تأثير اضافة المستخلص الايثانولي للبان الذكر *Boswellia Carterii* في اطالة مدة حفظ لحم الغنم المفروم

علياء سعد الحافظ
جامعة بغداد - كلية التربية للبنات – قسم الاقتصاد المنزلي

الخلاصة
تهدف هذه الدراسة معرفة تأثير استخدام المستخلص الكحولي الايثانولي لنبات اللبان الذكر في اطالة مدة حفظ لحم الغنم المثروم في درجة حرارة الثلاجة ٤مْ لمد ٦ ايام ، أذ تم خلط لحم الغنم المفروم بتركيز ١٥٠ و ٣٠٠ و ٤٥٠ ملغم/مل من المستخلص الكحولي على التوالي ، واعتبرت 0 (عينة سيطرة) للمقارنة طوال مدة الحفظ ، وخزنت جميع المعاملات على انفراد لمدة 0 و 3 و 6 أيام في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ وأجري عليها بعض الاختبارات الميكروبيه، وقد أظهرت النتائج ان خلط لحم الغنم المفروم بمستخلص اللبان الذكر ادى الى اطالة حفظ اللحم لمدة 6 أيام على درجة حرارة 4 مْ، واعطت افضل نتيجة عند استخدام المستخلص الكحولي للبان بتركيز ٤٥٠ملغم/مل والتي تساوي ٠،٩ غم حيث انخفضت اعداد الاحياء المجهرية بصورة ملحوضة اكثر من التراكيز الاخرى المستخدمة ١٥٠ و٣٠٠ ملغم/مل على التوالي، وقد كانت جميعها مطابقة للمواصفة القياسية العراقية من حيث الاستهلاك البشري .
الكلمات المفتاحية : اللبان الذكر، النباتات الطبية، المستخلص الكحولي .

Effect of the activity of Boswellia Carterii extracts on preservation of ground meat

Alyaa Saad Al-Hafud
University of Baghdad - College of Education for Women - Home Economics Dept.

Abstract
The study aimed to know the effect of the use alcoholic ethanol extraction of *Boswellia Carterii* In prolonging the period of preservation cooled ground meat in 4C for 6 days, it has been mixing ground meat with 150,300,450 mg/ml of alcoholic extract Consecutive, Where (0 was the control sample), All samples were stored separately for 0 , 3 , 6 days in Refrigerator temperature 4ْC, Conducted by some microbial tests, Results have shown that mixing the ground meat with *Boswellia Carterii* extraction Led to prolong the storage of meat for 6 days at 4ْC .and the Best result came when adding alcoholic ethanol extract of *Boswellia Carterii* by 450mg/ml Which Equal 0.9 g ,that reducing microbial load more higher than 150&300 mg/ml. All of these samples conformed to the Iraqi standard in terms of human consumption.

المقدمة
ازداد الاهتمام باستخدام المنتجات النباتية و الأعشاب في العالم كله، ففي الولايات المتحدة وصلت هذه الزيادة الى 380% بين عام 1990 - 1997، اذ إن بعض هذه النباتات والاعشاب تحتوي على مركبات فعالة مثل الزيوت العطرية والفينولات والالديهايدات والقلويدات وغيرها التي كان لها العديد من التطبيقات العلاجية ضد أمراض عديدة بسبب تواجد البكتريا او الاعفان او الفيروسات سواء في الغذاء او جسم الانسان [1] ويمثل توفرها ورخص ثمنها حتى في البلدان التي لا تنمو فيها، حيث تعد واحدة من المجاميع النباتية التي مازالت البحوث بصددها قليلة وبالأخص فيما يتعلق بفعاليتها المضادة للمكروبات عند تطبيقها في الأغذية[2] ،
اللبان الذكر ويعرف علمياً باسم. (Boswellia Carterii) يستخرج من سيقان الأشجار و المصدر الرئيسي للبان الذكر هي عمان واليمن. تركيبه الكيمائي يتكون من مزيج متجانس من حوالي ٦٠% راتنج وحوالي ٢٥% صمغ وحوالي ٥% زيوت طيارة ومركب يعرف باسم اولبين ومواد مرة واهم مركبات الزيت فيلاندرين وباينين. يحتوى اللبان على مادة الكورتيزون المثبطة للالتهابات، ويقول الباحثون ان الكورتيزون المتوفر في اللبان ذا جودة عالية وفاعلية أفضل بكثير من الكورتيزون الصناعي، ويشيد الباحثون الغربيون بأن كورتيزون اللبان ليست له اعراض جانبية كالكورتيزون الصناعي الذي يسبب مضاعفات خطيرة منها هشاشة العظام والبشرة الورقية وقصور في وظائف الكبد والكلى وقد استخدمه الفراعنه

منذ ذلك الوقت كعلاج لاغلب الامراض [3]، يعد اللبان من المواد الطبية المشهورة التي تباع وتتواجد في محلات العطارة والاعشاب الطبية العربية واستخدم اللبان في الطب الشعبي لمعالجة أمراض كثيرة أهمها الأورام والقروح الملتهبة والزحار والأمراض الصدرية كالسعال وكمقوي للقلب وغيرها كما ان له استخدامات غير طبية اهمها واكثرها رواجا هي صناعة البخور[4].

أثارت مؤخرا المستخلصات النباتية اهتماما كبيرا حيث اعتبرت مصدرا للمنتجات الطبيعية، فهي تمتلك مواصفات وقاية وحماية عند استخدامها كبدائل علاجية في الكثير من العلاجات وللعديد من المسببات المرضية، بالإضافة الى انها تعد موادا حافظة للغذاء حيث يمتلك كفاءة تثبيطية مضاد للبكتريا المرضية والمسببة لتلف الغذاء واستخدام المستخلص النباتي كبديل للمواد الحافظة الصناعية وإطالة العمر الخزني للاغذية [5]، وكان هذا سببا لاجراء هذه الدراسة وهي الكشف عن الفعالية المضادة للمايكروبات لنبات اللبان الذكر المتوفر والرخيص الثمن و الذي استخدم في اطالة مدة حفظ اللحم المثروم والمحفوظ بدرجة حرارة الثلاجة .

المواد وطرائق البحث

١- جمع النبات وتحضيره:

تم الحصول على اللبان الذكر من محلات العشابين في سوق الشورجة ببغداد وبمقدار (500) غم ثم طحنت واجري الاستخلاص والاختبارات اللازمة عليها.

٢- الاستخلاص الكحولي الايثانولي :

استعمل الكحول الايثانولي بتركيز 95% حسب طريقة[6]، حيث أذيب 100 غم من مسحوق النبات في 200 مل من الكحول الايثانولي إي بنسبة (2:1) (مسحوق نباتي :كحول ايثانولي) وقد تم خلطه جيدا بواسطة خلاط كهربائي نوع National وبعد وضعه في حاضنة هزازة في درجة حرارة 28 مْ لمدة 24 ساعة بعدها رشح المزيج باستخدام قمع بخنر تحت الضغط الفراغي مع أوراق ترشيح نوع .Wattman No1 وجمع الراشح وركز بالجهاز المبخر الدوار في درجة حرارة 40 مْ إلى أن تم تبخير كمية معينة من الكحول وجمعها وبعد وضع المركز في أطباق ذات مساحة سطحية كبيرة تم تجفيف الكحول المتبقي في فرن كهربائي في درجة حرارة 40 مْ.

٣- تحضير التراكيز المختلفة لمستخلص اللبان :

اخذ من مسحوق مستخلص مادة اللبان ٠،٣غم و ٠،٦ غم و ٠،٩ غم واذيب في ٢ مل من المذيب لتحضير التراكيز (٤٥٠،٣٠٠،١٥٠) ملغم / مل على التوالي .

٤- تحضير العينات :

في مختبرات كلية العلوم للبنات / قسم البايولوجي اجري البحث في شهر تشرين الثاني 2016، تم الحصول على لحم غنم مثروم من احد محال بيع اللحوم في منطقة السيدية، وزع اللحم المفروم على اربع معاملات بواقع 100 غم لكل معاملة ، تم خلط معاملات لحم الغنم المفروم مع التراكيز المختلفة من المستخلص الكحولي الايثانولي كما وضحت سابقا ووضعت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ بعدها اجريت عليها الفحوصات الميكروبية وقد تم عمل مكررين لكل معامله.

٥- الفحوصات الميكروبية :

تم أخذ 10 غم من اللحم تحت ظروف معقمة وأضيف إلى 90 مل من محلول الملح الفسيولوجي Normal Saline المعقم ومزجت المكونات بجهاز المازج Stomacher لمدة دقيقتين، ثم أخذ ١ مل من هذا المعلق الذي يمثل التخفيف الأول 10^{-1} وأضيف إلى 9مل من المحلول الملحي الفسيولوجي Normal Saline أجريت سلسلة التخافيف العشرية التي تراوحت من 10^{-1} إلى 10^{-9} لغرض عد مستعمرات البكتريا والأعفان والخمائر[7]. وقد شملت :

أ- العد الكلي للبكتريا Total Standard Plate Count (SPC)

أجريت تجارب أولية لمعرفة التخفيف الذي يعطي افضل النتائج باستخدام 1 مل من كل من التخافيف 10^{-1} إلى 10^{-9} وزرعت على وسط الآكار المغذي Nutrient Agar بطريقة Pouring باستخدام مكررين لكل تخفيف، حضنت في درجة حرارة 37مْ مدة 24- 48 ساعة واختيرت الأطباق الحاوية على 30-300 وحدة تكوين مستعمرة (و.ت.م) /سم^3 وقد عبر عنها أينما وردت.

ب- عد بكتريا القولون Coliform Bacteria

استخدم وسط آكار الماكونكي MacConkey Agar لعد بكتريا القولون حيث عقم الوسط بالموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 م وضغط 15 جو لمدة 15 دقيقة، وأجريت تجارب أولية كالتي أجريت في العد الكلي للبكتريا المذكورة بالفقرة أعلاه واختير حجم المعلق 0.1 مل من كل تخفيف ووزعت على وسط اكار الماكونكي MacConkey Agar بطريقة النشر spreading وبواسطة الناشر الزجاجي وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 - 48 ساعة حيث أعطى افضل النتائج للعد البكتيري.

ج- عد بكتريا العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

استخدم وسط آكار المانتول Manitol Agar لعد بكتريا العنقودية الذهبية حيث عقم الوسط بالموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 م وضغط 15 جو لمدة 15 دقيقة، وأجريت تجارب كالتي اجريت في الفقره اعلاه. [8]

د- عد الخمائر والأعفان :

أستخدم وسط آكار مستخلص الشعير (Malt Extract Agar)، عقم الوسط بالموصدة Autoclave بدرجة حرارة 121 م وضغط 15 جو لمدة 15 دقيقة، عدل رقم الهيدروجين إلى 5 باستخدام حامض التارتاريك 0.01 عياري، أضيف المضاد الحيوي الذي حضر بإذابة 500 ملغم من كلورومفنيكول Chloramphenicol مع 100 مل محلول الفوسفات الدارئ ومزج الخليط جيدا قبل إضافته للوسط الزرعي، ثم أضيف 2 مل من الخليط إلى كل 100 مل من الوسط الزرعي الخاص لتنمية الخمائر والأعفان ولتثبيط نمو البكتريا ثم أجريت تجارب أولية كالتي أجريت سابقاً وكان حجم المعلق المستخدم 0.1 مل [9].

النتائج والمناقشة

توضح الجداول اللاحقة تاثير الاحياء المجهرية المختلفة على لحم الغنم المثروم وذلك قبل الحفظ وبعد حفظه لمدة ٦ ايام في درجة حرارة الثلاجة ٤مْ حيث تم استخدام المستخلص الكحولي لنبات اللبان بتراكيز معينه كمادة حافظه للحم الغنم ومعرفة تاثير هذه التراكيز من المستخلص على مدة حفظ اللحم بدرجة حرارة الثلاجة حيث تؤكد عدة بحوث تطبيقية على أفضلية المذيب الكحولي في استخلاص المواد الفعالة من النباتات الطبية [10] لوحظ من خلال الجداول ان اضافة المستخلص الكحولي ادى الى خفض ملحوظ في اعداد الاحياء المجهرية المختلفة على الرغم من تكاثر الاحياء المجهرية مع زيادة مدة الحفظ فكانت اعداد الاحياء المجهرية في العينات الحاويه على المستخلص الكحولي للبان اوطأ من اعدادها في عينات اللحم المثروم بدون اضافة المستخلص كعينة سيطرة طوال مدة الحفظ، ففي الجدول (١) بلغ العدد الكلي للبكتريا الهوائية عند اضافة المستخلص بتركيز ١٥٠ ملغم/مل والتي تساوي ٠،٣ غم الى لحم الغنم المثروم $31x10^3$ و$15x10^3$ و.ت.م./سم^3 لمدة حفظ ٣ و٦ ايام على التوالي في درجة حرارة الثلاجة ٤مْ بعد ان كانت $45x\ 10^5$ قبل اضافة المستخلص وجاءت النتائج مطابقه لما وجده [11] ولكن باستخدام نبات الدارسين ، في حين بلغت بكتريا القولون $21x10^2$ و $11x10^2$ و.ت.م./سم^3 بعد ان كانت $5x10^4$ وكذلك بالنسبة للبكتريا العنقودية الذهبية بلغت $22x10^2$ و$18x10^2$ و.ت.م./سم^3 بعد ان كانت $1x10^3$ قبل اضافة المستخلص اما بالنسبة للخمائر والاعفان فقد بلغت النسبة $21x10^3$ و $88x10^2$ و.ت.م./سم^3 بعد ان كانت $38x10^4$ قبل اضافة المستخلص الكحولي ، ونلاحظ التاثير التثبيطي للمستخلص الكحولي على الاحياء المجهرية استمر حتى عند مرور ٦ ايام من الحفظ بالثلاجة حيث كانت ضمن الحدود الميكروبية القياسية للحوم والصالحه للاستهلاك البشري كما حددته المواصفة القياسية العراقية للعدد الكلي 10^6 ولبكتريا القولون حددت 10^2-10 وعدد البكتريا العنقودية الذهبية 10^4- 10^3 وجاءت جميعها مطابقة للمواصفة القياسية العراقية [12] وكذلك الحال للجدولين (٢)و(٣) ، اما بالنسبة للاحياء المجهرية في الجدولين (٢)و(٣) فقد لوحظ انخفاض في الاعداد عند اضافة المستخلص بتركيز ٣٠٠مغم/مل والذي يساوي ٠،٦غم وكذلك تركيز ٤٥٠ملغم/مل والذي يساوي ٠،٩غم على التوالي الى اللحم المثروم بعد الحفظ لمدة ٣ و ٦ ايام في درجة حرارة الثلاجة ، وكان التركيز المستخدم ٤٥٠ملغم/مل قد اعطى افضل النتائج في تثبيط الاحياء المجهرية حيث انخفض العدد الكلي للبكتريا الهوائية الى $35x10^2$ و$22x10$ و.ت.م./سم^3 بعد الحفظ ٣ و٦ ايام على التوالي، وبكتريا القولون $22x10^2$ و $17x10$ و.ت.م./سم^3 ، اما العنقودية الذهبية بلغت $45x10^2$و $52x10$ و.ت.م./سم^3 على التوالي، واعداد الخمائر والاعفان بلغت $31x10^2$ و $9x10^2$ و.ت.م./سم^3 ، بعد ان كانت الاعداد $48x10^5$ و$1x10^5$ و$38x10^3$ و $25x10^3$ و.ت.م./سم^3 لكل من البكتريا الهوائية الكلية وبكتريا القولون والبكتريا العنقودية الذهبية والخمائروالاعفان على التوالي ،./ من المعروف ان اللحوم لاتخلو من الاحياء المجهرية ولكن قد تزداد اعدادها اذا توفرت لها بعض الظروف المناسبة لنموها كدرجة الحرارة والرطوبة والاوكسجين [13] كما يزداد التلوث أثناء عملية الذبح والتقطيع والتصنيع وظروف الخزن السيئة في غرف التبريد ومكائن الفرم في المعامل وأيدي العمال من العوامل التي تعمل على زيادة أعداد الأحياء المجهرية في اللحوم [14] وهذا مطابق لما وجدته دراسة[15] في تثبيط الاحياء المجهرية باضافة المستخلص الكحولي للبان، وايضا جاءت هذه النتائج مطابقة لما وجده [16] في دراسته عن التاثير التثبيطي لنبات اللبان الذكر تجاه جراثيم العنقوديات، وقد يكون سبب انخفاض الاحياء المجهرية للحم المثروم الى احتواء نبات اللبان على العديد من المركبات ذات فعالية ضد الاحياء المجهرية التي تكون معقدات مع الجدار الخلوي والبروتينات الذائبة في جسم الخلية الجرثومية وتحطم الغشاء الخلوي للخلايا الميكروبية [17].

جدول (1) تأثير فعالية المستخلص الكحولي للبان الذكر بتركيز ١٥٠ملغم/مل في الحمل الميكروبي للحم الغنم المفروم والمخزون بدرجة حرارة الثلاجة ٤ مْ.

العد الميكروبي	عينة السيطرة*	المعاملة*	مدة الحفظ بالايام	
			3	6
العدد الكلي للبكتريا الهوائية	*45x 10^5	1	$59x10^6$	$72x10^7$
		2	$31x10^3$	$15x10^3$
بكتريا القولون	$5x10^4$	1	$23x10^5$	$58x10^6$
		2	$21x10^2$	$11x10^2$
البكتريا العنقودية الذهبية	$1x10^3$	1	$78x10^4$	$45x10^5$
		2	$22x10^2$	$18x10^2$
الخمائر والاعفان	$38x10^4$	1	$45x10^4$	$68x10^5$

			$21x10^3$	$88x10^2$

* 1 المعاملة بدون اضافة مستخلص 2 المعاملة مع اضافة المستخلص
* عينة السيطرة قبل الخزن / *النتائج هي معدل لمكررين

جدول (2) تأثير فعالية المستخلص الكحولي للبان الذكر بتركيز ٣٠٠ملغم/مل في الحمل الميكروبي للحم الغنم المفروم والمخزون بدرجة حرارة الثلاجة ٤ مْ.

العد الميكروبي	عينة السيطرة*	المعاملة*	مدة الحفظ بالايام	
			3	6
العدد الكلي للبكتريا الهوائية	$45x10^5$	1	$65x10^6$	$82x10^7$
		2	$51x10^2$	$43x10^2$
بكتريا القولون	$28x10^3$	1	$41x10^4$	$68x10^5$
		2	43x10	$3x10^2$
البكتريا العنقودية الذهبية	$18x10^3$	1	$31x10^4$	$48x10^4$
		2	$21x10^2$	$1x10^2$
الخمائر والاعفان	$11x10^4$	1	$35x10^4$	$24x10^5$
		2	$78x10^2$	$23x10^2$

*1 المعاملة بدون اضافة مستخلص2 المعاملة مع اضافة المستخلص
* عينة السيطرة قبل الخزن/ *النتائج هي معدل لمكررين

جدول (3) تأثير فعالية المستخلص الكحولي للبان الذكر بتركيز ٤٥٠ملغم/مل في الحمل الميكروبي للحم الغنم المفروم والمخزون بدرجة حرارة الثلاجة ٤ مْ.

العد الميكروبي	عينة السيطرة *	المعاملة*	مدة الحفظ بالايام	
			3	6
العدد الكلي للبكتريا الهوائية	$48x10^5$	1	$67x10^6$	$59x10^7$
		2	$35x10^2$	22x10
بكتريا القولون	$1x10^5$	1	$17x10^6$	$34x10^6$
		2	$22x10^2$	17x10
البكتريا العنقودية الذهبية	$38x10^3$	1	$13x10^4$	$77x10^4$
		2	$45x10^2$	52x10
الخمائر والاعفان	$25x10^3$	1	$77x10^4$	$86x10^4$
		2	$31x10^2$	$9x10^2$

*1 المعاملة بدون اضافة مستخلص 2 المعاملة مع اضافة المستخلص
* عينة السيطرة قبل الخزن / *النتائج هي معدل لمكررين

الاستنتاجات

يظهر من نتائج الدراسة امكانية استخدام المستخلص الكحولي الايثانولي للبان الذكر في اطالة العمر الخزني للحم الغنم المفروم والمحفوظ بدرجة حرارة الثلاجة 4 مْ لمدة ٦ ايام من بداية المعاملة حيث اظهرت اضافة المستخلص قدرة تثبيطية جيدة وفعالة ضد الاحياء المجهرية المختلفة في اللحم المفروم، وقد اعطى المستخلص الكحولي بتركيز ٤٥٠ملغم/مل والذي يساوي ٠،٩غم افضل النتائج في خفض اعداد الاحياء المجهرية للحم الغنم المفروم اكثر من التراكيز ١٥٠ و٣٠٠ ملغم/مل والتي تساوي ٠،٣ و٠،٦ غم على التوالي .

التوصيات

١. اجراء فحوصات كيمياوية لمعرفة المواد الفعالة في اللبان الذكر .
٢. فحص وتشخيص نسبة الكورتيزون الموجوده في اللبان الذكر.
٣. اجراء تقييم حسي لمنتوجات غذائية يدخل فيها اللبان الذكر.

المصادر

1- EL Astal, Z. Y.; Ashour, A. and Kerrit, A. A. M. (2005). Antimicrobial activity of some medicainal plant extracts in palestine. Pak Jmed. Sci.21 (2):187-193.
2- Oiye, S. O. and Muroki, N. M. (2002). Use of spices in food. The Journal of food technology in africa. 7: 39-44
3- www.Wekipedia.com (2016).اللبان
4- Bonjar, S.(2004). Evaluation of antibacterial properties of some Medicinal plants used in Iran. J. Ethnopharmacology,. 94:301-305.

5- Tepe, B.; Donmez, E.; Unlu, M.; Candan, F.; Daferera, D.; Vardar-Unlu,G.; Polissiou, M. and Sokmen, A. (2004). Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of the Salvia cryptantha (Monthbret et Aucher ex Benth.) and salvia multicaulis (Vahl). Food Chemistry. 84(4): 519-525.

6- Harborne, J. B. (1973). Phytochemical Method. Champman and Hall.
London, New York.p:84.

7- Andrews, W. (1992). Manual of food quality control: Food and Drug Administration, Washington, D.C., USA.

8- دراسة مسحية عن محتوى العناصر النزرة والحمل الميكروبي في الحليب واللبن 2009الحافظ، علياء سعد). الرائب المحلي وتأثير الأواني فيها، رسالة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة بغداد).

9- الخمائر والاعفان في بعض منتجات الألبان. رسالة ماجستير، كلية الطب 1999القطبي، سحر حسن علي). البيطري، جامعة بغداد).

10- Eloff JN (1997). Which extract should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? J. Ethnopharmacol. 60: 1- 7.

11- اختبارفعالية المستخلص الزيتي لقلف 2009القيسي، مهدي ضمد والزبيدي، لبيب احمد وعلي، نورية عبد الحسين . 175، ص4،عدد14نبات الدارسين في حفظ اللحم المفروم . مجلة الزراعة العراقية ،مجلد

12- الحدود –الرابع الجزء –الأغذية في المايكروبية (3725) رقم العراقية القياسية المواصفة مسودة .(2000) .ع ق م .العراق جمهورية .النوعية والسيطرة للتقييس الجهاز المركزي .ومنتجاتها للحوم المايكروبية

13- A.O.A.C. (2005). Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Microbiological Food Testing. Ch., 17. And Meat and Meat Products, Ch., 39. USA.

14- Marth, E. H. (1998). Extended shelf life of refrigerated food microbiological quality and safety. Food Technol. 52(2): 1-8.

15- L. Camarda, T. Dayton, V. Di Stefano, R. Pitonzo, and D. Schillaci, (2007) "Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from Boswellia spp. (Burseraceae)," Annali di Chimica, vol. 97, no. 9, pp. 837–844,.

16- لؤي (٢٠١٢). توفيق، ليث محمد و ذنون وعبد الرزاق، ،عبداللطيف الخزرجي عيسى و ايوب العكيدي، محسن تكريت مجلة ، العنقوديات جراثيم تجاهFrankinens اللبان لمادة والكحولية المائية للمستخلصات التثبيطية الفعالية الصرفة، ١٧ (١) :٧٨-٨٠ . للعلوم

17- Cowan, M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents.Clinical Microbiology Reviews, 12(4): 564-582.