تأثير اضافة البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز ونخالة الشعير الاسمر في تثبيط الاعداد الميكروبية لأقراص السمك المحفوظة بالتبريد

شيماء عبد الكريم جابر الجُميعي*، علاء جبار عبد المنهل، خديجة صادق جعفر الحسيني****

*قسم الفقريات البحرية – مركز علوم البحار – جامعة البصرة، البصرة، العراق

**قسم علوم الاغذية– كلية الزراعة –جامعة البصرة، البصرة، العراق

Email:orchidros@gmail.com

الخلاصة

استخلص السكر المتعدد المتجانس المسمى بالبيتاكلوكان من مصادر مختلفة مصدر ميكروبي (خميرة الخبز ذات المنشأ التركي) ومصدر نباتي (نخالة الشعير الاسمر) باستعمال الطريقة الكلاسيكية وطريقة الماء الحار على التوالي، بلغت كمية الحاصل من البيتاكلوكان في خميرة الخبز ونخالة الشعير الاسمر 5.95 % و 5.18 % على التوالي وبفروقات معنوية واضحة عند مستوى احتمالية 0.05 ≥ p، شخص البيتاكلوكان المستخلص من كلا المصدرين اعتماداً على المجاميع الفعالة باستعمال تقنية Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) وتم مقارنته مع عينة قياسية، اضيف البيتاكلوكان المستخلص من المصدرين الى اقراص السمك بنسب مختلفة (0، 0.1، 0.3، 0.5، 1) %، وحفظت الاقراص بالتبريد عند درجة حرارة 4 مْ لمدة 14 يوماً، تهدف الدراسة الى اختيار كفاءة البيتاكلوكان في اطالة العمر الخزني لأقراص السمك عن طريق تثبيط النمو الميكروبي، اذ اظهرت نتائج الدراسة ان معدلات نمو البكتريا قد انخفضت تدريجيا مع زيادة نسبة اضافة البيتاكلوكان من(0.1-1)% اذ كان اعلى معدل تثبيطي للبيتاكلوكان لنمو البكتيريا التي تضمنت العد البكتيري الكلي والبكتريا المحبة للبرودة وبكتريا القولون وبنسبة 1% لمستخلص الخميرة ونخالة الشعير الاسمر اذ بلغ لوغارتيم العدد (3.73، 3.01، 2.92) و (3.62، 2.95، 2.82) لوغاريتم وحدة تكوين المستعمرة / غم لأقراص لحم السمك على التوالي بعد 14 يوم من الخزن المبرد مقارنة بعينة السيطرة (الخالية من البيتاكلوكان) والتي بلغت اعدادها (4.46، 3.56، 3.78) لوغاريتم وحدة تكوين المستعمرة/ غم لأقراص لحم السمك على التوالي.

الكلمات المفتاحية: البيتاكلوكان، اقراص السمك، الاعداد البكتيرية الكلية، اعداد البكتريا المحبة للبرودة، اعداد بكتريا القولون.

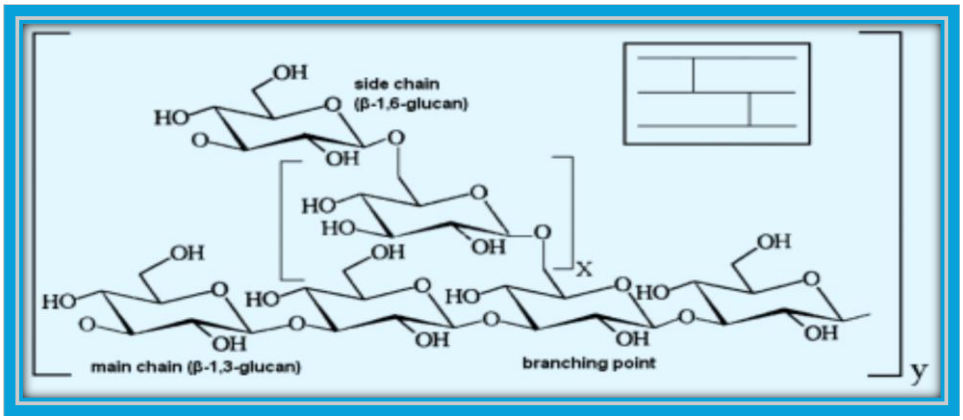
المقدمة

تعد الألياف الغذائية Dietary fiber (DF) جزءاً من الاغذية النباتية الصالحة للأكل غير القابلة للهضم من قبل الجهاز الهضمي للإنسان وتصل الى منطقة القولون وتعمل على تحسين توازن

الفلورا الطبيعية في الجسم فضلاً عن دورها في تغير طبيعة امتصاص المواد المغذية مما تساعد على دفع الغذاء داخل الجهاز الهضمي وبطئ امتصاص السكريات وهذا ينعكس ايجاباً على ثبات نسبة السكر في الدم لأطول فترة ممكنة كذلك الشعور والاحساس بالشبع لمدة طويلة وبالتالي الحفاظ على الوزن (Ahmad *et al.*, 2012; Bangari, 2011).

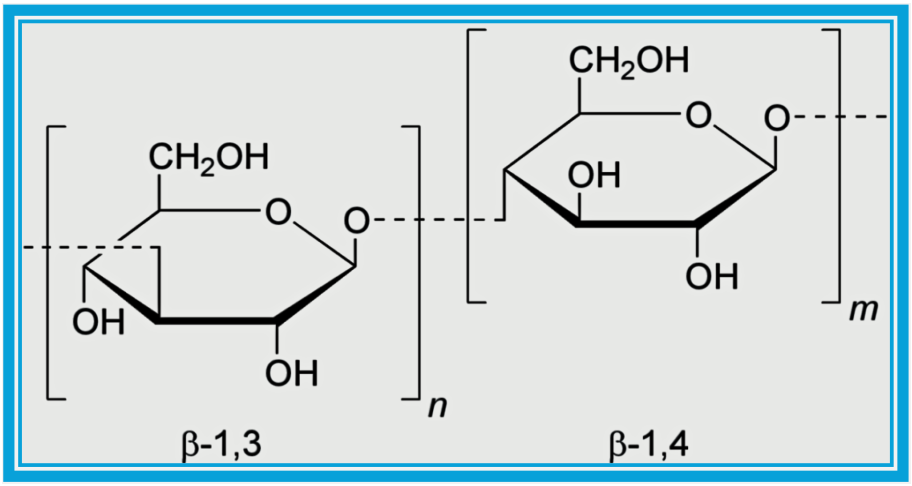
البيتاكلوكان من السكريات المتعددة المتجانسة Homopolysaccharide غير قابل للهضم يوجد طبيعياً في اغلفة معظم الحبوب مثل حبوب الشعير والشوفان والذرة والحنطة وكذلك في الجدار الخارجي للكائنات الحية لمختلف المصادر العضوية مثل الطحالب البحرية وبعض البكتريا، كما انه من الالياف المهمة المستخلصة من الفطريات لاسيما خميرة الخبز، والمصدر الاكثر شيوعاً لاستخلاصه من جدار الخلايا الفطرية لكونها ذات فعالية بايولوجية في تقوية الجهاز المناعي ومثبطه للخلايا السرطانية (Zhu *et al.*, 2016)، وان الوحدة البنائية التركيبية له هي سكر الكلوكوز المتكونة من سلسلة خطية او متفرعة مرتبطة مع بعضها بواسطة روابط كلايكوسيدية بين ذرات الكاربون ومجموعة الهيدروكسيل (da Cunha *et al.*, 2017)، اذ يوجد تباين واضح بين انواع البيتاكلوكان المستخلص من المصادر المختلفة يعزى هذا الى نوع الاصرة الكلايكوسيدية التي تربط الوحدات البنائية فيما بينها فقد تكون من نوع β (1–3) او β (1–4) او β (1–6) او قد تحتوي على نوعين من الأواصر والتي تدعى بـ Mixed-Linkage (Sofi *et al.*, 2017).

يكون البيتاكلوكان المستخلص من الخميرة بشكل سلسلة خطية ومتفرعة المرتبطة بأواصر β (1-3) و β (1-6) (Ahmad *et al.*, 2012; Chen and Seviour, 2007)، ويشكل البيتاكلوكان حوالي 50 % من مكونات جدار الخميرة (Many and Vizhi, 2014)، كما في شكل (1)،



شكل(1): تركيب البيتاكلوكان المستخلص من خميرة *Saccharomyces cerevisiae*
(Kath and Kulicke, 1999)

اما البيتاكلوكان المستخلص من الشعير فتكون السلسلة مرتبطة مع بعضها بأواصر كلايكوسيدية من نوع (1-3) β و (1-4)β (Cavallero *et al.*, 2002)،الموضح في شكل (2).



شكل (2): تركيب البيـتاكلوكان المسـتخلص من نخالة الشعير (Gangopadhyay *et al.*, 2015)

المواد وطرائق العمل

المواد الاولية المستعملة لاستخلاص البيتاكلوكان

The raw materials used are beta-glucan extraction

تم الحصول على خميرة الخبز الجافة *Saccharomyces cerevisiae* المستوردة من المنشأ التركي والمتوفرة في الاسواق المحلية لمحافظة البصرة، وتحمل العلامة التجارية (Saf-Instant)، استعمل جهاز Vitek2 لغرض تشخيص خميرة الخبز وحسب تعليمات شركة Biomerieux (Anonymeus, 2010)، في مختبرات مستشفى المواساة الاهلية التخصصي في محافظة البصرة. والمكون من جهاز Vitek2 وكمبيوتر Computer وقارئ الرمز الشريطي Barcode Reader و جهاز قياس العكورة DenisChek ™.

تم الحصول على حبوب الشعير الاسمر من الاسواق المحلية لمحافظة البصرة ذو صنف عراقي. اجريت عملية التنظيف والتنقية لحبوب الشعير الاسمر من الشوائب يدوياً ثم طحنت بمطحنة كهربائية لغرض الحصول على النخالة بعدها تم عزل الطحين عن النخالة بواسطة منخل حجم فتحاته 0.75 ملم واعيد طحن النخالة وحفظت في علب محكمة الغلق عند درجة 4 مْ لحين استعمالها في خطوات استخلاص البيتاكلوكان فيما بعد.

استخلاص البيتاكلوكان: Beta-glucan extraction

اتبعت الطريقة الكلاسيكية في استـخلاص البيتاكلوكان من خميرة الخبز (2015) Asare.

واتبعت طريقة Ahmad *et al.* (2009) في استخلاص البيتاكلوكان من نخالة الشعير الاسمر باستعمال الماء الحار المذكورة في AL-Jumaiee (2019).

تشخيص البيتاكلوكان بتقنية طيف الاشعة تحت الحمراء Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

شخصت المجاميع الفعالة لعينات البيتاكلوكان المستخلصة من الخميرة ونخالة الشعير الاسمر بوساطة جهاز مطياف الاشعة تحت الحمراء FT-IR التابع لمركز ابحاث البوليمير في جامعة البصرة ومقارنتها مع البيتاكلوكان القياسي وفقاً لما ذكره Limberger-Bayer *et al.* (2014) وبعد ان مزجت العينة مع مادة بروميد البوتاسيوم KBr وتحليلها على تردد 400-4000 سم$^{-1}$.

تحضير اقراص لحم السمك المفروم: Preparation of minced fish meat patties

اتبعت الطريقة المذكورة في AL-Jumaiee (2019) لتحضير اقراص السمك المفروم المضاف لها نسب مختلفة من البيتاكلوكان (0، 0.1 ، 0.3 ،0.5، 1) غم لكل 25 غم من المنتوج.

الاختبارات البكتريولوجية Bacteriological tests

قدرت الاعداد الميكروبية للعينات (اقراص لحم السمك المضاف لها البيتاكلوكان) بعد مرور (0، 3، 7، 10، 14) يوماً من الحفظ المبرد عند درجة 4 مْ بحسب طريقة Andrews (1992)، اذ حضرت التخافيف العشرية بوزن 1غم من العينة واضيفت الى 9 مل من ماء الببتون المعقم اذ حضر حسب تعليمات الشركة المجهزة وذلك بإذابة 1غم في 1000 مل من الماء المقطر بعدها مزجت جيداً لعمل التخفيف العشري الاول ومنه حضرت سلسلة التخافيف ثم استعملت طريقة الصب بالأطباق pour plate method لكل الفحوصات الميكروبية حيث نقل1 مل من التخفيف 10^4 الى اطباق بتري معقمة واضيف الوسط المغذي لكل فحص درجة حرارة (45-50) م ومزج محلول العينة مع الوسط الزرعي جيداً وبهدوء ثم تركت الاطباق لحين التصلب ووضعت الأطباق بصورة مقلوبة في الحاضنة. وحسبت اعداد المستعمرات النامية للبكتريا في الغرام الواحد بجهاز عد الاطباق، وحدة تكوين المستعمرة (و.ت.م) Colony forming unit (cFu\g) من العينة عن طريق ضرب اعداد المستعمرات × مقلوب التخفيف المستعمل وشملت الفحوصات البكتيرية الاتي:

1- العد الكلي البكتيري Total bacterial count

قدرت اعداد البكتريا في عينات اقراص لحم السمك المضاف لها البيتاكلوكان باستعمال الوسط الزرعي (الاكار المغذي الصلب) Nutrient Agar (N. A.) حضر حسب تعليمات الشركة

المجهزة وذلك بإذابة 28غم من وسط (N.A) في لتر من الماء المقطر وضبط الرقم الهيدروجيني عند 7.4 واستعملت طريقة الصب بأخذ 1 مل من التخفيف 10^4 وزرعها في الطبق وحضنت الاطباق عند درجة حرارة 32 م لمدة (24–48) ساعة وحسبت المستعمرات النامية في الاطباق (Brown and Smith, 2015).

2- عد البكتريا المحبة للبرودة Psychrophilic bacteria

تم تقدير الاعداد البكتيرية لعينات اقراص لحم السمك المضاف لها البيتاكلوكان وذلك بالزرع على الوسط الزرعي .N.A، حضنت الاطباق عند درجة حرارة 7 م لمدة (5–7) يوماً (Brown and Smith, 2015).

3- عد بكتريا القولون الكلية Total coliform bacteria

اعتمدت الطريقة المبينة في Brown and Smith (2015) في عد بكتريا القولون باستعمال الوسط الزرعي MacConkey agar (M.A.) المحضر حسب الشركة المجهزة بإذابة 51.5 غم من الوسط في لتر من الماء المقطر وضبط الرقم الهيدروجيني عند 7.1 بعد الزرع حضنت الاطباق عند درجة حرارة 37 م لمدة (24-48) ساعة.

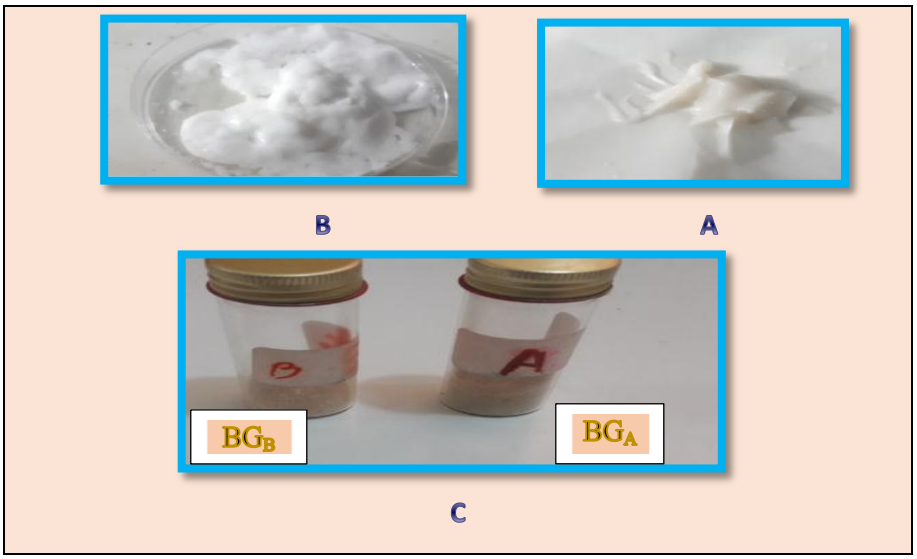
التحليل الاحصائي Statistical Analysis and Design

طبق التصميم كامل العشوائية Complete Randomized Design (CRD) للتجارب العاملية ذات عاملين وذات ثلاثة عوامل وتم تحليلها وفق برنامج التحليل الاحصائي الجاهز GenStat Release 10.3 DE وتم اختبار العوامل المدروسة سابقاً باختبار اقل فرق معنوي L.S.D. عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) (Al-Rawii and Khalafallah, 2000).

النتائج والمناقشة

استخلص البيتاكلوكان من المصدر الميكروبي (خميرة الخبز الجافة) والمصدر النباتي (نخالة الشعير الاسمر) باستعمال الطريقة الكلاسيكية وطريقة الماء الحار على التوالي الموضح في شكل (3). بينت النتائج ان اعلى حاصل كان في البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز 5.95%، بينما بلغت نسبة حاصل البيتاكلوكان المستخلص من نخالة الشعير الاسمر 5.18 %، وهذه النتائج كانت ضمن المدى الذي اشار اليه Asare (2015) والذي تراوح بين (2.9-10.3) % عند دراسته لاستخلاص البيتاكلوكان من خميرة الخبز باستعمال الطريقة الكلاسيكية وبتراكيز مختلفة من الحامض والقاعدة وأيضا متوافقة مع ما بينه Maheshwari *et al.* (2017) بأن محتوى البيتاكلوكان في نخالة الشعير تراوح بين 5.6–11.9 %. وبينت النتائج الاحصائية وجود فروق

معنوية عند مستوى احتمال ($p \leq 0.05$) بين مصدر البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز ونخالة الشعير الاسمر.



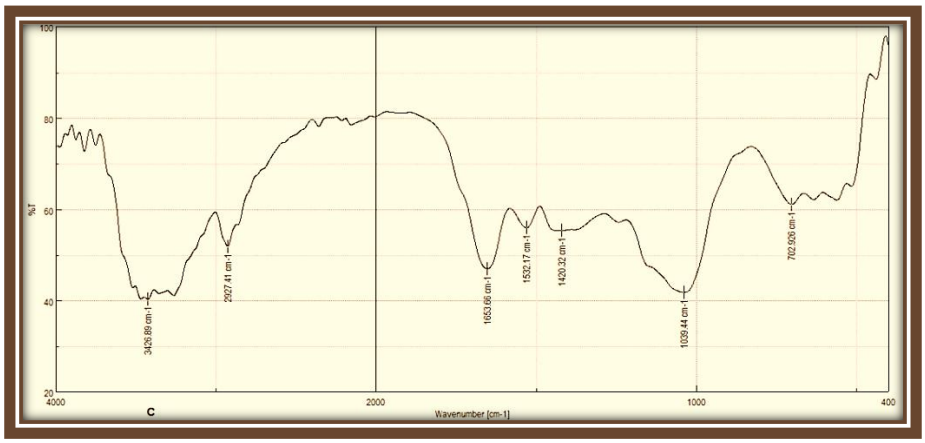
شكل (3): البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز ونخالة الشعير الاسمر قبل وبعد التجفيف A البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز قبل التجفيف، B البيتاكلوكان المستخلص من نخالة الشعير الاسمر قبل التجفيف، C البيتاكلوكان المستخلص من كلا المصدرين بعد عملية الطحن، BG_A البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز، BG_B البيتاكلوكان المستخلص من نخالة الشعير الاسمر.

تشخيص البيتاكلوكان بتقنية الاشعة تحت الحمراء

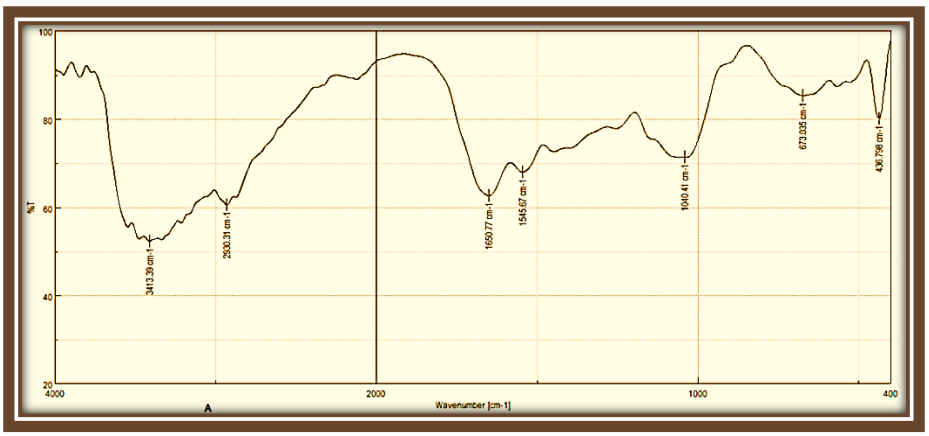
Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

استعمل في هذه الدراسة جهاز الاشعة تحت الحمراء FT-IR للكشف النوعي عن المجاميع الفعالة والتغيرات الهيكلية للبوليمرات الحيوية التي امكن استعمالها في تحديد تراكيب السكريات المتعددة ومنها البيتاكلوكان فضلاً عن معرفة مدى نقاوة المستخلص من الشوائب اذ ان كل مادة تمتاز باحتوائها على مجموعة وظيفية عند طول موجي معين، ولا تتغير مواقعها عند اطوال الموجات والتي يمكن التعرف عليها من خلال القمم الظاهرة عند الاطوال الموجية، اذ لوحظ من النتائج المبينة في المرتسمات (4) و (5) و(6) للبيتاكلوكان القياسي وايضاً المستخلص من الخميرة ونخالة الشعير الاسمر ظهور حزمة عريضة من الامتصاص الطيفي عند الطول الموجي 3426.89 سم$^{-1}$ و 3413.39 سم$^{-1}$ و 3438.46 سم$^{-1}$ على التوالي والتي تعود لتذبذب مجاميع الهيدروكسيل OH^- وحزم المجاميع الامينية NH المتداخلة مع مجاميع الهيدروكسيل التي تظهر ضمن المنطقة

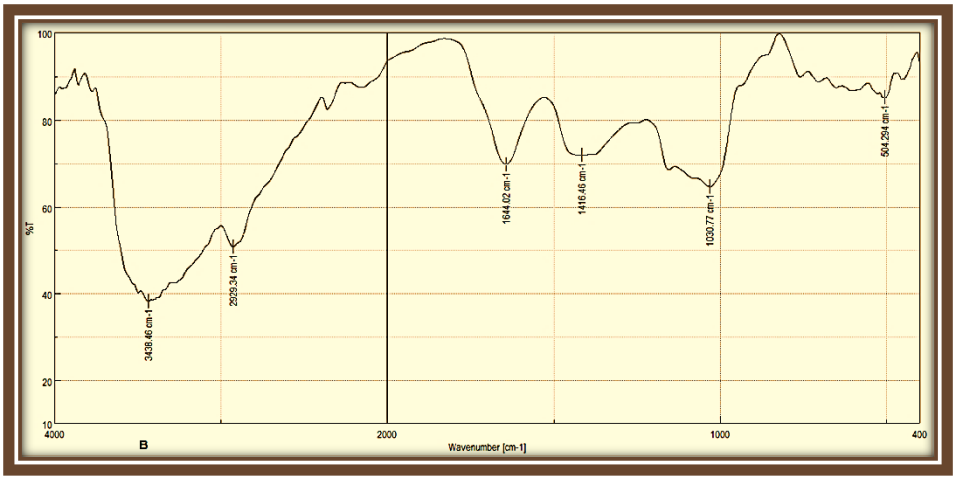
نفسها، في حين لوحظ حزمة صغيرة عند الطول الموجي 2927.41 سم$^{-1}$ و2930.31 سم$^{-1}$ و 2929.34 سم$^{-1}$ على التوالي والتي تعود للتذبذب الاتساعي لمجموعة CH و CH_2 الاليفاتية، كما ان هذه القمة تدل على وجود كمية صغيرة من الدهون عند هذا الامتصاص (Ahmad *et al.* 2010; Du *et al.*, 2014). في حين ان البيتاكلوكان يمكن ملاحظته من خلال المرتسمات كونه يتركز في الحزمة ذات الطول الموجي (1039.40 و 1040.41 و 1030.77) سم$^{-1}$ على التوالي والتي تشير الى وجود الكربوهيدرات وامتداد الرابطة (C-O) و (C-C) كذلك تدل على وجود الاواصر الكلايكوسيدية والتركيب الحلقي للسكريات الاحادية وهذا يتفق مع ما بينه Ahmad *et al.* (2010) بأن هذا البوليمر يكون ضمن منطقة امتصاص تتراوح بين 1000-1200 سم$^{-1}$، اما مجموعة الامايد فأنها ظهرت بتذبذب انحنائي عند طول موجي 1653.66 سم$^{-1}$ و1650.77 سم$^{-1}$ و 1644.02 سم$^{-1}$ والتي تعود لمجموعة C-N و N-H والتي تدل على وجود البروتين في العينات (Limberger-Bayer *et al.*, 2014 ;Zechner-Krpan *et al.*, 2010).



شكل (4): مرتسم طيف الاشعة تحت الحمراء للبيتاكلوكان القياسي



شكل (5): مرتسم طيف الاشعة تحت الحمراء للبيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز



شكل (6): مرتسم طيف الاشعة تحت الحمراء للبيتاكلوكان المستخلص من نخالة الشعير الاسمر

الاختبارات البكتريولوجية: Bacteriological Tests

تناولت الدراسة الحالية الاختبارات البكتريولوجية لاقراص السمك المعاملة بالبيتاكلوكان بنسب مختلفة والمحفوظة بالتبريد لمدد زمنية مختلفة والتي شملت العدد الكلي للبكتريا واعداد بكتريا المحبة للبرودة وايضاً اعداد بكتريا القولون وكما يأتي:

1- تأثير اضافة نسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص من المصدر الميكروبي والنباتي في العدد الكلي للبكتريا الهوائية لأقراص السمك المحفوظة عند 4 م° لمدد مختلفة:

اظهر جدول (1) العدد الكلي للبكتريا الهوائية لأقراص السمك المعاملة بنسب مختلفة من البيتاكلوكان والمحفوظة بالتبريد ولمدد مختلفة عند درجة حرارة 4 م، اذ وجد ان اضافة البيتاكلوكان اظهر فعالية مضادة لنشاط البكتيريا الهوائية الكلية وهذه الفعالية تزداد مع زيادة النسب المضافة مقارنةً مع معاملة السيطرة، كما لوحظ من النتائج ان الاعداد البكتيرية قد انخفضت في الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان مع زيادة النسب المضافة مقارنةً مع معاملة السيطرة وباستمرار مدة الحفظ المبرد.

احتوت عينة السيطرة والاقراص المعاملة بنسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز ونخالة الشعير الاسمر على اعداد بكتيرية (3.52) و.ت.م / غم قبل الحفظ، وقد لوحظ انخفاض اعدادها خلال الخزن المبرد على مدى 14 يوم ولكافة النسب المضافة، اذ بلغ لوغاريتم اعداد البكتريا الكلية (3.89، 3.86، 3.79، 3.73) و.ت.م/ غم في الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز و(3.84، 3.77، 3.73، 3.62) و .ت .م/ غم في

الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من نخالة الشعير الاسمر مقارنةً مع عينة السيطرة التي بلغت فيها اعداد البكتريا (6.96) و.ت.م / غم.

اظهرت الاختبارات الاحصائية لنتائج الدراسة الحالية وجود فروقات معنوية في اعداد البكتريا الكلية عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) لتأثير جميع العوامل المدروسة وكافة التداخلات بينها.

جدول(1): العد الكلي البكتيري و.ت.م/غم لاقراص لحم السمك المعاملة بنسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص والمحفوظة بالتبريد لمدة 14 يوم

مدة الحفظ (يوم)	معاملة السيطرة	تركيز اضافة البيتاكلوكان من المصدر الميكروبي (غم)				تركيز اضافة البيتاكلوكان من المصدر النباتي (غم)			
		0.1	0.3	0.5	1	0.1	0.3	0.5	1
0	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52
3	3.62	3.60	3.58	3.56	3.54	3.59	3.57	3.55	3.53
7	3.76	3.68	3.64	3.59	3.57	3.63	3.60	3.58	3.56
10	3.81	3.76	3.72	3.68	3.63	3.73	3.70	3.63	3.59
14	4.46	3.89	3.86	3.79	3.73	3.84	3.77	3.73	3.62

* L.S.D. لتأثير مدة الحفظ = 0.01128، L.S.D. لتأثير نسبة الاضافة = 0.01310، L.S.D. لتأثير مصدر البيتاكلوكان =0.01196 ، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ونسبة الاضافة = 0.02930، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ومصدر البيتاكلوكان = 0.02675، L.S.D. لتأثير التداخل بين نسبة الاضافة ومصدر البيتاكلوكان = 0.01513، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ونسبة الاضافة ومصدر البيتاكلوكان = 0.03384

2- تأثير اضافة نسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص من المصدر الميكروبي والنباتي في العدد الكلي للبكتريا المحبة للبرودة لأقراص السمك المحفوظة عند 4 مْ لمدد مختلفة:

بين جدول (2) اعداد البكتريا المحبة للبرودة لأقراص السمك المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من كلا المصدرين والمحفوظة بالتبريد عند 4 مْ، اذ كان لوغارتيم اعداد البكتريا المحبة للبرودة (2.76) و.ت.م/ غم في عينة السيطرة وفي الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من المصدر الميكروبي والنباتي بنسب (0.1، 0.3، 0.5، 1) غم لكل 25 غم قبل الحفظ بالتبريد واخذت الاعداد بالزيادة التدريجية مع زيادة مدة الحفظ المبرد ولجميع المعاملات حتى وصل اعلى معدل لأعداد البكتريا عند انتهاء مدة الحفظ في عينة السيطرة والتي بلغت (3.56) و.ت.م /غم بينما كانت الاعداد البكتيريه اقل في الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز (3.32، 3.24، 3.15، 3.01) و.ت.م/ غم و في الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من نخالة

الشعير الاسمر (3.28، 3.20، 3.01، 2.95) و.ت.م/ غم في اليوم الاخير عند نسبة اضافة (0.1، 0.3، 0.5، 1) غم لكل 25 غم قرص سمكي وعند نفس مدة الحفظ (14) يوم.

اظهرت الاختبارات الاحصائية لنتائج الدراسة الحالية وجود فروقات معنوية في اعداد البكتريا المحبة للبرودة عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) لتأثير لجميع العوامل المدروسة وكافة التداخلات بينها.

جدول (2): عد البكتيريا المحبة للبرودة و.ت.م/ غم لاقراص لحم السمك المعاملة بنسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص والمحفوظة بالتبريد لمدة 14 يوم

مدة الحفظ (يوم)	معاملة السيطرة	نسب اضافة البيتاكلوكان من المصدر الميكروبي (غم)				نسب اضافة البيتاكلوكان من المصدر النباتي (غم)			
		0.1	0.3	0.5	1	0.1	0.3	0.5	1
0	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76
3	2.93	2.90	2.87	2.83	2.81	2.90	2.85	2.81	2.79
7	3.22	3.18	3.14	2.92	2.87	3.03	2.92	2.87	2.84
10	3.38	3.24	3.19	2.99	2.96	3.20	3.12	2.94	2.90
14	3.56	3.32	3.24	3.15	3.01	3.28	3.20	3.01	2.95

* **L.S.D.** لتأثير مدة الحفظ = 0.01768، L.S.D. لتأثير نسبة الاضافة = 0.02054، L.S.D. لتأثير مصدر البيتاكلوكان = 0.01875، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ونسبة الاضافة = 0.04593، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ومصدر البيتاكلوكان = 0.04193، L.S.D. لتأثير التداخل بين نسبة الاضافة ومصدر البيتاكلوكان = 0.02372، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ونسبة الاضافة ومصدر البيتاكلوكان = 0.05303 .

3- تأثير اضافة نسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص من المصدر الميكروبي والنباتي في العدد الكلي لبكتريا القولون لأقراص السمك المحفوظة عند 4 ْم لمدد مختلفة:

اشارت النتائج في جدول (3) الى اعداد بكتريا القولون الكلية في اقراص السمك المصنعة والمعاملة بنسب مختلفة من البيتاكلوكان والمبردة لمدة 14 يوماً، اذ لوحظ من النتائج ان للبيتاكلوكان دور في تقليل اعداد بكتريا القولون مقارنةً مع عينة السيطرة. كانت اعداد بكتريا القولون في عينة السيطرة وفي الاقراص المعاملة بنسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز ونخالة الشعير الاسمر 2.60 و.ت.م/غم قبل الحفظ ووصلت الى 3.78 و.ت.م/غم في عينة السيطرة و

(3.15، 3.10، 3.00، 2.92) و.ت.م/غم في الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من المصدر الميكروبي و (3.11، 3.03، 2.90، 2.82) و.ت.م/ غم في الاقراص المعاملة بالبيتاكلوكان المستخلص من المصدر النباتي بعد مضي 14 يوماً من الحفظ عند نسب اضافة (0.1، 0.3، 0.5، 1) غم لكل 25 غم قرص على التوالي.

اتفقت النتائج مع ما توصل اليه Al-Shawki (2018) الذي استنتج ان للبيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز فعالية جيدة في منع تطور نمو الاحياء المجهرية عند اضـــافته الى اقراص اللحم المحفوظة بالتبريد، وهذا ما اكده كل من Ozcan and Ertan (2018) عند دراستهما الى الفعالية المثبطة للبيتاكلوكان المستخلص من بعض انواع الفطر والذي اظهر فعالية عالية ضد بعض انواع من البكتريا المرضية.

اظهرت الاختبارات الاحصائية لنتائج الدراسة الحالية وجود فروقات معنوية في اعداد بكتريا القولون الكلية عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) لتأثير مدة الحفظ ونسبة الاضافة من البيتاكلوكان ومصدره والتداخل بين نسبة الاضافة ومصدر البيتاكلوكان، ألا أنّ التداخل الثنائي بين مدة الحفظ ونسبة الاضافة وبين مدة الحفظ ومصدر البيتاكلوكان وكذلك التداخل الثلاثي لم تكن معنوية في تأثيرها على اعداد بكتريا القولون.

جدول (3): بكتيريا القولون الكلية و.ت.م / غم لاقراص لحم السمك المعاملة بنسب مختلفة من البيتاكلوكان المستخلص والمحفوظة بالتبريد لمدة 14 يوم

مدة الحفظ (يوم)	معاملة السيطرة	نسب اضافة البيتاكلوكان من المصدر الميكروبي (غم)				نسب اضافة البيتاكلوكان من المصدر النباتي (غم)			
		0.1	0.3	0.5	1	0.1	0.3	0.5	1
0	2.60	2.60	2.60	2.60	2.60	2.60	2.60	2.60	2.60
3	2.79	2.75	2.70	2.67	2.63	2.74	2.67	2.65	2.62
7	3.00	2.91	2.80	2.74	2.70	2.83	2.77	2.70	2.66
10	3.66	3.06	2.93	2.85	2.78	2.96	2.88	2.80	2.74
14	3.78	3.15	3.10	3.00	2.92	3.11	3.03	2.90	2.82

*L.S.D. لتأثير مدة الحفظ = 0.02669، L.S.D. لتأثير نسبة الاضافة = 0.03101، L.S.D. لتأثير مصدر البيتاكلوكان = 0.02831، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ونسبة الاضافة = 0.06933، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ومصدر البيتاكلوكان = 0.06329، L.S.D. لتأثير التداخل بين نسبة الاضافة ومصدر البيتاكلوكان = 0.03580، L.S.D. لتأثير التداخل بين مدة الحفظ ونسبة الاضافة ومصدر البيتاكلوكان = 0.08006

ان عمل البيتاكلوكان كمضاد للبكتريا يعود الى تركيبه الحاوي على سلسلة من جزيئات السكر (الكلوكوز) ومن المعروف ان وجود السكر يعمل على تقليل نشاط البكتريا ويوقف عملها في انتاج الانزيمات ولربما يعمل على قتلها نهائياً نتيجة تأثيره في رفع نسبة المواد الصلبة الذائبة وبالتالي يخفض الرطوبة في الوسط نتيجة الارتباط بين وحدات السكر وكميات الرطوبة المتواجدة وبذلك يعمل على رفع الضـــغط الازمـوزي للأحياء الدقيـقة وبذلك تصـبح البـــيئة جـــافة لهذه الاحياء وغير ملائمة لنموها (Mubarak, 2009)، كما يمكن ان يعزى الدور المثبط للبيتاكلوكان الى زيادة الذوبانية واللزوجة للبيتاكلوكان والتي تعمل كحاجز تحيط بالجدار الخلوي للبكتريا او الى تأثيره في نفاذية الاغشية وعدم توازن الضغط الازموزي على جانبي الجدار الخلوي مما قد يؤدي الى نضوح الماء والمكونات الخلوية الى الخارج مما يتسبب في موت الخلية (Khan *et al*., 2016; Petravic-Tominac *et al*., 2010)، وكذلك لوحظ من نتائج الفحوصات البكتيرية بأن التأثير التثبيطي لنشاط البكتريا للبيتاكلوكان المستخلص من المصدر النباتي كان افضل من البيتاكلوكان المستخلص من المصدر الميكروبي وهذا ربما يعود الى تفوقه في صفة اللزوجة والذوبانية فضلاً عن محـتوى مستخلص النخالة من المركبات الفينولية والتي تؤدي دوراً مضاداً للأحياء المجهرية (Thondre *et al*., 2011).

الاستنتاجات

من خلال النتائج يمكن ان نستنتج مايلي :

1- تلعب طرائق الاستخلاص والمصدر دوراً مهماً في تحديد كمية الحاصل للبيتاكلوكان المستخلص، اذ بلغت اعلى نسبة حاصل في البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز مقارنةً مع نخالة الشعير الاسمر.

2- ان للبيتاكلوكان قابلية في تحسين الصفات الحسية والنوعية لمنتوج اقراص السمك المبردة، اذ بينت النتائج تثبيط النمو الميكروبي وان اعداد البكتريا الكلية واعداد البكتريا المحبة للبرودة واعداد بكتريا القولون الكلية تختلف بناءً على اختلاف نسب البيتاكلوكان المستعملة في تحضير اقراص السمك.

3- لوحظ من خلال النتائج ان البيتاكلوكان المستخلص من خميرة الخبز ونخالة الشعير الاسمر لعب دوراً واضحاً في اطالة العمر الخزني لأقراص السمك المصنعة.

المصادر

Ahmad, A.; Anjum, F. M.; Zahoor, T.; Nawaz, H. and Din, A. (2009). Physicochemical and functional properties of barley β-

glucan as affected by different extraction procedures. Int. J. Food Sci. and Technol., 4(1): 181-187.

Ahmad, A.; Anjum, F. M.; Zahoor, T.; Nawaz, H. and Dilshad, S. M. R. (2012). Beta glucan: A valuable functional ingredient in foods. Food Sci. and Nutr., 52(3): 201-212.

AL-Jumaiee, Sh. A. J. (2019). Extraction and characterization of β-glucan from yeast bread and barley bran and used it to improve some qualitative properties of the fish patties during cooling storage. M. Sc. Thesis, Coll. Agric., Univ. Basrah:130 pp.

Al-Rawii, K. M. and Khalafallah, A. A. M. (2000). Design and analysis of agricultural experiments. 2nd ed. Dar Al-Kitab for Printing and Pub., Univ. Mosul: 37 pp.

Al-Shawki, R. M. M. (2018). Extract and diagnosis of beta-glucan yeast baking cells and improve the specific qualities of beef barker disasters. M. Sc. Thesis, Coll. Agric., Univ. Basrah: 116 pp.

Andrews, W. (1992). Mannual of food quality control. 4. Rev. 1.Microbiological anaylysis. FAO Food and Nutr. paper, 14(4) (Rev.1)., Rome, Italy: 347 pp.

Asare, S. O. (2015). Optimized acid/base extraction and structural characterization of β-glucan from *S. cerevisiae*. Ms.c. Thesis the faculty of the Dep. Chemi. East Tennessee State Univ.: 75 pp.

Bacha, U.; Nasir, M.; Iqbal, S. and Anjum, A. A. (2018). Influence of yeast β –glucan on cookies sensory characteristics and bioactivities. J. Chem., Article: 8 pp.

Bangari, S. (2011). Effects of oat beta glucan on the stability and textural properties of beta glucan fortified milk beverage. Ms.c. Thesis Food and Nutr. Sci. Univ. of Wisconsin-Stout: 51.

Brown, A. and Smith, H. (2015). Benson's microbiological applications: laboratory manual in general microbiology , Shortversion. 13th (ed.) McGraw-Hill Educ. U.S.A. 480 pp.

Cavallero, A.; Empilli, S.; Brighenti, F. and Stanca, A. M. (2002). High (1-3,1-4) β-glucan barley fractions in bread making and their effects on human glycemic response. J. Cereal Sci., 36(1): 59-66.

Chen, J. and Seviour, R. (2007). Medicinal importance of fungal β-(1-3) (1-6) glucans. The Br. Mycol. Res. 111(6): 635-652.

da Cunha, M. A. A.; Albornoz, S. L.; Santos, V. A. Q.; Sanchez, W. N.; Barbosa- Dekker, A. M. and Dekker, R. F. H. (2017). Structure and biological functions of D-glucans and their applications. Studies in Nat. Prod. Chem., Chapter 9.53: 309-337.

Gangopadhyay, N.; Hossain, M. B.; Rai, D. K. and Brunton, N. P. (2015). A Review of extraction and analysis of bioactives in oat and barley and scope for use of novel food processing Technol. Mol., 20(6): 1420-3049.

Johansson, L. (2006). Structural analyses of (1-3) (1-4)-β-D-glucan of oats and barley. Ms.c. Thesis the Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, Dep. of Appl. Chem. and Microbiol. General Chem. Division. 85 pp.

Kath, F. and Kulicke, W. M. (1999). Mild enzymatic isolation of mannan and glucan from yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Angew Makromol Chem., 268: 59-68

Khan, A. A.; Gani, A.; Masoodi, F. A.; Amin, F.; Wani, I. A.; Khanday, F. A. and Gani, A. (2016). Structural, thermal, functional, antioxidant and antimicrobial properties of β-D-glucan extracted from baker's yeast Saccharomyces cereviseae effect of γ-irradiation. Carbohydr. Polym., 140: 442-450.

Maheshwari, G.; Sowrirajan, S. and Joseph, B. (2017). Extraction and isolation of β-glucan from grain sources-a review. J. Food Sci., 82(7): 1535-1545.

Many, J. N. and Vizhi, K. (2014). Analysis of different extraction methods on the yield and recovery of β-glucan from baker's yeast Saccharomyces cerevisiae. Int. J. Innov. Sci., Engin. and Technol., 1(6): 2348 -7968.

Mubarak, A. A. (2009). Food preservation. Nutrition and food sci., Anglo Egyptian bookshop, 246 pp.

Ozcan, O. and Ertan, F. (2018). Beta-glucan content, antioxidant and antimicrobial activities of some edible mushroom species. Food Sci. and Technol., 6(2): 47-55.

Petravic-Tominac, V.; Zechner-Krpan, V.; Grba,S.; Srecec, S.; Panjkota-Krbavcic, I. and Vidovic, L. (2010). Biological effects of yeast β-glucans. Agric. Conspectus Scientifcus, 75(4): 149-158.

Sofi, S.; Singh, J. and Rafiq, S. (2017). β-glucan and functionality: A review. EC. Nut. 10(2): 67-74.

Thondre, P. S.; Ryan, L. and Henry, C. J. K. (2011). Barley β- glucan extracts as rich sources polyphenols and antioxidants. Food Chem. 126: 72-77.

Zhu, F.; Du, B. and Xu, B. (2016). Acritical review on production and industrial applications of β-glucans. Food Hydrocoll., 52: 275-288.

The Effect of Adding Beta-glucan Extracted From Bread yeast and barley bran on Inhibiting Microbial Population of Fish Patties at Cooling Storage Periods

Shaymaa A.J. Al-Jumaiee*, Alaa J.A. Al-Manheland Khadeeja S.J. Al- Hussainy****

*Dept. of Marine Vertebrates, Marine Science Centre, University of Basrah, Iraq
**Dept. of Food Science, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq
*Corresponding author e-mail: orchidros @gmail.com
Email:orchidros@gmail.com

Abstract

The Homopolysaccharide called beta-glucan was extracted from different sources, microbial source (baking yeast of Turkish origin) and vegetable source (brown barley bran) using the classical method and hot water method respectively. Results showed that the higher yield contents of β-glucan, which reached 5.95 % and 5.18 % were found in the baker's yeast of Turkish origin and barley bran respectively, The β-glucan was analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and the result confirmed that the extracted glucan showed a high degree of similarity and purity as compared with the standard, The β-glucan was added to the fish patties at different ratio (0, 0.1, 0.3, 0.5, 1) gm\25gm patties, and storage patties at 4 °C for 14 days.

Effect of addition of different levels of β-glucan from both sources on inhibition of the bacterial counts for fish patties during storage (14 days) was studied, the total counts of bacteria was decreased with increasing the ratios of β-glucan up to 1%, the ability of the extracted β-glucan from barley bran to inhibit the total bacterial count, psychrophilic bacteria and coliform bacteria was greater than that the extracted β-glucan from yeast.

Keywords: β -Glucan, Fish patties, total bacterial count, psychrophilic bacteria, coliform bacteria.