تحضير متحللين بروتينين من أرجل الدجاج ورؤوس وقشور الروبيان بالهضم الحامضي واختبار كفاءتهما في النمو الميكروبي

محمد زيارة اسكندر* أم البشر حميد جابر الموسوي روضة محمود علي
قسم علوم الأغذية والتقانات الإحيائية،كلية الزراعة ،جامعة البصرة

الخلاصة

تضمنت الدراسة تحضير نوعين من المتحللات البروتينية من المخلفات الحيوانية التي شملت كل من أرجل الدجاج وقشور ورؤوس الروبيان باستعمال الطريقة الكيماوية حامض HCl ٤ ع، درس التركيب الكيميائي للمتحللين المحضرين والتي شملت النسب المئوية لكل من المواد الصلبة الكلية، النتروجين الكلي ، الرطوبة ،البروتين ، الدهن ، الرماد والكربوهيدرات اضافة لحساب الحاصل، كما قدرت درجة التحلل للمتحللين المحضرين. والصفات الفيزيائية لها (الرقم الهيدروجيني واللون) ثم اختبر أفضل تركيز في تحضير الأوساط الزرعية وكان 4% لكل من المتحلل A الذي تم تحضيره من ارجل الدجاج والمتحلل B الذي تم تحضيره من رؤوس وقشور الروبيان. ادخل المتحللين في نوعين من الأوساط المستعملة لتنمية البكتريا ، الأول وسط مرق البيتون والثاني وسط المرق المغذي بعد رفع البيتون منهما ،ودرست مدى قابلية هذه الأوساط على دعم نمو الأحياء المجهرية الهوائية من خلال زرع عينات طبيعية (ماء، تربة، حليب خام ولحم مفروم)عليها والحضن لمدتي 24و48 ساعــة على حرارة ٣٧م ° ومقارنتها مع أوساط زرعية تجارية وكذلك تنمية بعض السلالات البكتريا المنتخبة(*Lactobacillus casei ,Escherichia coli ,Staphylococcus aureus ,Streptococcus spp*) واخذ القراءات لها اذ أعطت نتائج مقاربة مع الأوساط التجارية .

PREPATION TOW PROTEIN HYDROLYSATES FROM CHICKEN LEGS AND RAW SHRIMP WASTE BY USING ACIDIC DIGESTION AND TEST THEIR EFFICIENCY IN MICROBIAL GROWTH

M. Z . Iscandar* A.H. Jabber R. M. Ali
Bept. food science - College of Agriculture- University of Basra

Abstract

Two protein hydrolysates were prepared from animals by-product (chicken legs(A) and raw shrimp waste(B)) by chemical method (hydrochloric acid). The chemical composition of Protein hydrolysates that include percentage of total solid matter, total nitrogen, Protein,lipid,ash ,yield and degree of analysis were studied, Also the physical properties of Protein hydrolysates were studied (pH and color), The best concentration of hydrolysates for preparing media was 4% for A and B, The Protein hydrolysates were added to two types of media (peptone broth and agar) and (nutrient broth and agar) instead of their peptone .Their ability to support the growth of microorganisms by cultivating natural samples (water, soil,milk and meat). The samples were incubated in 37C◦ for (24-48) h. A comparison was made with some commercially available media, also some selected types of bacteria *(Streptococus* spp*., Staph.aureus, L.casei and E. coil*) have been cultivated in these media.

* البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول

*Part of M. Sc. thesis

المقدمة

يعد استعمال مخلفات المجازر من قبل الكثير من الدول النامية بعيدة عن الاهتمام الجدي وتبقى المشكلة الوحيدة لدى المسؤولين عن هذه المخلفات هو التركيز على كيفية التخلص منها بوصفها نفايات تؤدي إلى أضرار صحية وخيمة وهذا لا يدل على جهل القائمين على هذه المجازر بقيمة هذه المواد ولكن مدى الاستفادة من هذه المخلفات ترتبط بالحاجة إلى إمكانية معينة تتطلب تحويلها إلى مواد نافعة ذات قيمة اقتصادية (Tinnimitt et al., 1972).

إن رمي المخلفات الحيوانية والنواتج العرضية ومخلفات الأسماك والروبيان تسبب مشكلتين رئيستين ،الأولى هي فقدان الكميات الضخمة من المواد المغذية مثل البروتين والدهون والأملاح المعدنية ، والثانية ان رمي مثل هذه الكميات الكبيرة تسهم إلى حد كبير في التلوث مما يؤدي إلى مشاكل بيئية واقتصادية كبيرة (Choudhury and Bublitz,1996 والطائي،٢٠٠٥) . تطرح سنويا ألاف الأطنان من مخلفات الدواجن في العالم إذ تصل نسبة المخلفات حوالي ٢٠% من وزن الطير الحي، وقد أشار الجهاز المركزي للإحصاء في العراق ان كمية لحوم الدواجن لعام ١٩٩٩ بلغ ٧٢٠٠٠طن سنويا (الشريك ،١٩٩٦ والمظفر، ٢٠٠٥). تعد مخلفات الروبيان هي الأخرى مصدر غني بالبروتين كما يمكن استعمالها في تصنيع متحللات بروتينية اذ تحتوي على مجموعة الأملاح المعدنية وصبغة (Astaxanthin) (Gildberg and Senberg, 2001).و تجرى عادة عملية تحلل البروتين اما بالطريقة الكيميائية (حامض ، قاعدة) او بالطريقة الإنزيمية (بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات). تمتاز الطريقة الكيميائية بقصر وقت التحلل ورخص وسهولة العملية ، لذا كثيراً ما تستعمل في المجالات الصناعية ، إلا انه قد تسبب بعض الأضرار مثل تحطيم بعض الأحماض الأمينية وزيادة نسبة الأملاح نتيجة تعديل قيمة الرقم الهيدروجيني (Gao *et al*., 2005) ويعرف البيتون كبروتين متحلل قابل للذوبان في الماء ولا يترسب بالحرارة ، ويعد مصدر للنتروجين وهو المكون الأكثر غلاءً من بين مكونات الوسط الزرعي، وفي الوقت الحاضر يمكن الحصول عليه من مصادر نباتية وبروتينات معامل الألبان مثل الكازين والشرش ومخلفات المجازر (Kurbanoglu and Algur, 2002) . وتهدف الدراسة الحالية إلى تحضير وتوصيف المتحللات البروتينية من المخلفات الحيوانية بالهضم الكيمياوي ودراسة تركيبها الكيميائي وصفاتها الفيزيائية وتقييم ادائها عبر إدخالها في تحضير أوساط زرعية متنوعة لدعم نمو الإحياء المجهرية المختلفة .

المواد وطرائق العمل

المواد الأولية والعينات

تم الحصول على ارجل الدجاج وقشور وروؤس الروبيان من السوق المحلية في مدينة البصرة كناتج عرضي لعملية ذبح وتنظيف الدجاج وكناتج عرضي لعملية تنظيف الروبيان المحلي بدون اجراء عملية السلق الأولي ، غسلت جيدا بماء الحنفية الجاري وضعت في اكياس نايلون وحفظت بالتجميد على(- ١٨م° ± ٢) لحين الاستعمال. واستعمل المرق المغذي Nutrient broth شركة (Oxoid) إنكليزي المنشأ ،المرق المغذي Nutrient broth شركة (BBL) إنكليزي المنشأ، ببتون Peptone شركة (Himedia) هندي المنشأ، ببتون Peptone شركة (Difco) أمريكي المنشأ ومستخلص الخميرة Yeast extract شركة (Oxoid) إنكليزي المنشأ. استعملت المواد التالية لغرض الفحص، تربة حديقة كلية الزراعة /جامعة البصرة، و ماء احد افرع شط العرب بالقرب من جامعة البصرة، وحليب خام (بقري) ، اخذ من حقل كلية الزراعة / جامعة البصرة ولحم بقري (مفروم)، جلب من السوق المحلية. واستعملت الاحياء المجهرية التالية (*Escherichia coli*، *Lactobacillus casei*، *Staphylococcus aureus*، *Streptococcus* spp) مصدر جميع الأحياء المجهرية المستعملة في الدراسة من كلية العلوم ـ جامعة البصرة .وجميع المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة من النوع التحليلي Analytical Reagents

طرائق العمل

التحليل الكيميائي

أجريت التحليلات الكيميائية بثلاث مكررات .

تم تقدير البروتين حسب طريقة مايكروكلدال Semi-micro kjeldahl كما موضحة من قبل (١٩٧١)Pearson. وتم تقدير الدهن والرطوبة والرماد كما موضحة في (1984) A.O.A.C.وقدرت الكربوهيدرات بالفرق من طرح مجموع المكونات من ١٠٠ وحسب ما ذكر في(1971) Pearson. وقدرت درجة التحلل المائي(Degree of Hydrolysis (DH للبروتين حسب طريقة(1970) ,.Yamashita et al .

تحضير المتحللات البروتينية

اتبعت طريقه (2002), Kurbanoglu and Algur في تحضير متحلل بروتيني باستعمال الحامض لكل من ارجل الدجاج وخليط قشور ورؤوس الروبيان مع اجراء بعض التحويرات الطفيفة عليها.

١- تم غسل ارجل الدجاج بالماء الجاري وقطعت وثرمت بماكنة (ثرم اللحم meat chopper) بثقوب ذات قطر ٤ملم وقسمت الى قسمين، الأول وضع في أكياس نايلون وحفظ في المجمدة والثاني استخدم في إنتاج المتحلل البروتيني بالحامض.
٢- جففت الأرجل المثرومة على حرارة ٨٥م°لمدة ١٢ساعة بواسطة الفرن الهوائي. ومن ثم طحنت بطاحونة القهوة.
٣- خلطت قشور ورؤوس الروبيان جيداً بواسطة الخلاط الكهربائي Blender وقسمت الى قسمين ، القسم الاول وضع في اكياس نايلون وحفظ في المجمدة والثاني استعمل في انتاج المتحلل البروتيني بالحامض.
٤- جفف خليط قشور ورؤوس الروبيان عند ٧٠م° لمدة ٨ ساعات بالفرن الهوائي. وبعدها طحن الناتج بطاحونة القهوة.
٥- اخذ وزن لكل من العينتين (ارجل الدجاج وخليط قشور ورؤوس الروبيان) مقداره ٣٥غم ووضع كل منهما في دورق مخروطي سعة ٥٠٠مل واضيف اليه ٥٠مل من حامض HCL ذي عيارية ٤ ع.
٦- حضن الخليط على درجة حرارة ٨٠م لمدة٢٤ ساعة بعدها اضيف اليه ١٠٠مل ماء مقطر وحضن على ١٣٠م° لمدة ساعة واحدة.
ترك الخليط ليبرد ثم عدل الرقم الهيدروجيني الى ٧ باستعمال ٤ع NaOH .
٧- رشح الخليط بتمريره على صوف زجاجي للتخلص من الأجزاء غير المتحللة.
٨- برد الراشح الناتج الى درجة حرارة ١٠م وقشطت الطبقة العليا (الدهن) جيداً.
٩- اجري الترشيح بورق ترشيح (١) Whatman No. لمرتين واكمل الحجم بالماء المقطر الى ٢٥٠مل واجريت عملية البسترة على ٨٠م° لمدة١٥ دقيقة.
١٠-تم اجراء التحليلات الكيميائية المطلوبة على المتحلل المحضر لمعرفة تركيبه الكيميائي كما في الفقرة٣-٣-١.
١١-حفظ المتحلل بالتجميد لحين الاستخدام وسمي المتحلل المحضر من أرجل الدجاج بالمتحلل A والمتحلل المحضر من خليط قشور ورؤوس الروبيان بالمتحلل B .

إدخال المتحللات البروتينية المحضرة في الأوساط الزرعية

اختبار التركيز الأفضل

تم اتباع الخطوات الاتية:-

١- استعملت تراكيز مختلفة لكل من المتحللين المحضرينA وB لمعرفة التركيز الأفضل لا ستعمالها في التجارب اللاحقة اذ تم اختيار تراكيز زوجية تراوحت بين ٠-١٠%
٢- حضر وسط المتحلل السائل حسب طريقة Uzeh,et al. (2006) وذلك بإضافة 0.1% كلوكوز لكل تركيز وعدل الرقم الهيدروجيني إلى ٧±0.2 بواسطة 1N NaOH.
٣-وضع ١٠ مل من وسط المتحلل السائل المحضر لكل تركيز في أنبوب اختبار (بمكررين)، بعدها عقمت الأوساط المحضرة في المؤصده في١٢١م° لمدة ١٥دقيقة وبضغط ١٥باوند/انج٢ . وأجريت التخافيف المطلوبة للمواد المراد فحصها (التربة ، الماء، الحليب الخام ، اللحم المفروم) ثم لقحت الأنابيب التي تحتوي على وسط المتحلل السائل لكل تركيز بإضافة 0.1مل من التخفيف المناسب لكل من المواد المراد فحصها (بمكررين) مع تحريك الأنابيب جيدا. وحضنت الأنابيب عند 35- 37م°لمدة ٤٨ ساعة، تم تقدير كثافة النمو الحاصل للاحياء المجهرية بقراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند طول موجي ٥٤٠ نانومتر وسجلت القراءة لكل أنبوب واخذ المعدل لها.

المقارنة بين المتحللين المحضرين والببتونات التجارية بوسط مرق الببتون

بعد معرفة افضل تركيز لكل المتحللين المحضرين من خلال التجربة السابقة .

١- حضر وسط مرق الببتون حسب طريقةUzeh,et al. (2006) بإضافة ١.٠% كلوكوز الى كل افضل تركيز من المتحللين المحضرين واضافة 0.1%كلوكوز الى 0.5 % ببتون تجاري من شركة Difco وببتون من شركة Himedia واكمل الحجم المطلوب بالماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني الى ٧ ±٠.٢ بواسطةNaOH 1N.
٢- تم نقل ١٠مل من كل وسط سائل محضر الى١٦ انبوب اختبار وقسمت الانابيب الى مجموعتين (كل وسط ٨ انابيب اختبار لكل مجموعة).
٣- أجريت التخافيف المطلوبة للمواد المراد فحصها (التربة ، الماء،الحليب الخام ، اللحم المفروم) ولقحت المجموعة الأولى من الأوساط المحضرة السائلة بمقدار ١.٠ مل من التخفيف المناسب لكل من المواد الاربعة اعلاه (بمكررين).
٤-تم تنشيط المزارع البكتيرية النقية الأربع (*Streptococcus. spp, Stahp. aureus, L. casei, E.coli*) على وسط المرق المغذي وبعمر ١٨-٢٤ ساعة ولقحت المجموعة الثانية بمقدار ١.٠ مل لكل مزرعة و(بمكررين)

حضنت المجموعتان على٣٥-٣٧ م° وبعدها قرئ الامتصاص الضوئي لها عند طول موجي ٥٤٠ نانومتر بعد ٢٤ و٤٨ ساعة على التوالي وسجلت القراءات واخذ المعدل.

المقارنة بين الأوساط (المرق المغذي) المحضرة من المتحللين المحضرين والأوساط التجارية

حضر وسط المرق المغذي لأفضل التراكيز من المتحللات البروتينية المحضرة والتي أعطت أفضل نمو من التجربة الأولى وحسب الطريقة المتبعة من قبل شركة Oxoid لإنتاج الأوساط الزرعية، اذ تكون الوسط الزرعي من (مستخلص الخميرة ١.٠% وكلوريد الصوديوم ٥.٠% + ببتون ٥.٠%) واستبدل الببتون بأفضل تركيز من المتحللين المحضرين واكمل الحجم المطلوب بالماء المقطر وعدل الرقم الهيدروجيني إلى ٧ ±٠.٢ بواسطة 1N NaOH. واستعمل وسطين تجاريين لغرض المقارنة وهي المرق المغذي من شركة Oxoid وشركةBBL وحضر الوسطان حسب تعليمات الشركة المنتجة. وتم اتباع نفس الخطوات السابقة في الفحص لكل من الأوساط السائلة والصلبة عدا قراءة امتصاصية الضوء فقد كانت عند طول موجي ٦٠٠ نانومتر. تم تسجيل قراءة الامتصاصية بعد ٢٤ و ٤٨ ساعة على التوالي وحساب المعدل لها.

النتائج والمناقشة

المحتوى الكيميائي للمواد الاولية

وضح الجدول (١) نتائج التحليل الكيميائي للمواد الأولية المستعملة في إنتاج المتحللين المحضرين (أرجل الدجاج ، خليط قشور ورؤوس الروبيان) . اذ لوحظ ان نسبة البروتين كانت مرتفعة في كلا العينتين إذ بلغت (18.7، 17.4) % على التوالي وبذلك فان هذه المواد تعتبر من مصادر البروتين المهمة إذ يمكن الاستفادة منها في إنتاج متحللات بروتينية رخيصة خصوصا ان أرجل الدجاج و مخلفات الروبيان ترمى عادة مسببة تلوثاً بيئيًا. بين الجدول أيضا ان نسبة الدهن في أرجل الدجاج كانت 10.2% في حين بلغت نسبة الدهن في مخلفات الروبيان 4.7%وكان المحتوى الرطوبي مرتفعا في كل من أرجل الدجاج ومخلفات الروبيان اذ بلغ 64.1 و64.6 % على التوالي .ولوحظ من الجدول ايضا ان نسبة الرماد مرتفعة في مخلفات الروبيان اذ وصلت 12.5% ويرجع السبب الى وجود كمية كبيرة من كاربونات الكالسيوم 15-30% في قشور الروبيان (Stephen et al., 1976) وكانت نسبة الرماد في أرجل الدجاج 6.5 %وقد يعود السبب الى وجود العناصر المعدنية بنسبة عالية في العظام.

جدول (١) المحتوى الكيميائي لارجل الدجاج وقشور ورووس الدجاج

المواد الاولية / التركيب الكيميائي(%)	أرجل الدجاج	قشور ورووس الروبيان
البروتين	18.7	17.4
الدهن	10.2	4.7
الرطوبة	64.1	64.6
الرماد	6.5	12.5
الكاربوهيدرات	0.5	0.8

المحتوى الكيميائي وبعض الخواص الفيزيائية للمتحللين المحضرين

وضح الجدول (٢) المحتوى الكيميائي لهذين المتحللين فوجد ان نسبة المواد الصلبة الكلية في كل من المتحللين AوB قد بلغت (17.07و13.96)% على التوالي ويعزى السبب الى انهما حضرا بواسطة الحامض وهذه الطريقة ترتفع فيها نسبة المواد الصلبة الكلية بسبب وجود نسبة عالية من الرماد المتأتي من تعديل الرقم الهيدروجيني (Dufosse et al.,1997)، وبين الجدول ايضا ان نسبة النتروجين الكلي كانت اعلى في كل من المتحللين A وB اذ بلغت 0.948 %و 0.913 % على التوالي ولذلك انعكس على نسبة البروتين فيهما اذ بلغت (5.92، 5.71)% على التوالي وقد يعزى ذلك الى ان الطريقة الكيميائية تحصل فيها عملية التحلل عادة بدرجة عالية. وكذلك يوضح الجدول (٢) ان نسبة الدهن في كل من المتحللين AوB 1.22 %و 0.84 % على التوالي وقد يعود السبب الى طبيعة التحلل الكيميائي الذي يساعد على استخلاص الدهن من الأنسجة بصورة اكبر.

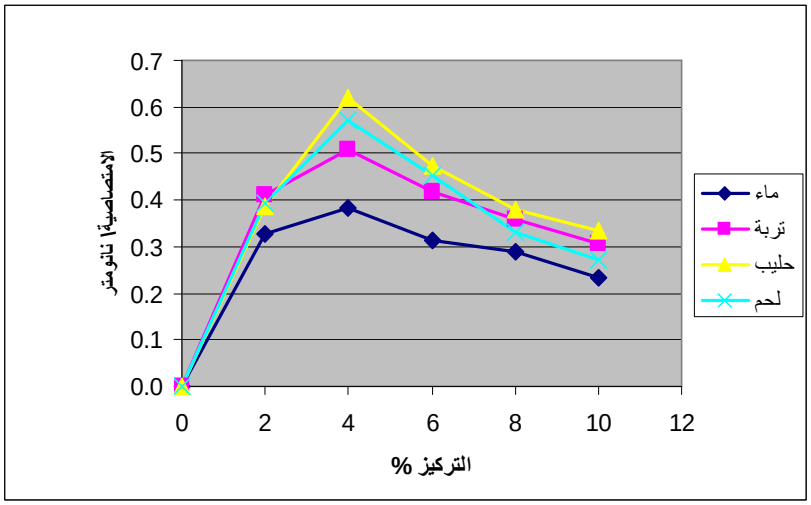
جدول (٢) المحتوى الكيميائي والخواص الفيزيائية للمتحللات البروتينية المحضرة

المكونات الكيميائية(%)		المواد الصلبة الكلية	النتروجين الكلي	البروتين	الرطوبة	الدهن	الرماد	الكاربوهيدرات	درجة التحلل %	الحاصل %	الأس الهيدروجيني	اللون
المتحللات البروتينية المحضرة	A	17.07	٠.948	5.92	85.93	1.22	6.51	0.42	37.1	33.7	9.6	بني غامق
	B	13.96	0.913	5.71	86.04	0.84	7.03	0.38	35.3	32.5	٧.٠	بني

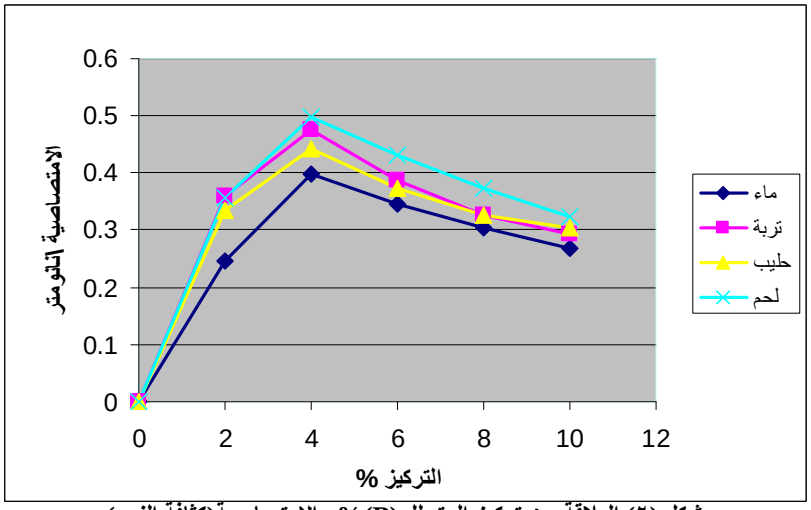
اما نسبة الرماد فقد كانت في كل من المتحللين A وB (6.51 و7.03) % على التوالي ويرجع السبب الى استع الحامض في عملية التحلل، وبينت النتائج في الجدول ان درجة التحلل كانت في كل من المتحللين Aو B 37.1 و 35.3% على التوالي ويعود السبب الى ان الطريقة الكيميائية ذات درجات تحلل عالية (Gao et al.,2005)، وكذلك وضح الجدول لون المتحللين فالمتحلل A ذو لون بني غامق والمتحلل B فذو لون بني وذلك بسبب استخدام الحامض والحرارة العالية في تحضيرهما،واما بالنسبة للبروتينات القابلة للترسيب بحرارة التعقيم فقد لوحظ ان كلا المتحللين المحضرين لم تترسب بحرارة التعقيم عند رقم هيدروجيني تراوح 6.9- ٧ وهذا قد يعزى الى درجة التحلل المتقدمة التي حصلت للمتحللات البروتينية والتي تعمل على تحطيم التراكيب الأساسية للجسيمات البروتينية.

اختبار التركيز الأفضل لنمو البكتريا

بين الشكلين (١ و ٢) نتائج اختبار التركيز لافضل نمو للبكتريا لكل من المتحللين المحضرينA وB بعد إدخالها ضمن وسط المتحلل (السائل) وظهر ان التركيز صفر % لم يعط نمواً ملحوظاً لكلا المتحللين A وB وهذا يدل على حاجة الإحياء المجهرية الى النتروجين لصنع البروتينات والأحماض النووية (Eddleman,1999). بين الشكل (١ و2) ان التركيز4 % أعطى أعلى النتائج لعينات (الماء، التربة ، الحليب و اللحم) اذ كانت قراءة الامتصاصية للشكل(١)0.38 ، 0.51، 0.62،0.57 نانومتر على التوالي وكانت قراءة الامتصاصية للشكل (٢) القيم 0.40 ، 0.48، 0.44، 0.50 نانومتر على التوالي ولوحظ بعد ذلك ان النتائج اخذت بالانخفاض عند زيادة التركيز اذ اعطى تركيز 10% اقل النتائج لكل من عينات (الماء ،التربة ، الحليب و اللحم) اذ كانت قراءة الامتصاصية في الشكل (1) (0.24 ، 0.31،0.34، 0.27) نانومتر على التوالي .



شكل (١) العلاقة بين تركيز المتحلل (A)% والامتصاصية(كثافة النمو)



شكل (٢) العلاقة بين تركيز المتحلل (B)% والامتصاصية(كثافة النمو)

وفي الشكل(٢) كانت النتائج لكل من عينات (الماء ،التربة ، الحليب و اللحم) اذ كانت قراءة الامتصاصية 0.27، 0.29، 0.30، 0.32 نانومتر على التوالي، وقد يعزى ذلك الى تأثير المتطلبات البايوكيميائية للأوكسجين Biochemical Oxygen Demand (BOD) العالي الذي سببه المتحلل المضاف وبعض المواد السامة فضلاً عن تأثير الحمل العالي للمواد العضوية واللاعضوية (Kurbanoglu and Algur 2002).

المقارنة بين المتحللين المحضرين والببتونات التجارية بوسط مرق الببتون

يبين الجدول (٣) معدل كثافة النمو بدلالة قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٥٤٠) نانومتر للمواد الطبيعية (ماء ، تربة ، حليب و لحم) لكل من وسط الببتون السائل المحضرة من المتحللين A وB ومقارنتها مع وسطين محضرين من الببتون التجاري من شركة Himedia وDifco لفترة حضن (٢٤ و ٤٨) ساعة .

جدول (٣)مقارنة معدل قراءات الامتصاصية عند (٥٤٠) نانومتر لنمو البكتريا الهوائية الكلية لبعض المواد الطبيعية في وسط الببتون السائل لكل من المتحللينAوB المحضرة و نوعين من الببتون التجاري

العينات	الأوساط الزرعية				
	مدة الحضن/ساعة	A	B	Himedia	Difco
الماء	24	0.29	0.31	0.22	0.21
	48	0.40	0.41	0.48	0.47
التربة	24	0.25	0.28	0.31	0.23
	48	0.45	0.43	0.53	0.52
الحليب الخام	24	0.30	0.36	0.34	0.28
	48	0.42	0.41	0.55	0.60
اللحم المفروم	24	0.19	0.24	0.34	0.22
	48	0.46	0.54	0.50	0.55

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$) لكلا الوسطين وجميع العينات وللمدتين 24، 48 ساعة. ولوحظ ان القراءات لكثافة النمو عند مدة حضن ٢٤ ساعة كانت متفاوتة بين الاوساط المحضرة والتجارية وقد يرجع السبب الى قصر مدة الحضن وعدم استطاعة البكتريا للتطبيع على الاوساط المحضرة ، اما عند مدة حضن ٤٨ ساعة لوحظ ان قراءات الامتصاصية للاوساط المحضرة من المتحللينAوB لم تسجل فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$).

وبين الجدول (٤) معدل قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٥٤٠) نانومتر لبكتريا (*Streptococcus spp, Staph .aureus, L. casei, E. coli*) لكل من اوساط مرق البيتون المحضر من المتحللينAوB ومقارنتها مع وسطين محضرين من البيتون التجاري من شركة Himedia و Difco لمدة حضن (24-48) ساعة . اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$) في مدة حضن (٢٤) ساعة لجميع انواع البكتريا وجميع الاوساط المحضرة والتجارية ولوحظ ان قراءات الامتصاصية عند المدتين (24و48) ساعة كانت متقاربة اكثر من العينات الطبيعية جدول (٣) وقد يعود السبب الى تنشيط البكتريا على وسط المرق المغذي لمدة (18-٢٤) ساعة قبل تنميتها على الاوساط المحضرة مما ادى الى تطبيع البكتريا على الاوساط المحضرة بصورة اكبر من العينات الطبيعية جدول (٣).

جدول(٤) مقارنه معدل نمو بعض البكتريا الهوائية عند امتصاصية (٥٤٠) نانومتر على وسط البيتون السائل لكل من لمتحللينAوBو نوعين من البيتون التجاري

البكتريا	الأوساط الزرعية				
	مدة الحضن/ساعة	A	B	Himedia	Difco
E.coli	24	0.45	0.46	0.46	0.35
	48	0.53	0.51	0.51	0.52
L. casei	24	0.43	0.43	0.47	0.47
	48	0.52	0.59	0.55	0.56
Staph.aureus	24	0.44	0.35	0.39	0.38
	48	0.49	0.46	0.57	0.58
Streptococcus spp.	24	0.34	0.42	0.48	0.50
	48	0.46	0.47	0.51	0.53

ولوحظ ايضا من الجدول ان كل من الوسطين المحضرين من كل من المتحللينA وB له قراءة مقاربة بباقي الاوساط المحضرة من البيتون التجاري من شركي Himedia و Difco .

المقارنة بين انواع الاوساط (المرق المغذي) السائلة والصلبة المحضرة من المتحللات البروتينية والاوساط التجارية.

يوضح الجدول (٥) معدل كثافة نمو البكتريا بدلالة قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٦٠٠) نانومتر لبعض المواد الطبيعية (ماء ، تربة ، حليب واللحم) لكل من اوساط المرق المغذي المحضرة من المتحللين A وB ومقارنتها مع وسطين تجاريين المرق المغذي من شركتي Oxoid و BBL لمدتي حضن ٢٤ و ٤٨ ساعة .

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ($p<0.05$) لجميع الاوساط وجميع العينات وللمدتين ٢٤ و ٤٨ ساعة. اذ كانت قراءات الامتصاصية متقاربة مع بعضها البعض عند مدة حضن ٤٨ ساعة لكل من الوسط المحضرين من المتحللين A وB والتجاريين وقد يعود السبب الى تركيبة الوسط المغذي المحضر والذي يحتوي تركيبه على مستخلص الخميرة الذي يساعد على النمو بشكل أفضل وأسرع من الأوساط الخالية منه(Tsoraeva and Zhurbenko, 2000).

اما عند مدة الحضن ٤٨ ساعة فلوحظ ان قراءات الامتصاصية لكل من الوسطين المحضرين من المتحللين A و B كانت متقاربة مع الوسطين التجاريين Oxoid و BBL .

وضح الجدول (٦) معدل كثافة نمو البكتريا بدلالة قراءات الامتصاصية عند طول موجي (٦٠٠) نانومتر لبكتريا (Streptococcus spp, Staph.aureus, L. casei, E. coli) لكل من أوساط المرق المغذي المحضر من المتحللين A،B، ومقارنتها مع نوعين من الأوساط المرق المغذي Oxoid و BBL ولمدة حضن 24و 42ساعة، اذ يلاحظ ان معدل قراءات الامتصاصية عند مدة حضن ٢٤ ساعة لجميع البكتريا وجميع الأوساط كانت عالية ومقاربة مع قراءات الامتصاصية عند مدة حضن ٤٨ ساعة مقارنة بالعينات الطبيعية المذكورة في بالجدول (٤) وربما يعود السبب الى ان الأوساط المحضرة تحتوي على مستخلص الخميرة الذي يعد مصدرا ممتاز

للفيتامينات وبالخصوص مجموعة فيتامين B فضلاً عن ذلك انه يرفع نسبة النتروجين العضوي بالوسط (The Himidea Manual , 2003) .

جدول (٥)مقارنة معدل نمو البكتريا الهوائية الكلية عند الامتصاصية (٦٠٠) نانومتر لبعض المواد الطبيعية على وسط المرق المغذي لكل من المتحللين A و B ونوعين من الاوساط الزرعية التجارية

العينات	الأوساط الزرعية				
	مدة الحضن/ساعة	A	B	Oxoid	BBL
الماء	24	0.25	0.29	0.29	0.28
	48	0.48	0.44	0.53	0.46
التربة	24	0.26	0.32	0.31	0.33
	48	0.44	0.45	0.52	0.52
الحليب	24	0.37	0.30	0.33	0.34
	48	0.49	0.46	0.51	0.53
اللحم	24	0.22	0.28	0.34	0.32
	48	0.42	0.46	0.51	0.52

ولوحظ من الجدول ايضا ان كل من الوسطين المحضرين من المتحللين A و B لهما قراءات الامتصاصية متقاربة من قراءات الامتصاصية للأوساط التجارية Oxoid و BBL . بالرغم من وجود بعض الفروقات المعنوية بينها عند مستوى ($P<0.05$) وهذا قد يعود الى طبيعة البكتريا المستخدمة وظروف الحضن .

جدول رقم(٦)مقارنه معدل نمو بعض البكتريا الهوائية الكلية عند الامتصاصية (٦٠٠) نانومتر على وسط المرق المغذي لكل من المتحللين A و B المحضرين مع نوعين من الأوساط التجارية

البكتريا	الأوساط الزرعية				
	مدة الحضن/ساعة	A	B	Oxoid	BBL
E.coli	24	0.45	0.46	0.49	0.48
	48	0.54	0.54	0.57	0.58
L. casei	24	0.48	0.44	0.44	0.56
	48	0.57	0.57	0.62	0.61
Staph.aureus	24	0.45	0.45	0.50	0.50
	48	0.54	0.53	0.60	0.61

Streptococcus spp.	24	0.40	0.47	0.49	0.48
	48	0.54	0.53	0.57	0.57

المصادر

١. الشريك، يوسف محمد(١٩٩٦) .تكنولوجيا اللحوم ومخلفاتها (الجودة – الحفظ- التداول) – الدار العربية للنشر والتوزيع . كلية الزراعة – جامعة الفاتح ، طرابلس. ليبيا.

٢. الطائي، منير عبود جاسم. (٢٠٠٥).منتجات غذائية ودوائية من الاسماك والربيان ومخلفاتهما. Marina Mesopotamica ,20(1):157-170

٣. المظفر ، عدنان وهاب حبيب (٢٠٠٥). تصنيع متحللات بروتينية من ريش الدواجن واختبار أدائها الإنتاجي على فروج اللحم (فاوبرو). أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة بغداد.

4. A.O.A.C. (1984).Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Washigton, D.C, U.S.

5. Choudhury, G. S., and Bublitz C. G. (1996). Computer-based controls in fish processing industry. In Computerized Control Systems in the Food Industry, Mittal G.S. (Ed.),: 513-538, Inc., Marcel Dekker. New York

6. Cowan, D. (1983). Industrial enzymology, The Application in Industry. Edited by: Godfrey, T. and Reichelt, J. Mac Millian Publishers Ltd.

7. Dufosse, L. ; De La Broisse, D. and Guerard, F. (1997): Fish protein hydrolysates as nitrogen sources for microbial growth and metabolite production. Recent. Res. Devel. Microbiol.; 1: 365-381.

8. Eddleman, H. (1999). Ingredients used in microbiological media: The manufacture and purpose of these ingredients bacteria studylist- Http //:www .Diskent.com/ Indiana- boilab/b.htm .

9. Gao, M.-T.; Koide, M.; Gotou, R.;Takanashi, H.; Hirata, M.and Hano, T. (2005). Development of continuous electrodialysis fermentation system for Lactobacillus rhamnosus based production of lactic acid. Process Biochem. 40: 1033–1036.

10. Gildberg, A. and Senberg, E. (2001). Anew process for advance utilifation of shrimp waste,process Biochemistry 36: 809-812.

11. Jasim , M.A. (1983). Functional plastein from fish waste. Ph.D. Thesis Loughborough University of Technology. England.

12. Kurbanoglu, E.B.and Algur,O. F.(2002). Use of ram horn hydrolysate as peptone for bacterial growth. Turk. J. Biol.; 26: 115-123.

13. Kida, K.; Morimura, S.; Noda, J.; Nishide, Y.; Imai,T. and Dtagiri, M. (1995). Enzymatic hydrolysis of the horn and hoff of cow and buffalo .J. Fermentation and Bioengineering (Japan) 8: 478-484.

14. Lowry, O.H.; Rosebrough , N. J.;Rorr,A. L. and Randll ,R. J.(1951). Protein measurememt with the Folin phenol reagent .J.Biological Chemistry, 193:265-275.

15. Pearson, D. (1971). The Chemical Analysis of Foods.6 th. Ed. Chemical Publishing Co., Inc. New York:

16. Stephen, N.L.; Bough, W.A.; Beuchat, L.R. and Heaton, E.K. (1976). Preparation and Evaluation of Two Microbiological Media From shrimp and hulls. Applied and Environmental Microbiology, 13. 1-6.

17. The Himedia Manual. (2003). For Microbiology Cell Culture Laboratory Practice Himedia Laboratrcs PUT. Limited, A-406, Bhaveshawr Plaza, LBS .marg Mumbai-400086- India.

18. Tinnimitt, P.; mccnuffey, Y.Y. and Thomas, J.W. (1972). Bried animal Wastes as a protein supplement For sheep .J.Anim Sci., 35: 431-456.

19. Tsoraeva, A. and Zhurbenko , R.(2000). Development and characterization of a mixed nutrient base for the culture of a wide range of microorganisms. Revista latiu on mericana de microbilogia 42: 155-161.

20. Uzeh R.E.; Akiola, S.O. and Olatope, S.O.A. (2006). Production of peptone from soya beans (Glycine max L merr) and African locusts beans (Parkia biglobose). Afr. J. Biotechnol. 5: 1681-1686.

21. Yamashita, M.; Arai, S.; Goda, M.; Kato, H. and Fujimaki, M; (1970). Enzymatic modification of proteins in foodstuffs. II. Nutritive properties of soy plastein and its bio-utility evaluation in rats. J. Agric. Biol. Chem., 34:1333-1339.