متوفر على الموقع http://www.basra-science-journal.org

ISSN –1817 –2695

الاستلام 8-5-2016 ، القبول 27-9-2016

أستعمال الجيلاتين المستخلص من مخلفات الأسماك بوصفه مصدراً بروتينياً في تحضير الأوساط الزرعية البكتيرية

*صباح مالك حبيب الشطي جلال محمد عيسى النور عادل يعقوب يوسف الدبيكل

*قسم علوم الأغذية – قسم الأسماك والثروة البحرية

كلية الزراعة – جامعة البصرة – البصرة – العراق

الخلاصة

أجريت الدراسة الحالية لإستخلاص الجيلاتين من المخلفات السمكية (جلود أسماك البلطي *Tilapia zilli* والمثانة الغازية لأسماك الكارب الأعتيادي *Cyprinus carpio* L. ورؤوس أسماك المخيط *Ablennes hians*) بأستعمال الطريقة الكيميائية تحت ظروف حامضية و قاعدية وإمكانية أستعماله بوصفه مصدراً حيوياً للنتروجين في الوسط الزرعي للبكتريا، أظهرت نتائج التحليل الكيميائي أن الجيلاتين أحتوى نسبة عالية من البروتين بلغت 85.82 ، 87.89 ، 81.34 % لكل من جيلاتين مخلفات الجلود والمثانة الغازية والرؤوس على التوالي، وتبين من تركيب الأحماض الأمينية لأنواع الجيلاتين الثلاثة المدروسة أن الجيلاتين الخام يمتلك تركيبا جيد التوازن من الأحماض الأمينية حيث أحتوى على 17 حامض أميني دون نقص حاد أو فقدان في الأحماض الأمينية، استخدمت المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* لاختبار الجيلاتين الخام المنتج بوصفه مصدراً نتروجينياً في الأوساط الزرعية. وأوضحت نتائج النمو أن أنواع الجيلاتين الثلاثة أظهرت كفاءة جيدة في نمو البكتريا مقارنة مع الجيلاتين القياسي أو الوسط الزرعي الجاهز المحتوي على الجيلاتين بالأساس . وقد أعطى الوسط الزرعي الداخل في تحضيره جيلاتين الجلد أعلى مستويات لنمو البكتريا مقارنة مع بقية أنواع الجيلاتين.

الكلمات المفتاحية : مخلفات الأسماك، جيلاتين خام، أحماض أمينية، أوساط زرعية، المكورات العنقودية الذهبية.

المقدمة

أن عملية تنظيف الأسماك وتصنيع منتجاتها تنتج العديد من المخلفات الثانوية الصلبة ذات القيمة الغذائية العالية التي تتراوح نسبتها بين 50 – 80 % من المادة الخام الأصلية متضمنة الرأس والقشور والزعانف والذيل والأحشاء الداخلية ويشكل الجلد والعظام ذات المحتوى العالي من الكولاجين حوالي 30 % من هذه المخلفات (Wasswa *et al*., 2007 ; Shahidi, 1994) فضلاً عن الأسماك غير الملائمة للتصنيع المباشر التي غالياً ماتصطاد بشكل غير مقصود التي تشكل 30 – 60 % من الصيد الإجمالي (Shahidi, 1994) أو بسبب لونها أو حجمها أو نوعها أو تلفها أثناء النقل والتداول والتصنيع (الطائي، 1987). من الخطط المهمة لتقليل التلوث البيئي والصحي الناتج من المخلفات السمكية هي أسترداد المنتجات الثانوية ذات القيمة الغذائية العالية (Ghaly *et al*., 2013 ; Ben Rebah and Miled, 2012) وفي أغلب الأحيان تعالج المخلفات السمكية الى بعض المنتجات الثانوية باستعمال الطرق الكيميائية والإنزيمية والفيزيائية وإنتاج مركبات ذات خصائص وظيفية جيدة يمكن أستعمالها في الأنظمة الغذائية مثل البروتينات النشطة بيولوجياً والمركزات البروتينية المحورة والأحماض الأمينية والجيلاتين والمواد الملونة (الطائي، 2005).

يستعمل الجيلاتين طبياً في تحضير الأوساط الزرعية بوصفه مصدراً أساسياً للنتروجين والأحماض الأمينية أو كمادة مثبتة ومجلتنة للوسط الغذائي الخاص بنمو الأحياء المجهرية (الأسود، 2000 Karim and ; Bhat, 2009. أن البيئة الزرعية هي الوسط المستخدم لزراعة ونمو الأحياء المجهرية الذي يحتوي على جميع المتطلبات الضرورية للنمو وأنتاج الطاقة كالمواد المغذية ومنها الببتيدات المتعددة والببتيدات قصيرة السلسلة والأحماض الأمينية الحرة ومصادر الطاقة والكاربون (Barrow and Feltham, 2002)، وتصنف الأوساط الزرعية على أساس تركيبها الكيميائي الى نوعين الأول الأوساط الزرعية معروفة التركيب الكيميائي والتي تتكون من خلطات معروفة من الأحماض الأمينية والنوع الثاني هي الأوساط الزرعية غير معروفة التركيب الكيميائي التي تتكون من نسيج حيواني أو نباتي مثل مستخلص اللحم والببتون (Bridson, 1994). على الرغم من قدرة الكائنات الحية غير ذاتية التغذية على أستخدام تشكيلة من المركبات العضوية بوصفه مصدراً للكاربون لاحتياجات التخليق الحيوي ألا أنها تزرع في المختبر على أوساط غذائية تحتوي على المغذيات الضرورية (الرجب والقزاز، 1986). ذكر أبو الذهب وآخرون (1997) أن الأحياء المجهرية لكي تنمو بصورة جيدة تحتاج الى ما يسمى بعوامل النمو الضرورية لبناء الخلية والتي تشمل فيتامينات وأحماض أمينيه معينة، وأن مصادر النيتروجين هي الأكثر تكلفة في تحضير الأوساط الزرعية الميكروبية وقد أجريت العديد من الدراسات حول أستعمال النواتج الثانوية للأسماك بوصفه مصدراً مغذياً للأحياء المجهرية (Poernomo and Buckle, 2002)، وقد ذكر Kandra *et al*., (2012) أستعمال مخلفات الأسماك والروبيان كمصدر للببتون غني بالمركبات النتروجينية التي تكون جاهزة للأستهلاك من قبل الإحياء المجهرية لغرض النمو (Ovissipour *et al*., 2009 ; Dufosse *et al*., 2001). للأستفادة من مخلفات الأسماك وعدم رميها ولمحتواها العالي من الكولاجين الذي يمكن أن يحتوي على الجيلاتين لذا أجريت هذه الدراسة لمعرفة إمكانية أستعمال

الجيلاتين المحضر من مخلفات الأسماك وتقييم كفاءته بوصفه مصدراً نتروجينياً في تحضير الوسط الزرعي الخاص بزراعة وتنمية الأحياء المجهرية عليه.

المواد وطرائق العمل

أستخدم في الدراسة جلود أسماك البلطي *Tilapia Zilli* التي حصل عليها من (أسماك البلطي كاملة) من أسواق محافظة البصرة، بعد جلب العينات للمختبر غسلت جيداً بالماء ونزعت أحشائها الداخلية وقطعت الرؤوس وعزل الجلد عن العضلات والعظام بأستخدام سكاكين حادة وقطعت الجلود الى قطع صغيرة ومن ثم غسلت جيداً بالماء، أما المثانة الغازية لأسماك الكارب الأعتيادي *Cyprinus carpio* L. تم الحصول عليها من الأسواق المحلية لمحافظة البصرة التي تكون نواتج عرضية لعملية تنظيف الأسماك الطازجة وبعد جمع العينات تم غسلها جيداً بماء الحنفية، كما جمعت رؤوس أسماك المخيط *Ablennes hians* من سوق البصرة وهي عبارة عن مخلفات ثانوية لبيع أسماك المخيط، ثم غسلت جيداً بماء الحنفية لإزالة الأوساخ والمواد العالقة وبعدها تم تكسير الرؤوس وتقطيعها الى قطع صغيرة بأستخدام السكاكين الحادة.

أستخلاص الجيلاتين من مخلفات الأسماك

أستخلص الجيلاتين حسب طريقة Grossman and Bergman (1992) إذ قطعت مخلفات الأسماك المدروسة الى قطع صغيرة ووضعت في أوعية بلاستكية سعة 10 لتر، عوملت المخلفات بمحلول هيدروكسيد الصوديوم 0.2 % تبعها المعاملة الثانية بأستخدام حامض الكبريتيك المركز تركيز 0.2 % ومن ثم نقعت العينات مباشرة بحامض الستريك بتركيز 1% وبنسبة (1 : 6) (وزن:حجم) لمدة 50 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة لكل معاملة، غسلت العينات جيداً بالماء المقطر وخلطت بالخلاط الكهربائي لمدة دقيقة واحدة لغرض تجانسها ووضعت بالماء المقطر بنسبة (1 : 2.5) (و : ح) وبدرجة حرارة 45 م° ولمدة 18 ساعة لأستخلاص الجيلاتين. رشحت العينات بإستعمال قطعة قماش ململ وأزيلت الدهون والبقايا، أما الراشح فقد ركز بأستخدام المبخر الدوراني Rotary Evaporator على درجة حرارة 70 م° لمدة 2 ساعة، جفف الناتج بالفرن الأعتيادي بدرجة حرارة 50 م° وطحن المنتوج بالمطحنة الكهربائية وخزن بالثلاجة على درجة حرارة (4 – 8) م° لأجراء الفحوصات .

دور الجيلاتين في تحضير الوسط الزرعي

حضر الوسط الزرعي Staph N0 110 في المختبر حسب ما ذكر (Andrews, 1997) والمكون من (Yeast extract 2.5 g ، Tryptone 10 g ، Lactose 2 g ، Mannitol 10 g ، NaCl 75 g ، K_2HPO_4 5 g ، Gelatin 30 g و Agar 15 g)، خلطت المكونات وأذيبت في الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى 1 لتر، عدل الأس الهيدروجيني للوسط الى 7.1 وعقم بالمؤصدة (Autoclave) بدرجة حرارة 121 م° وضغط 15 باوند/أنج^2 ولمدة 15 دقيقة. عزلت المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aures* من الجبن الأبيض الطري المحلي المملح ونميت على الوسط الزرعي المحضر والذي قورن مع الوسط الزرعي الجاهز Staph N0 110 لملاحظة كفاءته في تنمية البكتريا وقد أستخدمت طريقة الصب بالأطباق Pour plate count وطريقة النشر والتخطيط، بعد الزرع حضنت الأطباق عند درجة حرارة 35 م° لمدة 48 ساعة وحسبت أعداد المستعمرات الذهبية النامية.

التحليل الإحصائي

حللت البيانات إحصائيا بالبرنامج الإحصائي الجاهز SPSS (2001) وأستعمل التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) واختبرت العوامل المدروسة باستخدام اقل فرق معنوي المعدل (RLSD) عند مستوى احتمال (0.05) وذلك حسب (الراوي وخلف الله، 2000).

النتائج والمناقشة

التركيب الكيميائي للجيلاتين الخام

يظهر الجدول (1) التركيب الكيميائي لمنتوج الجيلاتين المحضر إذ أتضح من النتائج أن جيلاتين المثانة الغازية كان مرتفعاً في محتواه من البروتين 87.89 %، أما نسبة البروتين في الجيلاتين المحضر من الجلد فكانت 85.82 % وبفارق معنوي ($p<0.05$) وأن أقل نسبة كانت للبروتين للجيلاتين المستخلص من رؤوس أسماك المخيط التي بلغت 81.34 %. ويعزى سبب أختلاف نسبة البروتين في الجيلاتين المستخلص الى تباين محتواه ونسبته في المصادر المستعملة للأستخلاص والذي يعكس ويؤثر بدوره على نسبته في الجيلاتين الناتج منها، فيما يتعلق بمحتوى الدهن فقد أظهرت النتائج أن أعلى نسبة دهن تم الحصول عليها 4.22 % للجيلاتين المحضر من رؤوس المخيط في حين كانت أدنى قيمة للدهن 1.02 % لمنتوج الجيلاتين المستخلص من المثانة الغازية كما لوحظ من الجدول بأن نسبة الدهن في جيلاتين الجلد هي 1.29% وأشارت نتائج التحليل الإحصائي الى وجود فروق معنوية ($p<0.05$) بين جيلاتين الرؤوس من جهة وجيلاتين الجلد والمثانة الغازية من جهة أخرى ويعود هذا التباين في محتوى الدهن الى أختلاف مصادر مخلفات الأسماك المستخدمة في الأستخلاص حيث لوحظ زيادة محتوى الدهن في مخلفات الرؤوس بدرجة كبيرة عن نسبة الدهن في بقية المخلفات الأخرى المستعملة كجلود أسماك البلطي والمثانة الغازية لأسماك الكارب مما أدى الى أرتفاع نسبتها في منتوج الجيلاتين المحضر منها، كذلك يتضح من جدول (1) بأن هناك أختلافاً في نسبة الرماد لأنواع الجيلاتين المحضر فقد أرتفعت نسبة الرماد في معاملة جيلاتين رؤوس المخيط وقد بلغ متوسط نسبة الرماد فيها 3.88 % وأنخفضت هذه القيمة الى 2.26 % في جيلاتين جلد البلطي في حين أحتوى جيلاتين المثانة الغازية على نسبة رماد بلغت 2.92 %. ويعزى سبب أرتفاع نسبة الرماد في جيلاتين المستخلص من الرؤوس الى أرتفاع نسبة الرماد في مخلفات رؤوس المخيط المستعملة للأستخلاص مقارنة بالمصادر الأخرى وبالنتيجة ينعكس هذا المحتوى على نسبة الرماد في المواد الناتجة منها. وقد بين كل من Simeonova and Dalev (1997) و البياتي (2005) أن نسبة الرطوبة تتناسب تناسباً عكسياً مع نسبة الرماد عند دراستهما التركيب الكيميائي للجيلاتين وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود أختلافات معنوية بين جميع أنواع الجيلاتين المدروس عند مستوى أحتمال ($p<0.05$). في المحتوى الرطوبي فقد لوحظ بأن جيلاتين الجلد سجل أعلى نسبة للرطوبة والبالغة 9.00 % يليها في ذلك جيلاتين المثانة الغازية وقد بلغت 7.72 % في حين كانت نسبة الرطوبة لجيلاتين الرؤوس 6.65 %. أن هذا التباين في نسبة الرطوبة بأختلاف المصادر المستعملة قد يعود لأختلاف نسبتها في هذه المصادر والذي يؤثر في الناتج وقد يعود أيضاً لأرتفاع نسبة المواد الصلبة في المواد التي تنخفض نسبة الرطوبة فيها (AMIF, 1990). بينت النتائج الإحصائية بأن الرطوبة أختلفت معنوياً بين جميع أنواع الجيلاتين عند مستوى أحتمال ($p<0.05$). إن التباين في التركيب الكيميائي للجيلاتين المنتج جاء متوافق مع دراسة عبد الرحيم (1999) والعطار (2002) وجاسم و آخرون (2003) عند تقديرهم لنسب التركيب الكيميائي

في الجيلاتين المستخلص من المخلفات الحيوانية وأن التباين مع دراسة Bigi *et al.*, (2004) و Jakhar *et al.*, (2012) ودراسة Khiari *et al.*, (2011) حول التركيب الكيميائي للجيلاتين المستخلص من مخلفات أسماك الماكريل في التركيب الكيميائي للجيلاتين المنتج جاء متوافقاً بإستعمال أنواع مختلفة من الحوامض العضوية إذ بلغ أعلى قيمة للبروتين 89.4 % وكانت قيمة الدهن 0.8 % في حين بلغت نسبة الرطوبة 7.7 % والرماد 1.6 %.

جدول (1) التركيب الكيميائي للجيلاتين المستخلص قيد الدراسة

نوع الجيلاتين	المكونات (%)			
	الرطوبة	الرماد	الدهن	البروتين
جيلاتين جلد البلطي	9.00 a	2.26 a	1.29 a	85.82 a
جيلاتين المثانة الغازية	7.72 b	2.92 b	1.02 a	87.89 a
جيلاتين رؤوس المخيط	6.65 c	3.88 c	4.22 b	81.34 b

***الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($p<0.05$).**

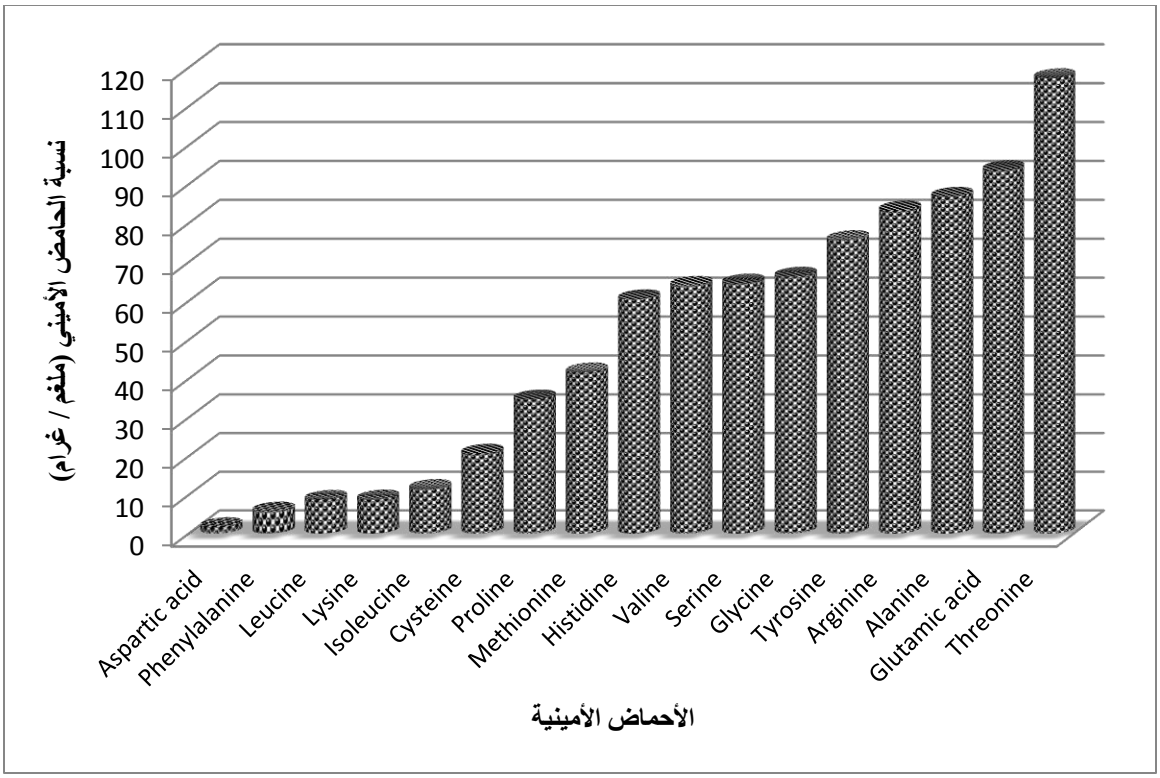
تركيب الأحماض الأمينية وتحليلها للجيلاتين المستخلص

تبين نتائج جدول (2) والأشكال (1 و 2 و3) تحليل الأحماض الأمينية بواسطة تقنية HPLC للجيلاتين المحضر من مخلفات الأسماك قيد الدراسة، وقد بينت النتائج أحتواء الأنواع الثلاثة من الجيلاتين المستخلص على 17 حامضاً أمينياً وقد تباينت الأحماض الأمينية بنسب تواجدها في أنواع الجيلاتين فقد تميز جيلاتين الجلد بأرتفاع الحامض الأميني Threonine 117.204 ملغم /غرام في حين بلغت أعلى نسبة للحامض الأميني Glutamic acid في جيلاتين المثانة وكانت 141.717 ملغم /غرام وللحامض الأميني Alanine 96.062 ملغم /غرام في جيلاتين رؤوس المخيط فيما كانت نسبة الحامض Valine منخفضة وبمقدار 19.11 ملغم /غرام وبالمقابل كان حامض الـ Aspartic acid هو الأقل في جيلاتين الجلد والمثانة وبنسبة 1.851 و 2.862 ملغم /غرام على التوالي، ويعزى أختلاف نسبة الأحماض الأمينية المكونة للبروتينات الى أختلاف نوع المصدر والمادة الأولية المستعملة في الأستخلاص وقد ذكر العديد من الباحثين أن نسب الأحماض الأمينية في الجيلاتين يعتمد بالأساس على المادة الخام والمعاملات الحرارية والكيميائية المستخدمة للأستخلاص، وبصورة عامة أن حامض الأسبارتك والكلوتاميك وبسبب نشاطهما الحامضي العالي يكونان أكثر تأثراً بالمعاملة الحامضية الحادة فيما تختلف درجة تأثر الحوامض الأخرى بالمعاملة الحرارية. وجاءت النتائج متفقة مع دراسة Duan *et al.*, (2011) عن وجود أختلاف وتباين في نسبة وكمية الأحماض الأمينية للجيلاتين المستخلص من جلود أسماك الكارب بأختلاف فصول السنة ووجد أن محتوى الكلايسين حوالي 33 % من نسبة بقية الأحماض، كما توافقت النتائج الحالية مع Badii and Howell (2006) إذ بين حصول تباين واضح في تركيب الأحماض الأمينية ونسبها بين أنواع الجيلاتين المحضر من مصادر مختلفة من الأسماك. أن تباين نسب الأحماض الأمينية تبعاً لنوع الجيلاتين المحضر أكده العديد من الباحثين، حيث أوضح Khiari *et al.*, (2011) أن تركيب ونسب الأحماض الأمينية للجيلاتين المحضر من مخلفات الأسماك كانت متباينة في جميع أنواع الجيلاتين وكان الحامض الأميني الكلايسين هو الحامض الأميني الرئيس مع محتويات مرتفعة من البرولين والهيدروكسي برولين والألنين وحامض

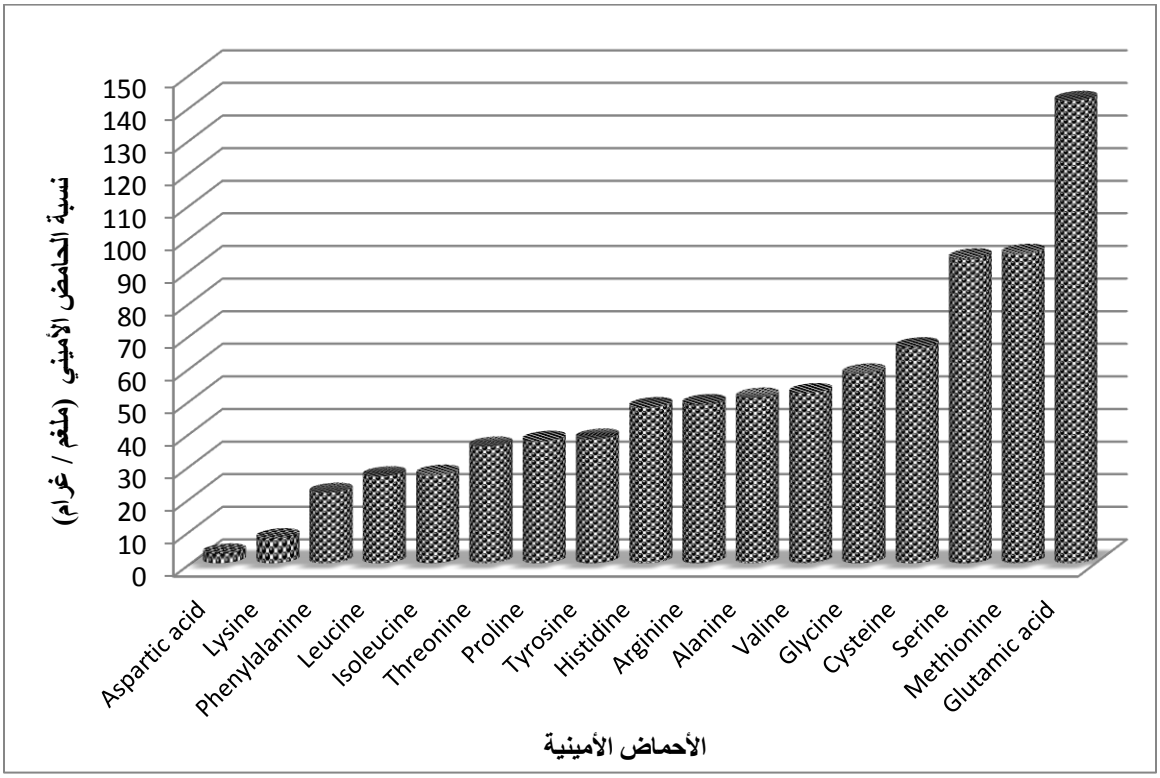
الكلوتامك، وكما توافقت النتائج مع دراسة Kim and Park (2004) إذ لاحظوا أختلافات يسيرة في محتوى الأحماض الأمينية تبعاً لنوع الحامض العضوي المستخدم وذكروا أن مستويات البرولين والهيدروكسي برولين حيث أنخفضت بشكل خاص في الجيلاتين المستخلص بحامض اللاكتيك. وجاءت النتائج متفقة مع ما لاحظه Binsi *et al.*, (2009) في دراسته حول تركيب الأحماض الأمينية لجلود أسماك Big eye snapper فقد وجدوا هناك تباين واضح في النسب إذ كانت نسبة الحامض الأميني الكلايسين مرتفعة عن بقية الأحماض الأمينية الأخرى. كما تتفق النتائج الحالية مع العديد من الدراسات الذين بينوا حصول فرق واضح في نسب وكمية الأحماض الأمينية للجيلاتين المحضر منها دراسة (Arnesen and Gildberg, 2002 ، Cho *et al.*, 2006 ، Jellouli *et al.*, 2011).

جدول (2) نسبة الأحماض الأمينية المكونة للجيلاتين المستخلص من مخلفات الأسماك (ملغم /غرام)

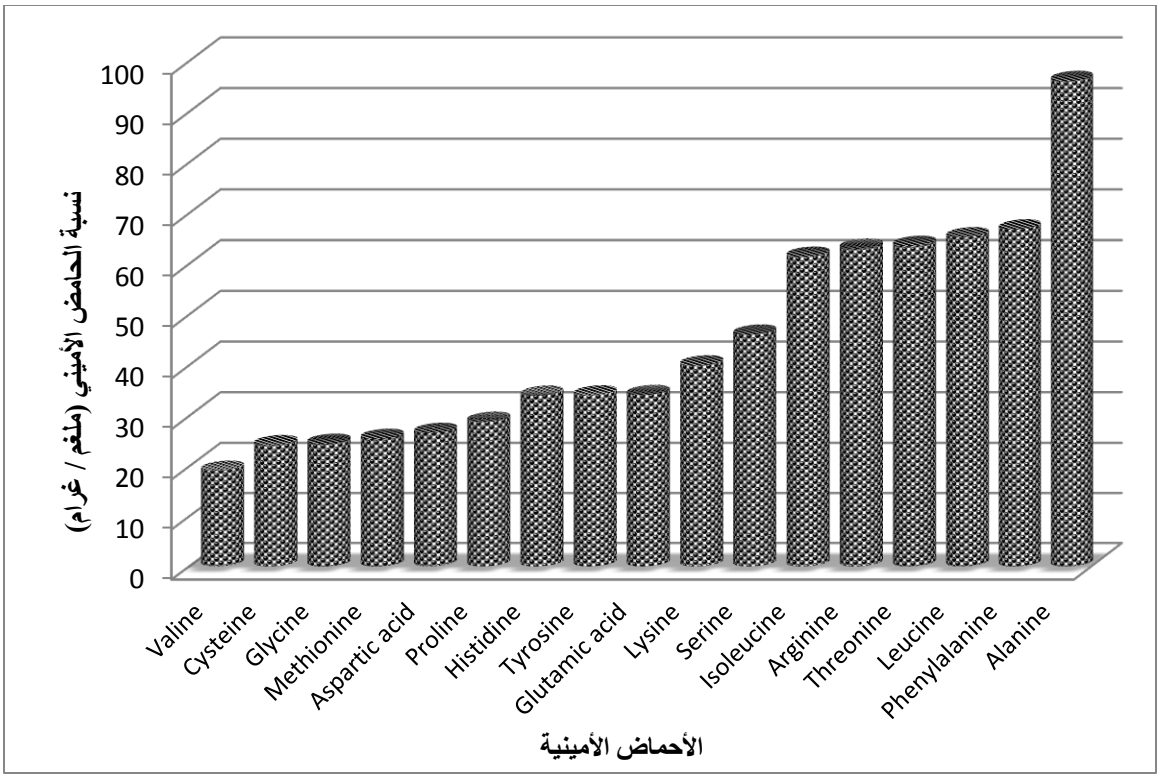
الحامض الأميني	نوع الجيلاتين		
	جيلاتين جلد البلطي	جيلاتين المثانة الغازية للكارب	جيلاتين رؤوس المخيط
Aspartic acid	1.851	2.862	26.613
Glutamic acid	93.572	141.717	34.105
Serine	64.443	93.379	46.009
Glycine	66.196	58.065	24.484
Histidine	60.358	47.747	33.952
Arginine	83.194	48.678	62.976
Threonine	117.204	35.680	63.516
Alanine	86.728	50.760	96.062
Proline	34.608	37.438	28.28
Tyrosine	75.579	38.134	34.008
Valine	63.822	52.037	19.119
Methionine	41.580	94.773	25.440
Cysteine	20.589	66.101	24.201
Isoleucine	11.482	27.021	61.375
Leucine	8.657	26.550	65.213
Phenylalanine	5.638	21.522	66.770
Lysine	8.726	7.533	39.930



شكل (1) نسبة الأحماض الأمينية للجيلاتين المحضر من جلود أسماك البلطي



شكل (2) نسبة الأحماض الأمينية للجيلاتين المحضر من المثانة الغازية لأسماك الكارب الأعتيادي



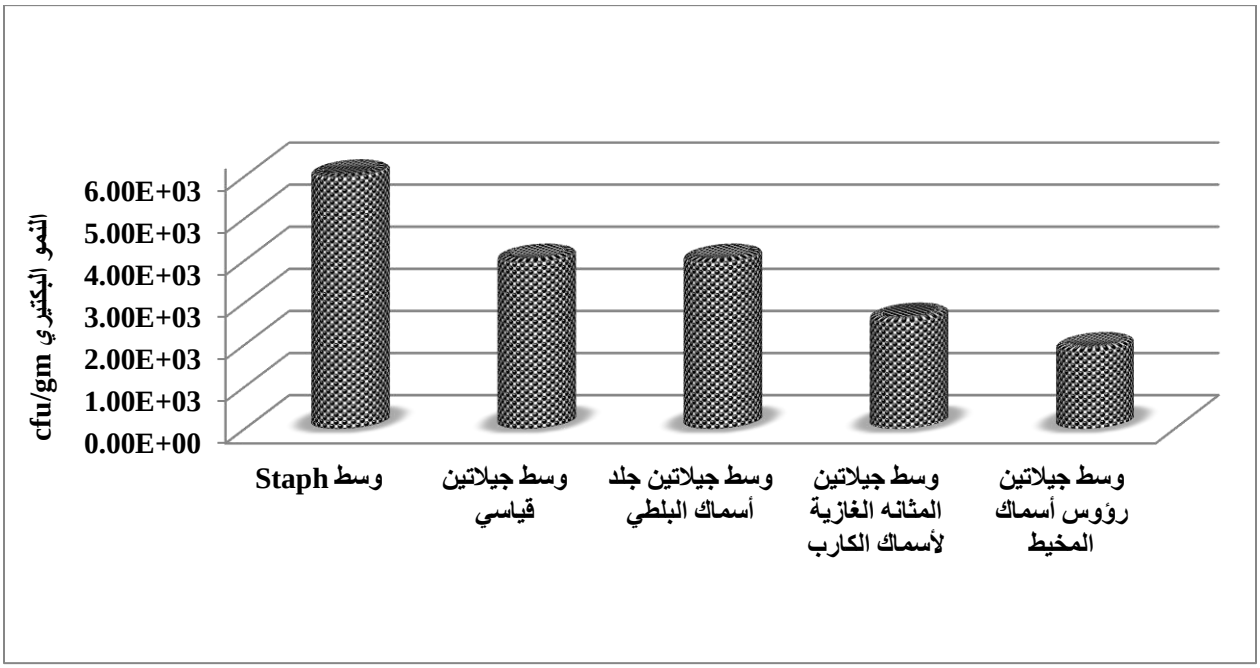
شكل (3) نسبة الأحماض الأمينية للجيلاتين المحضر من رؤوس أسماك المخيط

دور الجيلاتين كمادة مغذية في الوسط الزرعي البكتيري

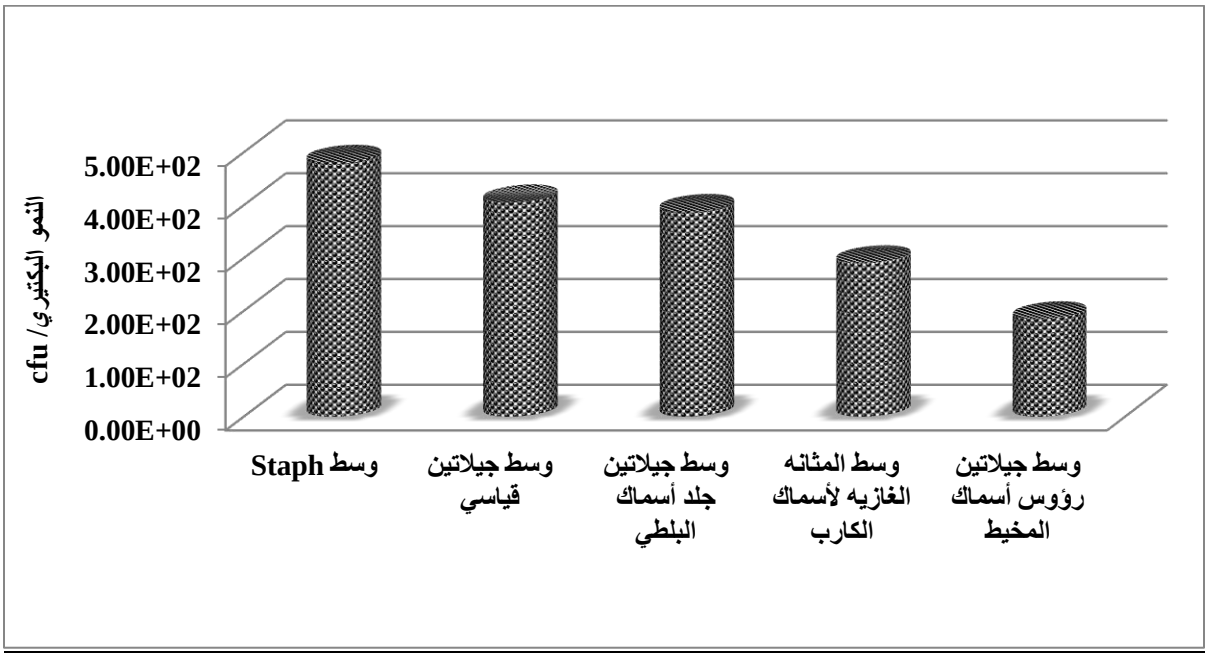
توضح النتائج المبينة في الشكلين (4 و 5) أختبار كفاءة الجيلاتين الأمثل والملائم لنمو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المعزولة من مصدر طبيعي (الجبن الأبيض الطري المحلي) بطريقة الصب بالأطباق وبطريقة التخطيط والنامية على وسط زرعي ثابت المكونات ومختلف من ناحية مصدر النتروجين والكاربون عن طريق أدخال بعض أنواع الجيلاتين المستخلص من مخلفات الأسماك في تحضير الوسط الزرعي ومتابعة أعداد النمو بالمقارنة مع أوساط السيطرة كوسط Staph 110 الجاهز والوسط المستخدم فيه الجيلاتين المستورد، أظهرت النتائج بأن أعلى القيم لعدد البكتريا العنقودية كان في الوسط الزرعي Staph 110 حيث بلغت 6000 cfu/g، كما لوحظ من الجدول بأن كل من الوسطين الزرعين المحضرين بأستخدام الجيلاتين القياسي والجيلاتين المستخلص من جلود أسماك البلطي سجلت أعداد متساوية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *s* إذ بلغت المعدلات 4000 cfu/g لكل منهما، أما باقي الأوساط المحضرة من أنواع الجيلاتين الأخرى فقد بلغ عدد البكتريا العنقودية المذهبة 2600 cfu/g للوسط الزرعي المحضر من جيلاتين المثانة الغازية لأسماك الكارب وأخذت هذه القيم بالأنخفاض حتى وصلت الى أدنى معدل لنمو البكتريا المذهبة في الوسط الزرعي المحضر من جيلاتين رؤوس أسماك المخيط حيث كان معدل النمو 1900 cfu/g. أن تأثير نوع الجيلاتين المستعمل في تحضير الوسط على الأعداد النامية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية بطريقة التخطيط أظهرت حصول الوسط الزرعي Staph 110 على أعلى معدل لكثافات النمو البكتيري إذ بلغت 480

cfu/g أما الأوساط الزرعية الأخرى المحضرة من باقي أنواع الجيلاتين فقد تفاوتت النتائج فيما بينها ولكن لوحظ بأن أدنى النتائج كانت للوسط المحضر من جيلاتين رؤوس المخيط إذ كان المعدل 184 cfu/g. لوحظ من الشكل (5) أيضاً تفوق الوسط الزرعي المحضر من الجيلاتين المستورد على بقية الأوساط الزرعية المحضرة من الجيلاتين المستخلص من مخلفات الأسماك إذ بلغ معدل نمو البكتريا الذهبية له 405 cfu/g في حين كان المعدل متقارب في الوسط الحاوي على جيلاتين الجلد والذي بلغ 397 cfu/g، أما معدل لوغاريتم عدد البكتريا العنقودية الذهبية والنامية على الوسط الزرعي المحضر من جيلاتين المثانة الغازية لأسماك الكارب فقد بلغ 290 cfu/g. يلاحظ من الشكل (5) بأن جميع أنواع الجيلاتين المحضر لها القابلية الواسعة على دعم نمو البكتريا ولكن بنسب متفاوتة عند تحضير الوسط الغذائي الصلب، ويعزى السبب في أختلاف أعداد البكتريا النامية بأختلاف نوع الجيلاتين المستخدم في تحضير الأوساط الزرعية الى التباين في مكونات ونسب المركبات الضرورية المدعمة للنمو كالبروتينات والأحماض الأمينية والفيتامينات والمعادن الضرورية لنمو البكتريا، وعلية فالأوساط الزرعية ذات النمو البكتيري الجيد تحتوي على جميع المكونات الضرورية للنمو بالنسب المتعادلة والكافية. جاءت هذه النتائج متفقة مع دراسة Badrunnisa *et al.*, (2011) حول أستعمال الجيلاتين في الأوساط الزرعية كمادة غذائية ومدعمة لنمو أنواع مختلفة من البكتريا الكروية والعنقودية وقد بينت نتائجهم فعالية الجيلاتين في نمو جميع أنواع البكتيرية حيث أعطت جميع الفحوصات نتيجة موجبة لنمو البكتريا. توافقت النتائج مع ما توصل أليه Baranenko *et al.*, (2013) حيث أستعمل الجيلاتين بنسبة 2 % كمادة مدعمة وأساسية في الوسط الزرعي لنمو البكتريا وأظهرت نتائجهم بأن الجيلاتين كان فعالاً في نمو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية . كما بين Chakraborty *et al.*, (2011) أمكانية أستعمال الجيلاتين بوصفه عنصراً أساسياً في تحضير الوسط الزرعي لنمو بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وقد بينت نتائجهم قابلية البكتريا على تحليل الجيلاتين والأستفادة من مكوناته الرئيسية الضرورية للنمو وعلية توافقت نتائج الدراسة الحالية مع ما أشاروا اليه حول دور الجيلاتين في تعزيز النمو البكتيري لكونه مادة متكاملة القيمة الغذائية. أما Gotz *et al.*, (2006) فدرس أمكانية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وبكتريا *Micrococcus* من الأستفادة من الجيلاتين المحضر في الوسط الزرعي كمصدر للنتروجين خلال النمو. وتوافقت النتائج مع Kumari *et al.*, (2012) الذي بين قابلية بكتريا *Bacillus* spp. على النمو في أوساط زرعيه مكونة من مصادر طبيعة كالنشأ والكلوكوز والجيلاتين إذ بين أمكانية البكتريا على تحليل الوسط الزرعي الجيلاتيني عن طريق الأنزيمات المحللة للجيلاتين وبينت نتائجهم قابلية البكتريا على تميؤ جزيئية الجيلاتين وتحويلة الى مركبات عديدة اخرى ممكن ان تستفاد منها البكتريا في التغذية والنمو عند تنوفر الظروف المثلى للنمو. جاءت نتائج الدراسة متفقه أيضاً مع Chakraborty *et al.*, (2011) حول أستعمال الجيلاتين بوصفه عنصراً أساسياً في تحضير البيئة الزرعية لتنمية البكتريا العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وبين احتوائه على المكونات الضرورية للنمو التي يمكن للبكتريا الأستفادة منها، كما أتفقت النتائج مع Chunyu *et al.*, (2012) بأجراء مقارنة بين البكتريا المحللة للجيلاتين وغير المحللة عند تنميتها وحضنها على الوسط الزرعي لمدة 24 ساعة.

خلصت الدراسة الى أمكانية استخدام الجيلاتين المستخلص من جلود الأسماك هو الأفضل. المستخلص من مخلفات الأسماك وإدخاله في تحضير الاوساط الزرعية للبكتريا وقد كان الجيلاتين



شكل (4) أعداد بكتريا *S. aureus* ونموها على الأوساط الزرعية المحضرة بطريقة الصب



شكل (5) أعداد بكتريا *S. aureus* ونموها على الأوساط الزرعية المحضرة بطريقة التخطيط

المصادر

أبو الذهب، مصطفى كمال و الكشيري، محمد حسن محمد و القزاز، سيد أحمد و شعيب، عالية عبد الباقي (1997). عالم البكتيريات، التجارب المعملية الأساسية، الجزء الثاني. مطبعة دار المعارف، جمهورية مصر العربية.

الأسود، ماجد بشير (2000). علم وتكنولوجيا اللحوم. الطبعة الثالثة، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، 466 ص.

البياتي، محمود محمد أحمد (2005). أنتاج الجيلاتين من المخلفات الحيوانية ودراسة صفاته النوعية على فترات خزنية مختلفة. ***أطروحة دكتوراه***، كلية الزراعة، جامعة البصرة، 190 ص.

الراوي، خاشع محمود و خلف الله، عبد العزيز محمد (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، الطبعة الثانية، دار الكتب للطباعة والنشر، كلية الزراعة والغابات، جامعة الموصل، 488 ص.

الرجب، وفاء جاسم و القزاز، حسن محمد علي (1986). علم الأحياء المجهرية، الجزء الأول، كتاب مترجم، مطبعة الجامعة، جامعة الموصل، 677 ص.

AMIF: American Meat Institute Foundation (1990). The science of meat and meat products. New York.

Andrews, W. (1992). Manual of food quality control. 4. Rev. 1.Microbiological analysis. FAO ***Food and Nutrition Paper, No.14/4 (Rev.1).***, Rome, Italy, 347 p.

الطائي، منير عبود جاسم (1987). تكنولوجيا اللحوم والأسماك. مطبعة دار الكتب، جامعة البصرة، 421 ص

الطائي، منير عبود جاسم (2005). منتجات غذائية ودوائية من الأسماك والروبيان ومخلفاتهما. مجلة وادي الرافدين لعلوم البحار، 20 (1) : 157 – 170.

العطار، إيمان جابر جاسم (2002). إستخلاص الجيلاتين من عظام الأبقار وأستعماله في بعض الصناعات الغذائية. ***رسالة ماجستير***، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

جاسم، منير عبود و أحمد، بتول عبد الرحيم و أحمد، محمود محمد (2003). إستخلاص الجيلاتين من عظام الدجاج ودراسة تركيبه الكيميائي وخواصه الحسية والوظيفية. ***مجلة أبحاث البصرة***، 1، (29) : 109 – 118 .

عبد الرحيم، بتول عبد الرحيم أحمد (1999). دراسة الخواص الحسية والكيميائية والوظيفية لفترات خزن مختلفة للجلاتين المستخرج من العظام. ***رسالة ماجستير***، كلية الزراعة، جامعة البصرة، 75 ص.

Arnesen, J. A. and Gildberg, A. (2002). Preparation and characterisation of gelatin from the skin of harp seal (*Phoca groendlandica*). ***Bioresource Technology***, 82 : 191–194.

Badii, F. and Howell, N. K. (2006). Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. ***Food Hydrocolloids***, 20 (5) : 630 – 640.

N.K.(2009). Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Big eye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. ***Food Hydrocolloids***, 23(1) : 132 – 145.

Bridson, E.Y. (1994). The development, manufacture and control of microbiological culture media. Unipath Limited, UK.186p

Chakraborty, S. P.; Mahapatra, S. K. and Roy, S. (2011). Biochemical characters and antibiotic susceptibility of (*Staphylococcus aureus*) isolates. ***Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine,*** 212 – 216.

Cho, S.; Jahncke, M. L.; Chin, K. and Eun, J. (2006). The effect of processing conditions on the properties of gelatin from skate (*Raja Kenojei*) skins. ***Food Hydrocolloids***, 20 (6) : 810 – 816.

Chunyua, F.; Jiana, Z.; Jingb, D. and Xingxiub, Z. (2012). Isolation and preliminary identification of fermentation bacteria from activated sludge of an AFB of treating slaughter wastewater**.** ***International Conference***

Badrunnisa, S.; Shantaram, M. and Pai, V. R. (2011). Isolation, characterization and identification of bacteria from coolant oils. ***International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology,*** 2 (3) : 1 – 9.

Baranenko, D.; Kolodyaznaya, V.S. and Zabelina, N. (2013). Effect of composition and properties of chitosan based edible coatings on microflora of meat and meat products. ***Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria ,*** 12 (2) : 149 – 157.

Barrow, G. I. and Feltham, R. K. A. (2003). Cowan and Steels' Manual for the identification of medical bacteria, 3rd ed., Cambridge University Press . 209 p.

Ben Rebah, F. B. and Miled , N. (2012). Fish processing wastes for microbial enzyme production: a review**.** ***3 Biotech ,*** 3 (4) :255 – 265.

Bigi, A.; Panzavolta, S., and Rubini, K. (2004). Relationship between triplehelix content and mechanical properties of gelatin films. ***Biomaterials,*** 25 : 5675 – 5680.

Binsi, P.K.; Shamasundar, B.A.; Dileep, A.O.; Badii, F. and Howell

from fish skin. ***United States Patent,*** **No**. 5,093,474.

Jakhar, J.K.; Reddy, A.D.; Maharia, S.; Devi, H.M.; Reddy, G.V.S. and Venkateshwarlu, G. (2012). Characterization of fish gelatin from Blackspotted Croaker (*Protonibea diacanthus*). ***Archives of Applied Science Research***, 4 (3) :1353 – 1358.

Jellouli, K.; Balti, R.; Bougatef, A.; Hmidet, N.; Barkia, A. and Nasri, M. (2011). Chemical composition and characteristics of skin gelatin from grey triggerfish (*Balistes capriscus*). ***LWT - Food Science and Technology,*** 44(9): 1965 – 1970.

Kandra P., Challa, M.M. and Jyothi, H.K. (2012). Efficient use of shrimp waste: present and future trends. ***Applied Microbiology and Biotechnology***, 93(1):17-29.

Karim, A.A. and Bhat, R. (2009). Fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. ***Food Hydrocolloids***, 23(3) : 563 – 576.

Khiari, Z.; Rico, D.; Martion – Diana, A.B. and Barry – Ryan, C. (2011). The extraction of gelatine from Mackerel (*Scomber scombrus*) heads ***on Industrial Technology and Management***, 49 (47) : 257 – 260.

Duan, R.; Zhang, J.; Xing, F.; Konno, K. and Xu, B. (2011). Study on the properties of gelatins from skin of carp (*Cyprinus carpio*) caught in winter and summer season. ***Food Hydrocolloids***, 25 : 368 – 373.

Dufosse, L., De La Broise, D. and Guerard, F. (2001). Evaluation of nitrogenous substrates such as peptones from fish: a new method based on Gompertz modeling of microbial growth. ***Current Microbiology***, 42(1): 32–38.

Ghaly, A.E.; Ramakrishnan, V.V.; Brooks, M.S.; Budge, S.M. and Dave, D. (2013). Fish processing wastes as a potential source of proteins, amino acids and oils : A Critical Review. ***Journal of Microbial & Biochemical Technology,*** 5 (4) : 107 – 129.

Gotz, F.; Bannerman, T. and Schleifer, K . H. (2006). The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. ***Prokaryotes,*** Chapter 1.2.1**,** 4 : 5 – 75.

Grossman, S. and Bergman, M. (1992). Process for the production of gelatin

Poernomo, A. and Buckle, K.A. (2002). Crude peptones from cowtail ray (Trygon sephen) viscera as microbial growth media. ***World Journal of Microbiology and Biotechnology***, 18: 333–340.

Shahidi, F. (1994). Seafood processing byproducts. **In:** Shahidi, F. and Botta, J.R. (Eds.), ***Seafoods Chemistry, Processing, Technology and Quality***. Glasgow : Blackie Academic and professional. pp : 320 – 334.

Simeonova, L.S. and Dalev, P.G. (1997). Utilization of a leather industry waste. ***Waste Management***,16 : 765 – 769.

SPSS : (2001). Special program for statistical system.Version,11,SPSS nc.Chicago,111,USA.

Wasswa, J. ; Tang, J. and Gu, X. (2007). Utilization of fish processing by - products in the gelatin Industry. ***Food Reviews International***, 23 (2) : 159 – 174.

with the use of different organic acids. ***Journal of Fisheries Sciences***, 5 (1) : 52 – 63.

Kim, J.S., and Park, J.W., (2004). Characterization of acid-soluble collagen from Pacific whiting surimi processing byproducts. ***Journal of Food Science,*** 69: 637 – 642.

Kumari, A. R., Jeevan, G.; Ashok, M.; Rao, Ch. K. and Vamsi, K. S. K. (2012). Malathion degradation by *Bacillus* spp. isolated from soil. ***IOSR Journal of Pharmacy***, 2 (4) : 37 – 42.

Ovissipour, M., Abedian, A., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R. and Shahiri, H. (2009). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysate from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. ***Food Chemistry*** , 115 (1), 238-242**.**

Using of Extracted gelatien from fish wastes as a nitrogen source in microbiological media

Sabah M.H. Al-Shatty* - Jalal M. Al-Noor1, and Adel Y. Al-Dubakel

*Department of Fisheries and Marine Resources, *Department of Food Science, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah , Iraq*

Abstract

This study was conducted to extract gelatin from fish wastes (Tilapia *Tilapia zilli* (skins), common carp *Cyprinus carpio* L. (gas bladders) and *Ablennes hians* (heads) by using chemical method under acidic and alkaline conditions for using as nitrogen biosource in bacteriological media. The results of chemical analysis demonstrated that gelatin contain high protein percentages of (85.82 % , 87.89 % and 81.34 %) for gelatin extracted from fish skins, gas bladders and heads, respectively. Amino acid profiles of the three prepared gelatin types showed that crude gelatin have a well-balanced amino acid composition without any sever deficiency or absence of any have only 17 amino acid. The bacterium *Staphylococcus aureus* was used to test the prepared crude gelatin as a nitrogen source in culture media. The growth results indicated that the three gelatin types show good efficiency for bacterial growth in comparison with the commercial gelatin or ready to use culture medium. Culture medium prepared with skin gelatin showed higher levels of bacterial growth in comparison with other types of studied gelatin.

Key words: Fish waste, crud gelatien, amino acids, culture median, Staphylococcus aureus.