دراسة فعالية المركبات الكاروتينويدية المستخلصة من قشور الروبيان كمضادات أكسدة ومضادات ميكروبية في حفظ اللحوم

هيفاء علي عواد
جامعة كربلاء / كلية الزراعة

مازن جميل هندي
جامعة بغداد/ كلية الزراعة/قسم علوم الأغذية

المستخلص

أجريت الدراسة لغرض اختبار فعالية المركبات الكاروتينويدية المستخلصة من قشور الروبيان المحلي والمستحصل من الأسواق المحلية للأنواع *Penaus japonicas, Penaus emisulcats* و *Exopalamon styliferus* المشتراة من الأسواق المحلية في بغداد ، وتقييم كفاءتها كمضادات للأكسدة و مضادات بكتيرية في حفظ لحوم البقر. أستخلصت الكاروتينويدات من قشور الروبيان المجففة بوساطة مزيج من المذيبات العضوية شملت هكسان : أسيتون (1 : 1 ح : ح) وأضيفت المستخلصات الكاروتينويدية إلى عينات من مفروم لحم البقر بمقدار 2 و4% فضلاً عن عينة مقارنة من دون أضافة وعينة أضيف لها مضاد الأكسدة التجارية Butylated hydroxyl toluin (BHT) بمقدار 0.02% . حفظت العينات في التبريد 4 مْ لمدد 0 , 3 , 6 أيام . قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الكاروتينويدية بقياس رقم البيروكسيد Peroxide Value (PV) ، وقيمة حامض الثايوباربيوترك Thiobarbituric acid (TBA) خلال مدة الخزن المبرد . أظهرت النتائج المستحصلة تفوق المعاملة المضاف لها المستخلص بمقدار 4% واستقرار قيم رقم البيروكسيد للعينات المحفوظة في التبريد بعد 6 أيام وبقاءه ضمن الحدود المقبولة للنوعية الصالحة للأستهلاك البشري إذ بلغت 7 مليمكافئ/كغم زيت وبلغت قيم حامض TBA لنفس العينة 8.88 مالون الديهايد/كغم .

أظهرت النتائج أن أضافة 4% من مستخلص الكاروتينويدات الى لحوم الأبقار المفرومة أدى الى أنخفاض العدد الكلي للبكتريا الهوائية وعدد بكتريا القولون وعدد البكتريا المحبة للبرودة من قيم بدائية $6x10^2$ ، $1.6 x10^5$ ، $4.6 x10^7$ و.م.م/غم إلى$1.5 x10$ ، $2 x10$ ، $3.8 x 10^6$ و.م.م/غم على التوالي عند الخزن المبرد (4مْ) لمدة 6 أيام.

Study of the activity of carotenoids extracted from shrimps shell as antioxidant and antimicrobial in meat preservation

H.A.Awad* **M.J.Hindi**

University of kerbala / College of Agriculture |*

University of Baghdad /College of Agriculture/ Dep. of Food Science

Abstract

This investigation was carried out to evaluate the activity of Carotenoids extracted from shrimp shell related to Penaus semisculcats , Penaus japonicas and Exopalamon styliferus that obtained from retail out in Baghdad – Iraq. The Carotenoids were extracted from dried shrimp's shell by organic solvents comprised of Hexane : Acetone (1: 1 , V : V)

The antioxidant capacity of crude carotenoids extract was added seperately to minced beef at 2% and 4% , further samples contained the commericial antioxidant (BHT) was added to aforementioned samples at 0.02% together with a blank specimen. Samples were refrigerated at 4 C° for 0 , 3 and 6 days. The antioxidant capacity of extract were assayed via Peroxide Value (PV), Thiobarbituric acid (TBA) , The obtained results revealed that beef samples with 4% carotenoides were superior as PV were stable after 6 days of storage at 4C°, with an acceptable value of 7 milliequi/kg oil , The TBA was 8.88 mg malonaldehyde/kg.

The antimicrobial activities of crude carotenoides added to the samples above were also examined via assaying the Total bacterial Count (TBC) , Coliform Count (CC) and Total Psychrotrophic Count (TPC) .

against three bacterial isolates and included Bacillus subtilis , Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa . The obtained results revealed that 4% carotenoids extract added to minced beef reduced the bacterial growth as evaluated by TBC , CC and TPC from 6x102 , 1.6x105 and 4.6x107 cfu/g to reach 1.5x10 , 2x10 and 3.8x106 cFu/g respectively when stored at 4 C° for 6 days**.**

المقدمة

إن حفظ الأغذية يواجه تحديا كبيرا من خلال إيجاد مواد حافظة طبيعية ومنها أستعمال الكاروتينويدات التي تعد من المركبات التي جذبت أهتمام الباحثين في السنوات القليلة الماضية بسبب خصائصه المتميزة لعدم سميته وتحلله البايولوجي بفعل أنزيمات متخصصة كما أنه ليس له تأثيرات موضعية أو عامة في الأنسجة الحية وأجريت العديد من الدراسات في هذا المجال لخفض الأحياء المجهرية الملوثة للحوم ومنتجاتها باستعمال المواد الحافظة الطبيعية مثل الكارونينويدات المستخلصة من مصادر نباتية وحيوانية إذ أضيفت بأنواع وتراكيز مختلفة (9) .

أستفادت شعوب الحضارات القديمة منذ الأف السنين من المصادر الغذائية سواء كانت نباتية أو حيوانية كغذاء كما أدرك حينئذ أمتلاكها لمزايا علاجية تطيل عمر الأنسان وتقيه من الأمراض وقد أستعمل الصينيين المصادر الغذائية البحرية في علاج الأمراض التي أستعصت على الطب الحديث. وتعد الأسماك والقشريات والطحالب وبالأخص الأنواع البحرية مصدرا مهما للمركبات الفعالة التي تعمل كمضادات مكروبية وفايروسية ومثبطة لنمو الأورام السرطانية (9) ، كما جذبت أهتمام الباحثين لأمتلاكها خواص وظيفية مهمة في التصنيع الغذائي فضلاً

عن دورها في علاج بعض الأمراض المزمنة مثل أمراض القلب وتصلب الشرايين والسرطان ، وأظهرت هذه المركبات كفاءتها كمضادات للأكسدة ومضادات لنمو الأحياء المجهرية في حفظ نوعية الغذاء وأهتمت البحوث في هذا المجال لتلافي المخاطر والشكوك حول استعمال مضادات الأكسدة الصناعية والمضادات الحيوية في الأغذية كونها مركبات قد تكون ذات تأثيرا سميا ومحدثة للسرطانات (11) . زاد الطلب في الآونة الأخيرة على أستعمال المواد الطبيعية لأنتاج الأغذية الوظيفية لأمتلاكها وظائف فسلجية ضرورية للجسم وتعد الكاروتينويدات من أهم تلك المركبات التي تدخل في أنتاج الأغذية الوظيفية والتي تنتشر بصورة واسعة في القشريات والأحياء المائية مثل الروبيان وسرطان الماء والطحالب والأسماك .

يمثل الروبيان أحدى الأحياء المائية المهمة ويصطاد من المسطحات المائية لمحافظة البصرة ويسوق مجمدا الى بقية محافظات العراق ويعود الروبيان للأنواع *Exopalamon styliferus* , و *Penaeus japonicas* , *Penaeus semisulcas*

يشمل التركيب الوزني للروبيان الطازج 24 – 41% لحم خام و 36 – 41% منطقة رأسية صدرية و 23 – 1% قشرة بطنية (4). أن القشرة الخارجية للروبيان تمثل أكثر من 50% من وزن الروبيان الكلي ، وهذه الأجزاء تهمل رغم احتواءها على مكونات مهمة تقنيا وتشمل 30–20% كايتين ، 30–40% بروتين ، 50– 30% كربونات الكالسيوم وفوسفات الكالسيوم على أساس الوزن الجاف . وهذه المكونات يمكن فصلها والاستفادة منها بطرائق كيميائية أو أنزيمية (8) . كما تحتوي قشور الروبيان على صبغة الأستازانثين بمقدار 14–39 ملغم/كغم على أساس الوزن الرطب (14) ، وتعد من الكاروتينويدات المهمة التي تمتلك أقوى فعالية مضادة للأكسدة (10) .

هدفت الدراسة الحالية أستخلاص الكاروتينويدات من قشور الروبيان للأنواع المذكورة أنفاً وتقويم كفاءتها كمضاد أكسدة ومضاد بكتيري في حفظ لحوم البقر المحفوظة بالتبريد (4مْ) .

المواد وطرق العمل

تحضير عينات مسحوق قشور الروبيان : تم تحضير عينات مسحوق قشور الروبيان بعد إزالة الرؤس السوداء وفصل القشرة الخارجية عن اللحم وتنظيف القشور بماء الحنفية جيدا ثم جففتت في الظل وتحت هواء المروحة لمدة ستة ساعات مع التقليب المستمر ثم طحنت العينات بأستعمال مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق متجانس ثم غربلت بأمرارها على منخل منزلي ناعم ، حفظ مسحوق قشور الروبيان الناعم في أكياس بولي أثيلين معقمة نظيفة جافة وحفظت في الثلاجة لحين الأستعمال .

استخلاص مسحوق قشور الروبيان بالمذيبات العضوية : تم الأستخلاص وفقا للطريقة المعتمدة من قبل (17) ، إذ تم اخذ 20 غم من مسحوق القشور المجففة واضيف اليه 200 مل من مزيج المذيبات (هكسان : أسيتون) بنسبة 1:1 (ح : ح)التي أضيفت تدريجيا وقد حدد مزيج المذيبات بعد أجراء تجارب أولية . أجريت عملية الأستخلاص في قدح زجاجي سعة 250 مل وبأستعمال مازج مغناطيسي Magnetic Stirrer لمدة 4 ساعة وغطي القدح الزجاجي لتقليل تبخر المذيبات . وكررت عملية الاستخلاص ثلاث مرات إلى أن تصبح القشور عديمة اللون وفي كل مرة ينقل الراشح المتحصل عليه من الأستخلاص إلى قمع فصل زجاجي

حجم 250 مل لأجراء التنقية الأولية من الشوائب ، بعد ذلك أجري الطرد المركزي في3000 دورة/ دقيقة ولمدة خمس دقائق للتنقية Purification للحصول على مستخلص رائق جدا. تم تركيز المستخلصات الرائقة بالمبخر الدوار Rotary Evaporater في درجـة حرارة 45 مْ للتخلص من المذيب (17) ، ثم حسبت كمية المادة المستخلصة بفرق الوزن قبل التجفيف وبعده .

تحضير عينات لحم البقر : تم شراء لحم البقر من الأسواق المحلية لمدينة بغداد وفرم في ماكنة قطر فتحاتها 5 ملم.شملت التجربة تحضير أربع معاملات . تضمنت المعاملتين (T3 , T2) أضافة مستخلص الكاروتينويدات الذي حضر بأذابة مستخلص الكاروتينويدات في كمية قليلة من الأيثانول ثم أضيف الى عينات اللحم المفرم بواقع 2 % و 4% على أساس الوزن الجاف ، فضلاً عن المعاملة (T4) التي أضيف لها مضادات الأكسدة التجارية BHT بواقع 0.02% على أساس الوزن الجاف بأعتبارها النسبة المسموح بأضافتها والمعاملة (T1) الخالية من أية أضافة وهي معاملة مقارنة . تم مزج كل عينة على حدة يدويا وشكلت على هيئة أقراص لكل معاملة وغلفت بورق الألمنيوم ووضعت في عبوات بلاستيكية وخزنت في التبريد (4 مْ) لمدة 0 , 3 , 6 يوماً.

دراسة أداء مستخلص الكاروتينويدات الخام كمضاد أكسدة في حفظ اللحوم

استخلاص الدهون من مفروم لحوم الأبقار

تم استخلاص الدهن من مفروم اللحم المراد فحصه بعد كل مدة خزينة صفر ، 3 , 6 أيام . تمت عملية الاستخلاص بالطريقة الباردة وبأستعمال المذيبات العضوية المختلفة وفي درجة حرارة المختبر وفقا الى الطريقة المذكورة في (8) .

الاختبارات الكيميائية على الدهون المستخلصة من لحوم البقر

تقدير قيمة البيروكسيد Peroxide Value

قدر رقم البيروكسيد على وفق طريقة A.O.A.C (8) ، وحسب المعادلة التالية :-

قيمة البيروكسيد (ملليمكافئ/ كغم زيت)= $\frac{1000\times N\times S}{g}$

- S= مل من ثايوسلفات الصوديوم $Na_2S_2O_3$
- N= عيارية ثايو سلفات الصوديوم
- g= عدد غرامات الزيت

تقدير قيمة حامض الثايوباربيوترك Thiobarbituric acid Value (TBA)

استخدمت الطريقة الرسمية للجمعية الأمريكية لكيميائي الزيوت (6)

وتم حساب قيمة TBA حسب المعادلة الآتية :-

قيمة TBA (ملغم مالون الديهايد/كغم) = قيمة الامتصاص الضوئي على طول موجي 350 نانوميتر x 7.8

دراسة فعالية مستخلص الكاروتينويدات الخام من قشور الروبيان كمضاد للأحياء المجهرية في اللحوم

العد الكلي للبكتيريا الهوائية (APC) Aerobic Plate Count

أعتمدت طريقة APHA (7) لحساب العد البكتيري الكلي وذلك بنقل 1مل من التخافيف الى الأطباق وباستعمال الوسط الغذائي Nutrient Agar وحضنت الأطباق في درجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة وحسب العدد البكتيري بالغرام الواحد قبل وبعد أنتهاء مدد الخزن 6,3,0 ايام في التبريد (4مْ) (21) .

العدد الكلي لبكتريا القولون Total Coliform

تم حساب عدد بكتريا القولون بالغرام الواحد بأستعمال الوسط الزرعي MacConkey Agar (13) .

االعد الكلي للبكتريا المحبة للبرودة Total Psychotropic Bacteria

اتبعت الطريقة المذكورة في APHA (7) ،، باستعمال الوسط الزرعي Nutrient agar وحضنت الأطباق في درجة 4– 8 مْ لمدة 6أيام ، وقدر العدد بالغرام الواحد قبل وبعد مدد الخزن لعينات لحم البقر المثروم .

التحليل الأحصائي

استعمل البرنامج الإحصائي SAS (15) في تحليل البيانات لدراسة تأثير العوامل المختلفة في الصفات المدروسة ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (LSD).

النتائج والمناقشة

اختبار قيمة البيروكسيد في دهن لحم البقر Peroxide Value analysis

يوضح الجدول (1) تأثير أضافة مستخلص الكاروتينويدات من قشور الروبيان لمفروم لحم البقر المحفوظ بالتبريد ، لوحظ حصول زيادة في قيم رقم البيروكسيد (POV) لمعاملة المقارنة(T1)مع استمرار مدة الخزن إذ ارتفعت من 4 مليمكافيء/ كغم زيت إلى 11.5 ملي مكافيء/ كغم زيت بعد 6 ايام من الخزن المبرد في درجة 4 مْ وأتصف اللحم بصفات حسية ونوعية غير مرغوبة تمثلت بلون داكن ورائحة غير مرغوبة ولزوجة في القوام ، في حين تفوقت المعاملة T3التي أضيف لها مستخلص الكاروتينويدات بنسبة 4%في الحفاظ على مستوى مستقر في رقم البيروكسيد لدى الخزن المبرد إذ بلغت 4.0 مليمكافئ/كغم زيت في بداية الخزن وأصبحت 4.15 مليمكافئ/كغم زيت بعد 6 أيام من الخزن وتميز اللحم بصفات حسية ونوعية مقبولة في الرائحة واللون والقوام . حصلت زيادة طفيفة برقم البيروكسيد للمعاملة T2، الأنموذج الذي أضيف له مستخلص الكاروتينويدات بنسبة 2% إذ بلغت 6.15 مليمكافئ/كغم زيت بعد 6 أيام من الخزن وقد كان 4.1 ملي مكافيء/ كغم زيت في زمن الصفر وأتصف اللحم بلون وردي مقبول وتغير قليل في الرائحة والقوام ، حصلت زيادة معنوية في الرقم البيروكسيدي للمعاملة T4 كانت4.1 مليمكافيء/كغم زيت في زمن الصفر وأرتفعت الى 7.0مليمكافئ /كغم زيت بعد 6 أيام من الخزن المبرد، وأتصف اللحم بصفات نوعية غير مقبولة لصفات اللون والنكهة والقوام . لذا أظهرت نتائج في جدول (1) أن المعاملتان T2 و T3 أفضل بالحفاظ على قيمة البيروكسيد من أستعمال مضادات الأكسدة التجارية BHT .

تقترب نتائج هذه الدراسة مع ما وجده سابقاً(12) الى أن أفضل تركيز لأستخدام المستخلص الصبغي للكاروتينويدات من قشور الروبيان هو 56 ملغم/كغم المستخدم في حفظ اللحوم أذ أعطى هذا التركيز فعالية

ضد الآكسدة بلغت 50%. وأفادت الدراسة أيضا أن الفعالية الفائقة لمضادات الأكسدة في المستخلص تعود بشكل رئيس الى وجود صبغة الأستازانثين .

الجدول (1) تأثير مستخلص الكاروتينويدات من قشور الروبيان كمضاد اكسدة في حفظ مفروم اللحم المخزون بالتبريد 4 مْ متمثلة بتقدير قيمة البيروكسيد مليمكافئ/كغم زيت

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			قيمة LSD
	0	3	6	
T1 المقارنة	4.0	7.1	11.5	* 2.56
T2 % 2	4.1	5.0	6.15	* 1.42
T3 % 4	4.0	4.5	4.15	0.77NS
T4 BHT % 0.02	4.1	5.15	7.0	* 2.58
قيمة LSD	0.73NS	* 1.68	* 2.47	---

* (P<0.05) ، NS: غير معنوي. * النتائج معدل لثلاثة مكررات

أختبار حامض الثايوباربيوتريك (TBA) في دهون لحم البقر

يلاحظ من النتائج في الجدول (2) حصول زيادة معنوية (P<0.05) في قيم حامض الثايوبيوترك (TBA)لمعاملة المقارنة من 1.87 الى 11.2ملغم مالون الديهايد/ كغم لحم عند خزن اللحم المبرد من زمن الصفر حتى6 أيام ، أن حصول زيادة في قيم TBA في دهون لحم البقر مع الخزن المبرد يعزى لتكوين المالون الديهايد مع الأستمرار بالخزن والذي يعد أحد المنتجات الثانوية لأكسدة الدهون في اللحوم بفعل تحطم البيروكسيدات (14) . أظهرت المعاملة (T2) المضاف لها 2% مستخلص الكاروتينويدات حصول أرتفاع غير معنوي في قيم حامض الثايوبريتورك لدى الخزن المبرد لمدة 6 أيام ولم يحصل تغيراً في قيم حامض الثابربيوترك للمعاملة (T3) المضاف لها 4% مستخلص الكاروتينويدات لدى الخزن المبرد لمدة 6 أيام .

وأظهرت هاتان المعاملتان تفوقا في المحافظة على قيماً واطئة حامض الثايوباربيوترك على معاملة T4المضاف لها 0.02% BHT. لذا يظهر كفاءة مستخلص الكاروتينويدات المستخلصة من قشور الروبيان كمضادة أكسدة طبيعي في السيطرة على تفاعلات الأكسدة التزنخية . جاءت نتائج هذه الدراسة متفقة مع ما وجده سابقاً (13) عند دراسة الأثر التعاوني للمركبات الفينولية مع المركبات الكاروتينية في كبح الجذور الحرة داخل أغشية الدهن إذ تساعد هذه المركبات في حماية الأنسجة العضلية للحم من تأثير أضرار الجذور الحرة وكبح نواتج تفاعلات أكسدة الدهون .

أظهرت نتائج هذه الدراسة بأن معاملة لحم البقر الطازج مع مستخلص الكاروتينويدات الخام لقشور الروبيان الغنية بمركبات الأستازانثين Astaxanthin واللوتين Lutein واللايكوبين Lycopene والفيلاستازانثين Violaxanthin وحامض السالسيلك Acetyl Salcilic acid و بيتا كاروتين $\beta-$ Carotene (3) قد حققت فعالية عالية كمادة حافظة طبيعية ومضادة لأكسدة الدهون . كما سبق وأن أشار ال منهل (1) أن معاملة لحم البقر مع مستخلص الشاي الأخضر الذي يحتوي في تركيبه على الكاروتينويدات والفينولات معاً قد أدت الى تحسن ثباتية أكسدة الدهون خلال الخزن المبرد لمدة 9 ايام ، أما بالنسبة للصفات الحسية والنوعية للحم البقر المعامل بتراكيز مختلفة من مستخلص الكاروتينويدات للمعاملات T2وT3فقد تميزت بصفات حسية ونوعية مقبولة لعدم تطور الروائح وبقاء اللحم متماسك القوام في أثناء مدة الخزن ، وقد يعود ذلك الى محتوى هذه المعاملات من مركبات الكاروتينويدات الفعالة التي تملك خصائص كمواد مضادة للأكسدة ذات فعالية في توفير حماية لأغشية اللحم ومن ثم تأخير أكسدة صبغة المايوغلوبين ذات اللون الأحمر الزاهي الى صبغة الميت مايوغلوبين ذات اللون الأحمر الداكن وإطالة عمر المنتوج من خلال أقتناصها للجذور الحرة بفعل قدرتها على منح ذرات الهيدروجين للأحماض الدهنية غير المشبعة والحد من أكسدتها وفعلها في كسر سلسلة تفاعلات الأكسدة التزنخية (5) .

الجدول (2) تأثير مستخلص الكاروتينويدات المضاف للحوم المثرومة في تغير قيم حامض الثايوباربيوترك TBAملغم مالون الديهايد/كغم لدى الخزن المبرد 4 مْ لمدد مختلفة

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			قيمة LSD
	0	3	6	
T1 المقارنة	1.87	7.52	11.20	* 2.37
T2 % 2	1.74	1.85	1.93	0.433NS
T3 % 4	1.75	1.75	1.75	0.274NS
T4 BHT% 0.02	1.73	1.98	8.88	2.57 *

وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما وجده سابقاً (2) إذ أن قيمة البيروكسيدات بقيت مستقرة ولم يحصل أي تطور فيها لنماذج الزيت المستخلص من روبيان نوع الكريل Krill الحاوية طبيعياً على صبغة الأستازانثين في تركيبتها عند خزن تلك الزيوت في حرارة 20مْ و 40 مْ لمدة 30 يوم.

الفعالية الضد مايكروبية للمستخلص الخام من قشور الروبيان في حفظ مفروم لحم البقر المبرد4ْ لمدد خزنية مختلفة

العد الكلي للبكتيريا الكلية الهوائية في لحم البقر Total bacterial count (TB)

يوضح الجدول (3) الانخفاض البطئ في عدد الخلايا الحية لمعاملة المقارنة باستمرار مدة الخزن المبرد. إذ كان العدد الابتدائي $6x10^2$ و.م.م/ غم وأصبح $2.5x10^2$ و.م.م بعد اليوم السادس من الخزن المبرد . تدل هذه النتيجة على النوعية الجيدة للحم بما يتفق مع المواصفة القياسية العراقية للجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية (18) والتي تنص على أن العدد الكلي للبكتيريا الهوائية يجب أن لا يزيد على 10^5و. م.م/ غم. أن تقدير العدد الكلي للبكتيريا في اللحوم ومنتجاتها يعد مؤشراً مناسباً في الحكم على جودة المادة الخام وطريقة التداول والخزن. أدت المعاملة T_2(الأنموذج الذي أضيف له مستخلص الكاروتينويدات بنسبة 2%) إلى حدوث انخفاض في العدد الابتدائي للبكتريا الهوائية بعد ثلاثة أيام من الخزن المبرد إذ بلغ $2.3x10^2$ و.م.م/غم وبعد ستة أيام بلغ 2.1x10 و.م .م/ غم، في حين أظهرت المعاملة T_3(الأنموذج الذي أضيف له مستخلص الكاروتينويدات الخام بنسبة 4%) انخفاضاً ملحوظا في العدد الابتدائي للبكتريا إذ بلغ 2.1x10 و 1.5x10و.م.م /غم بعد ثلاثة وستة أيام من الخزن على التوالي بعد أن كان $6x\ 10^2$ و.م.م/غم قبل الخزن وأتصفت العينة بمواصفات حسية ونوعية جيدة إذ تميز اللحم بلون احمر مرغوب ثابت وقوام متماسك .ومن نتائج هذه الدراسة يمكن الأستنتاج بأمكانية أستخدام مستخلص الكاروتينويدات الخام لقشور الروبيان كمضافات غذائية طبيعية بنجاح في منع تطور نمو البكتريا في اللحوم ولمدة ستة أيام من الخزن المبرد بتركيز 4% وذلك للحد من تدهور الأغذية وتقليل أستعمال المضافات الكيميائية الحافظة للغذاء، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما وجده سابقاً(19) عند دراسة لفعالية مستخلص الكاروتينويدات الخام من قشور روبيان البحر العربي نوع *Aristeus alcocki* كمضاد للأحياء المجهرية والذي أظهر فعالية مختلفة اتجاه خمسة أنواع من البكتريا المدروسة إذ كانت عالية أتجاه كل من بكتريا *Bacillus* sp, *Achromobacter* sp. وقليلة جدا أتجاه بكتريا *E.coli*وبكتريا *Pseudomonas fluorescence* وليس هناك تأثير للمستخلص أتجاه بكتريا *Listeria* sp و بكتريا *P. putida* وأكدا أمكانية استخدامه كمضافات غذائية فضلاً عن استخدامه كملونا غذائيا في الأغذية وأوضحت الدراسة أيضا أن تلك الفعالية اختلفت باختلاف نوع الأحياء المجهرية مع أهمية عدم وجود فعالية للمواد الكيميائية المستخدمة في الاستخلاص

الجدول (3) تقدير العدد الكلي لبكتريا (و.م.م/غم) في مفروم لحم البقر والمعامل بتركيزي2% و 4% لمستخلص الكاروتينويدات الخام لقشور الروبيان والمخزن في 4مْ

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			قيمة P– value
	0	**3**	**6**	
T1 المقارنة	$6x\ 10^2$	3.5×10^2	2.5×10^2	* 0.052
T2 % 2	$6x\ 10^2$	2.3×10^2	2.1 x 10	0.0061 **
T3 % 4	$6x\ 10^2$	2.1 x 10	1.5 x 10	0.0057 **
قيمة LSD	NS	0.0133 **	0.0094 **	---

* (P<0.05)، ** (P<0.01) ، NS: غير معنوي.

*النتائج معدلاً لثلاثة مكررات

العد الكلي لبكتريا القولون في مفروم لحم البقر Total Coliform

تظهر النتائج في الجدول (4) حصول زيادة معنوية في نمو بكتيريا القولون لمعاملة المقارنة T_1 إذ أرتفع من $1.6 x10^5$ وبلغ 1.5×10^6 و.م.م/غم من اليوم الأول والى اليوم السادس من الخزن المبرد في درجة 4مْ ، وأظهرت المعاملة T_2 انخفاضاً ملحوظا في نمو بكتيريا القولون بعد ثلاثة أيام من الخزن إذ بلغ $1.1x10^2$ و.م.م ثم حصل ارتفاع بسيط في النمو البكتيري بعد ستة أيام من الخزن حتى بلغ $5.1x10^2$ و.م.م بعد أن كان $1.6 x10^5$ و.م.م /غم في زمن الصفر، وأظهرت المعاملة T_3 أنخفاضا تدريجيا في النمو البكتري بأستمرار الخزن إذ بلغ 2.4 x10 و2x10 و.م.م بعد الخزن لمدة ثلاثة وستة أيام على التوالي ، تدل نتائج هذه الدراسة على أن مستخلص الكاروتينويدات الخام قد حقق كفاءة جيدة في تثبيط نمو بكتريا القولون عند أضافته بتركيز 2% ولمدة خزن ثلاثة أيام فقط وتبقى هذه الكفاءة لمدة ستة أيام من الخزن المبرد عند زيادة تركيز المستخلص في اللحوم الى 4% . تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما أشار اليه (20) اللذين ذكرا أن لمستخلص الكاروتينويدات الخام من قشور الروبيان نوع *Metapenaeus dobsoni* والمتحصل عليه بالمذيبات العضوية فعالية جيدة ضد البكتريا الموجبة لصبغة كرام والسالبة أيضاً لصبغة كرام مثل بكتريا *Salmonella typhi* و *Bacillus subtitis* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus*، كما تتفق النتائج الحالية مع ما أشار (16) عند اضافة الكايتوسان المحضر من قشور الروبيان الى لحوم الأبقار المفرومة بتراكيز 0.25% ، 0.5% ، 1% كمضاد للبكتريا في اللحوم والذي أدى الى تقليل عدد البكتريا الهوائية وبكتريا القولون لمدد خزنية مختلفة ، ولكن لم تتفق نتائج الدراسة مع ماذكر سابقاً (20) في دراسة

أخرى للمستخلص من قشور الروبيان نوع (*Aristeus alcocki*) والمصطاد من الأنهر العربية بوجود فعالية قليلة جد أتجاه بكتريا *E.coil* . لذا يمكن الأستنتاج أن أستخدام مستخلص الكاروتينويدات الخام لقشور الروبيان بتركيز 4% أدى الى الحد من نمو بكتريا القولون مما أدى الى أطالة العمر الخزني لمفروم اللحم والمخزون في 4مْ لمدة ستة أيام ، تتحدد النوعية المايكروبية للحوم ومنتجاتها من خلال معرفة أعداد ونوعية الأحياء المجهرية النامية فيها وقد تزداد أعدادها إذا وفرت لها بعض الظروف المناسبة لنموها كدرجة الحرارة والرطوبة والأوكسجين ويتوقف نمو الأحياء المجهرية حسب حرارة الخزن بالتجميد في درجة –18مْ (19) .

الجدول (4) تقدير بكتريا القولون في لحم البقر (و. م.م./غم) المفروم والمبرد في 4 مْ والمعامل بتركيزي 2% و 4% من مستخلص الكاروتينويدات الخام لقشور الروبيان

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			قيمة P–value
	0	3	6	
T1 Control	1.6×10^5	4.2×10^6	1.5×10^6	** 0.0035
T2 2%	1.6×10^5	1.1×10^2	5.1×10^2	** 0.0093
T3 4%	1.6×10^5	2.4×10	2×10	** 0.00026
قيمة P–value	NS	** 0.0043	** 0.0019	---

** (P<0.01) ، NS: غير معنوي.

*النتائج تمثل معدلاً لثلاثة مكررات

عد البكتريا المتحملة للبرودة في لحم البقرPsychrotrophic bacterial count

يظهر جدول (5) إن عدد البكتريا النامية في البرودة قد أرتفع في لحم البقر المفروم لمعاملة المقارنة (T1) إذ كان من 4.8×10^7 في اليوم الأول ليصل الى 9×10^8 و.م.م/ غم بعد ستة أيام من الخزن المبرد . أظهرت المعاملة T2(الأنموذج المضاف له 2% مستخلص الكاروتينويدات الخام) في جدول (5) أنخفاضاً في نمو بكتريا المتحملة للبرودة بلغت $4.2x10^5$ و.م.م/غم بعد ثلاثة أيام من الخزن المبرد ثم أرتفعت الى $4x10^7$ و.م.م/غم بعد ستة أيام من الخزن المبرد وأظهرت المعاملة T3 أنخفاضا ملحوظاً في عدد البكتريا المحبة للبرودة إذ بلغ العدد الأبتدائي للبكتريا $4.6x10^7$ في زمن الصفر ثم أرتفع الى $1.4x10^4$ و.م.م/غم بعد ثلاثة أيام من الخزن ثم بلغ العدد البكتيري $3.8x10^6$ و.م.م/غم بعد ستة أيام من الخزن المبرد .

يلاحظ من نتائج هذه الدراسة أمكانية أستخدام مستخلص الكاروتينويدات من قشور الروبيان بتركيز 2% و 4% كمادة حافظة في الحد من نمو بكتريا النامية في البرودة ، إذ تعد مجموعة بكتريا Psychrophiles أهم أنواع البكتريا التي تسبب فساد اللحوم الطازجة ومنتجاتها في أثناء حفظها بالتبريد .جاءت نتائج هذه الدراسة

متفقة مع ما وجده سابقاً (20) إذ استنتج وجود فعالية للكاروتينويدات من قشور الروبيان أتجاه كل من البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام .

الجدول (5) تقدير عدد بكتريا المتحملة للبرودة .Phsychrophylic في مفروم اللحم والمعامل بمستخلص قشور الروبيان 2% و 4% والمخزن بالتبريد 4مْ لمدد مختلفة

المعاملة	مدة الخزن (يوم)			قيمة P–value
	0	3	6	
T1 Control	4.8×10^7	5.8×10^7	9×10^8	** 0.0057
T2 2%	4.5×10^7	4.2×10^5	4×10^7	** 0.0029
T3 4%	4.6×10^7	1.4×10^4	3.8×10^6	** 0.0033
قيمة P–value	NS	NS	** 0.0016	---

** (P<0.01) ، NS: غير معنوي.

*النتائج معدلاً لثلاثة مكررات

المصادر

1- آل منهل ، علاء جبار عبد . (2013) . دراسة أمكانية زيادة القابلية الخزنية للحوم باستعمال الكايتوسان . مجلة ابحاث البصرة (العلميات) العدد (39) B1.

2- الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية . (1990) . المواصفة القياسية رقم 1580، منتجات اللحوم الحمراء غير المطبوخة . وزارة التخطيط . جمهورية العراق.

3- عواد ، هيفاء علي . (2016) . أستخدام مركب الاستازانثين الفعال حيويا والمستخلص من قشور الروبيان كمضادات أكسدة في لحوم الأسماك . أطروحة دكتوراة . جامعة بغداد / كلية الزراعة – قسم علوم الأغذية .

4- هندي ، مازن جميل . (1986). تكنولوجيا المنتجات السمكية . جامعة البصرة . كتاب مترجم . مطبعة جامعة الموصل .

5- A.O.A.C. (1980). Official Methods of analysis Association of official Analytical chemists , Washington, DC, 1018 PP.

6- A.O.C.S. (2001). Official Methods and Recommendation Practices of the American Oil Chemists's Society, cd 19 – 90.

7- APHA DC; (2001). (American Public Health Association) Washington Compendium of methods for the microbial logical examination of food

8- Bligh, E. G. and Dyer, W.J. (1959). Arapid method of total lipid extraction and purification . Can.J.Biochem.Physical. 37:911-917.

9- Capelli , B. (2011). The worlds best kept health escret Natural Astaxanthin in 4 th ed.

10- Choubert , G. and Mendes , P.M. (2006). Pigmenting efficiency of astaxanthin fed to rainbow trout on Corhynchus mykiss : Effect of dietary astaxanthin and lipid sorurces . Aquaculture , 257 – 436.

11- Guerin ,M. ; Mark, E. H. and Olaizola , M. (2003). Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. ELSEVIER j. biotechnology Vol 21 (5) pp210-212.

12- Kennedy, T. A. & Lieber, D. C. (1992). Peroxyl radical scavenging by β carotene in lipid bilayers. Effect of oxygen partial pressure. J. Bio chem , 267 (7) : 4658 - 4663.

13- Macfaddin , J.F. (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria3ed Lippincott, Williams and wilkins . Baltimore. USA.

14- Ruth , H. R. ; Aslak, E. and Kjell, M.V. (2008). Aseasonal study of the chemical composition and chitin quality of shrimp shell obtained from northern shrimp (pandalus borealis). ELSEVIER j. 71(3): 388

15- Sago, S. ; Board, R. and Roller, S. (2002). Chitosan inhibits growth of spoilage microorganism in chilled pork products, food microbiology, 19 : 175-182.

16- SAS . (2012) . Statical Analysis system, Users Guide. Statistical. Version 9. 1th ed . SAS. Lnst . Inc, cary. N .C.USA.

17- Sindhu , S. and Sherief ,P.M. (2011). Extraction , Characterization, Antioxidant and Anti-Inflammatory properties of Carotenoids from the Shell Waste of Arabian Red Shrimp Aristeus alcocki .The open Conference proceedings journal, 2, 95-103.

18- Tsuchihashi, H. ; Kigoshi, M. ; & Niki , E. (1995). Action of β-carotene as anti oxidant against lipid peroxidation , Arc. Of Bio phys , 323 (1) : 137 – 147.

19- Uma, N. and Ravi, R. (2014) . A study on antibacterial preservative activity of natural astaxanthin from shrimp of Arabian Sea, ISSN Health Interventions Journal , Vol , 2 , 2014.

20- UMA, N. and Ravi, R. (2013). Isolation of astaxanthin from shrimp metapenaeus DoBsoni and study of its pharmacological activity. Chem.. sc : 3(1), 2013, 60 – 63.

21- WHO .(1998). World Health Organization , The World Health Report . General . Geneva