة النتائج.

1.4- نتائج اختبار تعداد البكتريا الهوائية في عينات اللحم:

تشير النتائج في الجدول (1) إلى انخفاض في أعداد البكتريا الهوائية بالنسبة لعينات لحم الحملان المغلّفة المعاملة بمستخلص قشور الرّمان في نهاية فترة التخزين مقارنة ببداية هذه الفترة، ويلاحظ أن العينات المعاملة بمستخلص قشور الرّمان بتركيز 1.5% كانت الأكثر انخفاضاً في لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا الهوائية مقارنة بالعينات المعاملة بتراكيز أقل فقد انخفض لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا وفقاً لتركيز المستخلص (0.5%، 1%، 1.5%) من (13.26، 12.35، 11.51) في بداية فترة التخزين إلى (7.82، 7.07، 5.59) في نهاية فترة التخزين على التوالي. أما بالنسبة لعينة الشاهد (غير المعاملة بالمستخلص) فقد انخفض فيها لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا الهوائية من (17.22) في بداية فترة التخزين إلى (13.94) في نهاية فترة التخزين. أن الانخفاض الحاصل في أعداد البكتريا الهوائية يعود إلى تأثير مستخلص قشور الرّمان المضاد للميكروبات كما أن هذا التأثير يزداد بزيادة تركيز المستخلص وهذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه (Berizi *et al.*, 2016) في دراستهم حول معاملة لحوم الأسماك المجمدة بمستخلص قشور الرّمان حيث أظهرت نتائجهم انخفاض أعداد البكتريا المحبة للحرارة المتوسطة بزيادة تركيز المستخلص وكذلك دراسة (Sharma and Yadav, 2020). ويعزى سبب التأثير التثبيطي العالي الذي أظهره مستخلص قشور الرّمان في نمو الأنواع الجرثومية إلى طبيعة المادة الفعّالة وهي التانينيات وقوة تأثيرها وعلاقتها بجدار الخلية الجرثومية، وقد يعزى تأثير التانينات والتي تعتبر من المواد القاتلة للأحياء المجهرية وتتواجد بمحتوى عالي في قشور الرّمان إلى تكوين أواصر هيدروجينية مع البروتينات مما يحول دون بنائها (سليمان، 2011) و(Nychas, 1995).

وقد وجد (Alam Khan and Hanee, 2011) أن المركبات النشطة بيولوجياً من مستخلص قشور الرمان P. granatum (الفينولات، التانين، الفلافونويد، والأنثوسيانين) لها نشاط مضاد للجراثيم ضد (Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, and Staphylococcus aureus). وأكد (Shoko *et al.*, 1999) أن الفينولات كانت أهم المركبات المضادة للبكتيريا، ومن بينها تم تحديد حمض الغاليك باعتباره المركب الأكثر نشاطًا لتثبيط البكتيريا التي تم اختبارها. وقد يكون دور الفينولات في تثبط نمو الميكروبات في العينات من خلال ارتباط البروتين أو تثبيط الإنزيم (Kumar and Singh, 1984; Kumar and Vaithiyanathan, 1990). هذه النتائج تم تأكيدها في دراسات مماثلة بخصوص فطائر اللحم المعاملة بمستخلص قشور الرمان (Hasmik *et al.*, 2012). كما أشار (Fan *et al.*, 2008) إلى أن الغمس في الفينولات المستخلصة من نبات الشاي (الفينول الكلي 0.2 ٪) المصحوب بالتجميد يؤخر تلف الكارب الفضي. وكذلك تثبيط نمو الميكروبات في شرائح لحم الجاموس المغموسة في زيت القرنفل الذي يحتوي على الفينولات ومشتقاتها (Naveena *et al.*, 2006).

جدول (1) لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا الهوائية في عينات لحم الحملان (خلية في 1 غ لحم)

المعاملات المدروسة		فترة التّخزين (T) / يوم							
		0	30	60	90	120	150	180	المتوسط
تركيز المستخلص (C)	0.5	13.26	11.56	10.90	10.05	9.37	8.54	7.82	10.21^{b}
	1	12.35	11.11	10.11	9.41	8.58	7.72	7.07	9.48^{c}
	1.5	11.51	9.30	8.55	7.79	6.90	6.06	5.59	7.96^{d}
	الشاهد	17.22	16.37	16.15	15.64	15.32	14.86	13.94	15.64^{a}
	المتوسط	13.59^{a}	12.08^{b}	11.43^{bc}	10.73^{cd}	10.04^{de}	9.29^{ef}	8.60^{f}	

المعاملات المدروسة	فترة التّخزين (T) / يوم							
	0	30	60	90	120	150	180	المتوسط
$L.S.D_{0.05}$	$L.S.D_{(T)\ 0.05}$=0.859, $L.S.D_{(C)\ 0.05}$=0.649, $L.S.D_{(T*C)\ 0.05}$=1.718							

الأحرف المتشابهة ضمن الصفوف والأعمدة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين القيم، الأحرف المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين القيم

2.4 – نتائج اختبار تعداد البكتريا اللاهوائية في عينات اللحم:

تشير النتائج إلى انخفاض في أعداد البكتريا اللاهوائية بالنسبة لعينات لحم الحملان المغلّفة المعاملة بمستخلص قشور الرّمان في بداية فترة التخزين مقارنة بعينات الشاهد غير المعاملة بالمستخلص، ويلاحظ أن العينات المعاملة بمستخلص قشور الرّمان بتركيز 1.5% كانت الأكثر انخفاضاً في لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا اللاهوائية مقارنة بالعينات المعاملة بتراكيز أقل، ومع مرور زمن التخزين ازداد لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا اللاهوائية في العينات وفقاً لتركيز المستخلص (0.5%، 1%، 1.5%) من (10.53، 8.88، 8.18) في بداية فترة التخزين إلى (15.21، 12.10، 10.55) في نهاية فترة التخزين على التوالي. أما بالنسبة لعينة الشاهد (غير المعاملة بالمستخلص) فقد ازداد فيها لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا اللاهوائية من (11.35) في بداية فترة التخزين إلى (21.23) في نهاية فترة التخزين (الجدول 2). وتتوافق هذه النتائج مع أبحاث (Agourram et al., 2013) و (Al-Zoreky, 2009) و(Kanatt et al., 2010) الذين لاحظوا الدور المثبط الذي تلعبه قشور الرّمان ضد البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام. كما تلعب عملية التغليف دوراً في زيادة أعداد البكتريا اللاهوائية في عينة الشاهد من خلال توفير الظروف اللاهوائية اللازمة لنمو البكتريا.

جدول (2) لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا اللاهوائية في عينات لحم الحملان (خلية في 1 غ لحم)

المعاملات المدروسة		فترة التّخزين (T) / يوم							
		0	30	60	90	120	150	180	المتوسط
تركيز المستخلص (C)	0.5	13.45^{c-g}	13.36^{c-h}	$^{c-}513.3_{h}$	13.11^{d-i}	12.21^{d-}_{k}	11.62^{e-}_{k}	11.30^{h-}_{k}	12.62^{b}
	1	12.96^{d-i}	$^{d-k}212.2$	11.85^{d-}_{k}	11.41^{g-k}	$^{h-}2911._{k}$	11.10^{ijk}	10.77^{k}	11.65^{c}
	1.5	12.96^{d-i}	11.63^{e-k}	11.50^{f-}_{k}	11.40^{g-k}	11.39^{g-k}	10.89^{jk}	10.37^{k}	11.45^{c}
	الشاهد	13.56^{c-f}	13.85^{cd}	15.20^{bc}	16.00^{ab}	16.09^{ab}	18.02^{a}	17.05^{ab}	15.68^{a}
	المتوسط	13.23	12.76	12.97	12.98	12.74	12.66	12.61	
$L.S.D_{0.05}$		$L.S.D_{(T)\ 0.05}$=1.038, $L.S.D_{(C)\ 0.05}$=0.784, $L.S.D_{(T*C)\ 0.05}$=2.075							

الأحرف المتشابهة ضمن الصفوف والأعمدة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين القيم، الأحرف المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين القيم

3.4 - نتائج اختبار تعداد البكتريا E.coli في عينات اللحم:

يلاحظ من النتائج في الجدول (3) وجود انخفاض في أعداد بكتريا E.coli بالنسبة لعينات لحم الحملان المغلّفة المعاملة بمستخلص قشور الرّمان في نهاية فترة التخزين مقارنة بعددها في بداية فترة التخزين، ويلاحظ أن العينات المعاملة بمستخلص قشور الرّمان بتركيز 1.5% كانت الأكثر انخفاضاً في أعداد بكتريا E.coli مقارنة بالعينات المعاملة بتراكيز أقل فقد انخفض لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا وفقاً لتركيز المستخلص (0.5%، 1%، 1.5%) من (7.74، 7.45، 6.64) في بداية فترة التخزين إلى (3.72، 2.54، 1.21) في نهاية فترة التخزين على التوالي. أما بالنسبة لعينة الشاهد (غير المعاملة بالمستخلص) فقد ازداد فيها لوغاريتم متوسط أعداد بكتريا E.coli من (7.79) في بداية فترة التخزين إلى (9.20) في نهاية فترة التخزين. هذه النتائج تتوافق مع ما توصل إليه (El-Nashi *et al.*, 2015; Agourram *et al.*, 2013; Al-Zoreky, 2009; Kanatt *et al.*, 2010 و(محمد، 2016).

جدول(3) لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا E.coli في عينات لحم الحملان (خلية في 1 غ لحم)

المعاملات المدروسة		فترة التّخزين (T) / يوم							
		0	30	60	90	120	150	180	المتوسط
تركيز المستخلص (C)	0.5	7.74^{a-d}	7.62^{a-e}	7.06^{a-f}	6.07^{c-h}	5.59^{d-i}	4.57^{g-j}	3.72^{hij}	6.05^{b}
	1	7.45^{a-e}	6.76^{b-g}	6.64^{b-g}	5.30^{e-i}	5.06^{f-i}	3.41^{ijk}	2.54^{jk}	5.30^{c}
	1.5	6.64^{b-g}	6.63^{b-g}	5.05^{f-i}	3.43^{ijk}	1.36^{kl}	1.34^{kl}	1.21^{kl}	3.66^{d}
	الشاهد	7.79^{a-d}	7.84^{a-d}	7.91^{a-d}	8.09^{abc}	8.70^{ab}	8.89^{ab}	9.20^{a}	8.34^{a}
	المتوسط	7.41^{a}	7.21^{a}	6.66^{ab}	5.72^{bc}	5.17^{cd}	4.55^{de}	4.17^{e}	
$L.S.D_{0.05}$		$L.S.D_{(T)\ 0.05}=1.178$, $L.S.D_{(C)\ 0.05}=0.891$, $L.S.D_{(T*C)\ 0.05}=2.357$							

الأحرف المتشابهة ضمن الصفوف والأعمدة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين القيم، الأحرف المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين القيم

4.4- نتائج اختبار تعداد البكتريا Staphylococcus في عينات اللحم:

يلاحظ من النتائج وجود انخفاض في أعداد البكتريا Staphylococcus بالنسبة لعينات لحم الحملان المغلّفة المعاملة بمستخلص قشور الرّمان في نهاية فترة التخزين مقارنة بتعدادها في بداية فترة التخزين، ويلاحظ أن العينات المعاملة بمستخلص قشور الرّمان بتركيز 1.5% كانت الأكثر انخفاضاً في لوغاريتم متوسط أعداد بكتريا Staphylococcus مقارنة بالعينات المعاملة بتراكيز أقل فقد انخفض لوغاريتم متوسط الأعداد وفقاً لتركيز المستخلص (0.5%، 1%، 1.5%) من (9.24، 7.79، 6.19) في بداية فترة التخزين إلى (0.00) في نهاية فترة التخزين على التوالي. أما بالنسبة لعينة الشاهد (غير المعاملة بالمستخلص) فقد انخفض فيها لوغاريتم متوسط أعداد بكتريا Staphylococcus من (11.64) في بداية فترة التخزين إلى (8.84) في نهاية فترة التخزين (الجدول 4). هذه النتائج تتوافق مع نتائج (محمد، 2016). وقد بينت النتائج التي حصل عليها (الهمالي وآخرون، 2016) أن كل السلالات المختبرة في دراستهم كانت شديدة الحساسية لمسحوق قشور الرّمان بالرغم من التفاوت البسيط في حساسية البكتيريا الموجبة عن السالبة حيث أن البكتيريا السالبة الغرام مثل (E.coli) و(Pseudomonas)، كانت أكثر مقاومة من الموجبة الغرام (Staphylococcus) الأمر الذي قد يكون بسبب الاختلافات في تركيب الجدار الخلوي بين المجموعتين وأن المادة الفاعلة في المسحوق تعمل على الجدار الخلوي للبكتيريا (البيبتيدوجلايكان). كما أن اختفاء بكتريا (Staphylococcus) ربما يعزى إلى حساسيتها تجاه الأحماض الموجودة في قشور الرّمان (Chung and Goepfert, 2002).

جدول (4) لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا Staphylococcus في عينات لحم الحملان (خلية في 1 غ لحم)

المعاملات المدروسة		فترة التّخزين (T) / يوم							
		0	30	60	90	120	150	180	المتوسط
تركيز المستخلص (C)	0.5	9.24^{cde}	7.47^{fg}	5.96^{hi}	4.35^{jk}	4.00^{kl}	0.00^{n}	0.00^{n}	4.43^{b}
	1	7.79^{ef}	5.81^{hij}	4.54^{ijk}	4.25^{kl}	2.80^{lm}	0.00^{n}	0.00^{n}	3.60^{c}
	1.5	6.19^{gh}	4.37^{jk}	4.11^{kl}	1.93^{m}	0.00^{n}	0.00^{n}	0.00^{n}	2.37^{d}
	الشاهد	11.64^{a}	10.71^{ab}	10.48^{abc}	9.85^{bcd}	9.30^{bcd}	9.10^{cde}	8.84^{def}	9.99^{a}
	المتوسط	8.71^{a}	7.09^{b}	6.27^{c}	5.10^{d}	4.02^{e}	2.27^{f}	2.21^{f}	
$L.S.D_{0.05}$		$L.S.D_{(T)\,0.05}=0.730$, $L.S.D_{(C)\,0.05}=0.552$, $L.S.D_{(T*C)\,0.05}=1.461$							

الأحرف المتشابهة ضمن الصفوف والأعمدة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين القيم، الأحرف المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين القيم

5.4- نتائج اختبار تعداد الفطور والخمائر في عينات اللحم:

تشير النتائج في الجدول (5) إلى انخفاض في أعداد الفطور والخمائر بالنسبة لعينات لحم الحملان المغلّفة المعاملة بمستخلص قشور الرّمان في نهاية فترة التخزين مقارنة ببداية فترة التخزين، ويلاحظ أن العينات المعاملة بمستخلص قشور الرّمان بتركيز 1.5% كانت الأكثر انخفاضاً في لوغاريتم متوسط أعداد الفطور والخمائر مقارنة بالعينات المعاملة بتراكيز أقل فقد انخفض لوغاريتم متوسط الأعداد وفقاً لتركيز المستخلص (0.5%، 1%، 1.5%) من (13.41، 9.25، 7.81) في بداية فترة التخزين إلى (5.99، 4.94، 3.17) في نهاية فترة التخزين على التوالي. أما بالنسبة لعينة الشاهد (غير المعاملة بالمستخلص) فقد انخفض فيها لوغاريتم متوسط أعداد الفطور والخمائر من (14.76) في بداية فترة التخزين إلى (11.34) في نهاية فترة التخزين. وهذه النتائج تتوافق مع نتائج (El-Nashi *et al.*, 2015; Agourram *et al.*, 2013; Al-Zoreky, 2009; Kanatt *et al.*, 2010) كما أن المستخلص المائي لقشور الرّمان يحتوي على التانينات والقلويدات والفلافونات والفينولات والراتنجات والصابونيات ذات الكفاءة العالية في تثبيط الفطريات (علي ومجيد، 2010).

جدول (5) لوغاريتم متوسط أعداد الفطور والخمائر في عينات لحم الحملان (خلية في 1 غ لحم)

المعاملات المدروسة		فترة التّخزين (T) / يوم							
		0	30	60	90	120	150	180	المتوسط
تركيز المستخلص (C)	0.5	13.41	10.86	9.03	8.27	7.63	6.78	5.99	8.85^{b}
	1	9.25	9.16	8.53	7.23	6.88	5.75	4.94	7.39^{c}
	1.5	7.81	6.68	6.45	5.92	5.19	4.01	3.17	5.60^{d}
	الشاهد	14.76	11.68	11.67	11.66	11.60	11.44	11.34	12.02^{a}
	المتوسط	11.30^{a}	9.59^{b}	8.92^{bc}	8.27^{cd}	7.82^{de}	6.99^{ef}	6.36^{f}	
$L.S.D_{0.05}$		$L.S.D_{(T)\,0.05}=0.$, $L.S.D_{(T*C)\,0.05}=1.937968$, $L.S.D_{(C)\,0.05}=0.732$,							

الأحرف المتشابهة ضمن الصفوف والأعمدة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين القيم، الأحرف المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين القيم

6.4- نتائج اختبار تعداد البكتريا Pseudomonas في عينات اللحم:

تشير النتائج في الجدول (6) إلى انخفاض في أعداد البكتريا Pseudomonas بالنسبة لعينات لحم الحملان المغلّفة المعاملة بمستخلص قشور الرّمان في نهاية فترة التخزين مقارنة ببدايتها، ويلاحظ أن العينات المعاملة بمستخلص قشور الرّمان بتركيز 1.5% كانت الأكثر انخفاضاً في لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا Pseudomonas مقارنة بالعينات المعاملة بتراكيز أقل فقد انخفض لوغاريتم متوسط الأعداد وفقاً لتركيز المستخلص (0.5%، 1%، 1.5%) من (11.07، 11.02، 10.46) في بداية فترة التخزين إلى (7.12، 6.23، 2.98) في نهاية فترة التخزين على التوالي. أما بالنسبة لعينة الشاهد (غير المعاملة بالمستخلص) فقد ازداد فيها لوغاريتم متوسط أعداد بكتريا Pseudomonas بشكل غير معنوي من (11.14) في بداية فترة التخزين إلى (12.60) في نهاية فترة التخزين. هذه النتائج تتوافق مع نتائج (El-Nashi *et al.*, 2015; Agourram *et al.*, 2013; Al-Zoreky, 2009; Kanatt *et al.*, 2010) و(محمد، 2016) (Sharma and Yadav, 2020).

جدول (6) لوغاريتم متوسط أعداد البكتريا Pseudomonas في عينات لحم الحملان (خلية في 1 غ لحم)

المعاملات المدروسة		فترة التّخزين (T) / يوم							
		0	30	60	90	120	150	180	المتوسط
تركيز المستخلص (C)	0.5	11.07^{ab}	10.85^{ab}	10.04^{abc}	9.47^{a-d}	8.99^{a-d}	7.97^{b-e}	7.12^{cde}	9.36^{b}
	1	11.02^{ab}	10.16^{abc}	10.04^{abc}	9.08^{a-d}	8.46^{bcd}	7.94^{b-e}	6.23^{def}	8.99^{b}
	1.5	10.46^{abc}	9.97^{abc}	9.29^{a-d}	6.21^{def}	4.42^{ef}	3.43^{f}	2.98^{f}	6.68^{c}
	الشاهد	11.14^{ab}	11.24^{ab}	11.31^{ab}	11.49^{ab}	12.11^{a}	12.29^{a}	12.60^{a}	11.74^{a}
	المتوسط	10.92^{a}	10.55^{a}	10.17^{a}	9.06^{ab}	8.49^{bc}	7.91^{bc}	7.23^{c}	
$L.S.D_{0.05}$		$L.S.D_{(T)\ 0.05}=1.821$, $L.S.D_{(C)\ 0.05}=1.377$, $L.S.D_{(T*C)\ 0.05}=3.643$							

الأحرف المتشابهة ضمن الصفوف والأعمدة تشير إلى عدم وجود فروق معنوية بين القيم، الأحرف المختلفة تشير إلى وجود فروق معنوية بين القيم

يعود السبب في تأثير مستخلص قشور الرّمان إلى احتوائها على المواد العفصية والتانينات والفينولات والفلافونيدات وهذه مواد مثبطة لنمو الجراثيم وهذا ما ذكره (جبر، 2006) وكما أشار إليه (العباسي وآخرون، 2010) و(العباسي، 2013). وأورد كل من (Ghazouli, *et al.*, 1999) و(الدليمي والعباسي، 2013) و (Sumner, *et al.*, 2004) و(Scalbert, 1991) على أن المواد العفصية تؤثر على طبيعة الغشاء البلازمي للجراثيم وتغير خواصه البيولوجية مؤدية في النهاية إلى موت البكتيريا. وذكر (أكبر وآخرون، 2011) و(النعيمي وآخرون، 2008) و (Gill *et al.*, 2000) أن الفينولات تقوم بإعاقة قوة البروتون (Proton motive force) مسببة بذلك تسرب المكونات داخل الخلايا وتثبيط عمل الانزيمات ونقل الالكترون وإعاقة عملية الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation وتحلط المواد السيتوبلازمية في البكتريا مما يؤدي إلى قتل البكتيريا.

وذكر (النعيمي وآخرون، 2008) أيضا أن الفينولات تثبط الانزيمات المسؤولة عن التفاعلات الأيضية الأساسية في البكتيريا وذلك بتداخلها غير المتخصص مع البروتينات مما يؤدي إلى مسخ البروتين (Proten denaturation) ومن ثم عدم قدرة البكتيريا على الاستمرار بالحياة وذكر (النعمان، 1998) و(Scalbert, 1991) أن التانينات الموجودة في قشور الرّمان لها القدرة على تثبيط عمل البكتيريا والفيروسات لقدرتها على تحفيز الخلايا البلعمية (Phagocytic cells) ولها الفعالية في تحطيم البروتينات والتراكيب الأخرى المتواجدة على جدار الخلية البكتيرية التي تستخدمها البكتيريا للالتصاق. وكذلك تحتوي قشور الرّمان على مواد قاتلة للجراثيم مثل tannic acid

، pelletierine، N-methylisopelletierine، pseudopelleticri isopelletierine وethylpelleticrin (Hussein *et al.*, 1997) و(Mahmoud *et al.*, 1994) وهذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه دراسات سابقة (سليمان، 2001) و(عباس، 2011) و(Beveridge and Matias, 2006) ويُعزى التفاوت في نسبة التأثير إلى طبيعة تكوين الجراثيم المختلفة إضافة إلى الاختلاف في مقاومتها للمستخلص المستخدم.

الاستنتاجات.

يمكن تلخيص الاستنتاجات من هذه الدراسة بما يلي:

- انخفاض التعداد الكلي للوغاريتم متوسطات أعداد البكتريا الهوائية واللاهوائية عند المعاملة بمستخلص قشور الرّمان بشكل طردي مع زيادة تركيز المستخلص.
- انخفاض التعداد الكلي للبكتريا الهوائية في العينات المعاملة بسبب عدم وجود الهواء خلال فترة الحفظ.
- اختفت بكتريا Staphylococcus، كما تناقصت أعداد الفطور والخمائر بسبب غياب الهواء اللازم لنموها.

التوصيات والمقترحات.

بناءً على النتائج التي تم التوصل إليها؛ يوصي الباحثون ويقترحون ما يلي:

- الاستفادة من قشور الرّمان في المجالات الغذائية بسبب امتلاكها خواص مضادة للميكروبات.
- نوصي بتطبيق عملية الحفظ المركبة من خلال المعاملة بالمستخلصات الطبيعية والتغليف والتجميد في عمليات تخزين لحم حملان العواس.

قائمة المراجع.

أولاً- المراجع بالعربية:

- أكبر، منال محمد؛ المنصور، ناصر؛ حاتم، علاء ناظم. (2011). تأثير بعض المستخلصات النباتية المائية والمساحيق الجافة في بعض الجوانب الحياتية لحشرة الذبابة المنزلية. مجلة ابحاث البصرة، 6 (37) :65-77.
- جبر، ريم محمود. (2006). علم النباتات والعقاقير الطبية. الجزء الأول. مكتبة المجتمع العربي للنشر والتوزيع. عمان. المملكة الاردنية الهاشمية. ص32.
- الدليمي، ضياء حسين؛ والعباسي، حسن هادي. (2013). تأثير استخدام قشور البلوط في علاج التهاب الرحم والمهبل الجرثومي في سلالات وأعمار مختلفة من الابقار العراقية. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية، 5 (2) :149 - 161.
- سليمان، خضر داؤد. (2011). الدراسة البايولوجية لقشور ثمار الرّمان ومكوناتها الفعالة لبعض أنواع الجراثيم المعزولة من حالات الاسهال في مدينة الموصل. مجلة التربية والعلم – المجلد (24)، العدد (2)، صفحة 72 – 84.
- سليمان، صبا مؤيد. (2001). التأثير التثبيطي لعدد من النباتات الطبية وبعض مكوناتها الفعالة في بعض أنماط السالمونيلا المعزولة من المرضى المصابين بالإسهال. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.
- عباس، ميسون صباح. (2011). دراسة حساسية بعض البكتيريا المرضية للمضادات الحيوية والمستخلصات النباتية. مجلة الانبار للعلوم البيطرية. (2):7-14.

- العباسي، حسن هادي؛ زيني، زيد عماد؛ فتحي، طارق صلاح. (2010). تأثير مستويات مختلفة من مستخلص جذور نبات العاقول في علاج المرضى المصابون برمل وحصى الكلى. مجلة القادسية للعلوم الصرفة، (2):139-148.
- العباسي، حسن هادي. (2013). دراسة استخدام تراكيز مختلفة لمستخلص قشور البلوط مع الشب لعلاج حالات التهاب بطانة الرحم والمهبل في الابقار. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة القادسية، جمهورية العراق.
- علي، أمنة محمد؛ مجيد، شهباء حميد. (2010). التأثير المثبط لمستخلص قشور الرّمان Punica granatunm L. تجاه بعض الأعفان. مجلة كلية التربية الأساسية، عدد(63)، قسم العلوم، جامعة المستنصرية.
- كركوبي، محمد. (2016). دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص المائي والايثانولي لقشور الرّمان الحلو والحامض. أطروحة ماجستير، كلية العلوم الدقيقة، جامعة الشهيد حمّه لخضر بالوادي، الجزائر.
- النعمان، أديبة يونس شريف. (1998). التأثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة غرام، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم. جامعة الموصل، العراق.
- النعيمي، حنان عدنان؛ الثويني، آمنة؛ والطحان، فريد. (2008). تقييم فعالية المستخلصين المائي والكحولي لأوراق اليوكالبتوس Eucalyptus camaldulensis في تثبيط نمو البكتيريا المرضية الموجبة لصبغة غرام المعزولة من مرضى مصابون بالتهاب البلعوم واللوزتين. المجلة العراقية للعلوم الصرفة، 49 (2): 82- 89.
- الهمالي، سعاد علي؛ علي، أمال قودان؛ أبو خريص، عمر محمد؛ هواد، علي فرج؛ مختار، إبراهيم السنوسي. (2016). تأثير مستخلصات قشور الرّمان المجففة على نمو بعض أصناف البكتيريا السالبة والموجبة الغرام. مجلة جامعة سبها (العلوم البحتة والتطبيقية) المجلد الخامس عشر العدد الأول. صفحة 9 – 19.

ثانياً- المراجع بالإنجليزية:

- Agourram, A., Ghirardello, D., Rantsiou, K., Zeppa, G., Belviso, S., Romane, A. (2013). Phenolic content, antioxidant potential and antimicrobial activities of fruit and vegetable by-product extracts. Int. J. Food Prop. 16, 1092–1104.
- Al koujah, KH. (2018). Role of Pseudomonas Bacteria in the Spoilage of White Meat and The Effect of Some Methods of Meat Preservation on it. Doctorate Degree, Faculty of Veterinary Medicine, Hama University, Syria.
- Alam khan, J., and Hanee, S. (2011). Antibacterial properties of Punica granatum peels. Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol. 2:23–27.
- Al-zoreky, N. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels. Int. J. Food Microbiol. 134 (3), 244–248.
- AOAC. (1990). Official methods of analysis (15th ed). Washington DC: Association of Official chemists.
- Berizi, E., Shekarforoush, S.S., and Hosseinzadeh, S. (2016). Effects of Methanolic Pomegranate Peel Extract on the Chemical, Sensory, Textural, and Microbiological Properties of Gutted Rainbow Trout

(Oncorhynchus mykiss) during Frozen Storage. Journal of Food Protection, Vol. 79, No. 10, Pages 1700–1706.

- Beveridge, T. J., and Matias, V. R. (2006). Ultrastructure of Gram-positive cell wall, (In C.F. V. A.Fischetti, R. P. Novick, J. J. Ferretti, D.A. portnoy, and J. I. Rood (eds.), Gram-positive pathogens second ed ASM Press, Washington,DC, p.3-5).
- Chung, K.C., and Goepfert, J.M. (2002). Immediate and delayed microbiological effects of lactic acid decontamination of calf carcasses influence on conventionally boned versus hot boned and vacuum packaged cuts. J. Food Prot. 48:838-847.
- Costa, D.C., Costa, H.S., Albuquerque, T.G., Ramos, F., Castilho, M.C. (2015). Sanches-Silva, A. Advances in Phenolic Compounds Analysis Of Aromatic Plants And Their Potential Applications. Trends Food Sci. Technol., 45, 336–354.
- Del rio, E., and Panizo-moran, M. (2007). Effect of Various Chemical Decontamination Treatments on Natural Microflora and Sensory Characteristics of Poultry. Intern. J. Food Microbio. 115: 286-280.
- Doulgerakia. A. I., Ercolini, D., Villanib, F., and Nychasa, G. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. Volume 157(2): 130–141.
- El-nashi, H.B., Abdel fattah, A.A., Abdel rahman, N.R., Abdel razik, M.M. (2015). Quality characteristics of beef sausage containing pomegranate peels during refrigerated storage. Annals of Agricultural Science: 60 (2), 403–412.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2009). The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance.
- Fan, W., Chi, Y., and Zhang, S. (2008). The uses of a tea polyphenol dip to extend the shelf life of silver carp (Hypophthalmicthys molitrix) during storage in ice. Food Chem. 108:148–153.
- Farvin, S., Grejsen, H. D., and Jacobsen, C. (2012). Potato peel extract as a natural antioxidant in chilled storage of minced horse mackerel (Trachurus trachurus): Effect on lipid and protein oxidation. Food Chemistry, 131: 843-851.
- Ghazouli, K., Kheunouf, S., and Amira, S. (1999). Effect of aqueous extracts from Quercus ilex L. root bark, punica granatum L. fruit peel and Artemisia herba - alba leaves on ethanol induced gastric damage in rats. Phytother.Res,13: 42-45.
- Gil, M. I., Tomas–barberan, F.A., Hess– Pierce B., Holcrofi, D. M., and Kader, A.A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its elation ship with phenolic composition and processing. J.Agric Food Chem, 48:4581-4589.
- Gulmez, M., and Vatansever, L. (2006). The Effect of Water Extract of Sumac (Rhus Coriaria L.) and Lactic Acid on Decontamination and Shelf Life of Raw Broiler Wings. Poultry Science.85: 1466 – 1471.

- Hasmik, H., Wilma, C. H., and Rijkelt, R. B. (2012). Inhibition of Listeria monocytogenes by pomegranate (Punica granatum) peel extract in meat pate at different temperatures. ´ Food Control 23:66–72.
- Hussein, S.A.M., Barakat, H.H., Merfort, I., and Nawwar, M.A.M. (1997). Tannins from the leaves of Punica granatum phytochemistry, 45:819-823
- ISO16654. (2001). Microboilogy of food and animal feeding stuffs-Horizonatal method for the detection of Escherichia coli.
- ISO6887-1. (1999). General guidelines for the dilution of the special solution used in microbiological tests.
- Kanatt, S.R., Chander, R., Sharma, A. (2010). Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products. Int. J. Food Sci. Technol. 45, 216–222.
- Kumar, R., and Singh, M. (1984). Tannins, their adverse role in ruminant nutrition. J. Agric. Food Chem. 32:447-453.
- Kumar, R., and Vaithiyanathan, S. (1990). Occurrence, nutritional significance and effect on animal productivity of tannins in tree leaves. Anim. Feed Sci. Technol. 30:21-38.
- Mahmoud, A., Nawwar, M., Sahar, A., Hussein, M., and Merfort. I. (1994). NMR spectral analysis of polyphenols from Punica granatum. Phytochemistry, 36: 793-798.
- Mboto, C.I., Agbo B. E., Ikpoh, I.S., Agbor, R.B., Udoh, D.I., Ambo, E. E., and Ekim, M.A. (2012). Bacteriological study of raw meat of Calabar Abattoir with public health and veterinary importance. J. Microbiol. Biotech. Res., 2(4): 529-532.
- Naveena, B. M., Muthukumar, M., Sen, A. R., Babji, Y., and Murthy, T. R. K. (2006). Improvement of shelf-life of buffalo meat using lactic acid, clove oil and vitamin C during retail display. Meat Sci. 74:409– 415.
- Nychas, G. J. E. (1995). Natural antimicrobial form plants. In: Gould, G. W. New Methods of Food preservation. Academic and professional., London, PP.58-89.
- Ozen, AE., Pons, A., Tur, JA. (2012). Worldwide Consumption of Functional Foods: A Systematic Review. Nutr Rev; 70:472-81.
- Priyanka, J., Packiyalakshmi, R., Padmapriya, P., Pavithra, M K S. (2019). Phytochemical and Anti-microbial Analysis of Punica granatum Peel and Rind extract. International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering (IJITEE) ISSN: 2278-3075, Volume-8 Issue-3.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. Chemistry. 30 :3875-3883.
- Sharma, K. P., and Chattopadhyay, U.K. (2015). Isolation and Identification of Cryptosporidium Spp. From Raw Meat Samples Sold in Open Markets of the City of Kolkata. Journal of Agriculture and Veterinary Science; 8(2):16-19.

- Sharma, P., and Yadav, S. (2020). Effect of Incorporation of Pomegranate Peel and Bagasse Powder and Their Extracts on Quality Characteristics of Chicken Meat Patties. Food Sci. Anim. Resour.40(3):388-400.
- Shoko, T., Soichi, T., Megumi, M. M., Eri, F., Jun, K., and Michiko, W. (1999). Isolation and identification of an antibacterial compound from grape and its application to foods. Nippon Nogeikagaku Kaishi 73:125–128.
- Vanisree, M., Lee, C.Y., Lo, S.F., Nalawade, S.M., Lin C., and Tsay. H.S. (2004). Studies on the production of some important secondary metabolites from medicinal plants by plant tissue culture. Bot. Bull. Acad. Sin, 45:1-22.