

استعمال الببتيدات الفعالة المنتجة من خميرة *Saccharomyces boulardii*

في إطالة حفظ اللحم البقري

علاء جبار المنهل علاء كريم نعيمة منار جبار الشاوي

الملخص

استعمل الببتيد الفعال المنتج من خميرة *Saccharomyces boulardii* لإطالة العمر التخزيني لاقراص اللحم البقري المفروم وبتركيزات مختلفة (0.5، 1، 1.5، 2) %، إذ لوحظ انخفاض في الأعداد البكتيرية مقارنةً مع عينة السيطرة عند التخزين بالتبريد للمدة من 1 إلى 15 يوماً وكانت الزيادة في العدد الكلي للبكتيريا الهوائية بمعدلات قليلة عند تركيز 2% من الببتيد، إذ بلغ لوغاريتم معدل العدد الكلي بعد مدة خزن 15 يوماً 6.48 و ت م / غم مقارنةً مع عينة ساعة الصفر (5.82) و ت م / غم في حين كان لوغاريتم أعداد البكتيريا في عينة السيطرة عند ساعة الصفر وبعد مدة خزن 15 يوماً (6.27 و 8.20) وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم على التوالي، بينما كانت الزيادة أقل للبكتيريا المحبة للبرودة عند إضافة الببتيد بتركيز 2% لوغاريتم العدد الكلي (3.66) م ت م / غم مقارنةً مع الأعداد، إذ كان لوغاريتم العدد الكلي 3.40 وحدة تكوين المستعمرة بعد مدة خزن 15 يوماً في عينة ساعة الصفر بينما كانت معدلات الأعداد في عينة السيطرة عند ساعة الصفر وبعد مدة خزن 15 يوماً لوغاريتم (4.14، 5.75) و ت م / غم على التوالي، كما انعدم وجود بكتيريا *Staphylococci* عند إضافة الببتيد بتركيز 2% وعند مدد خزن 5 و 10 و 15 يوماً مقارنةً مع معدل الأعداد في عينة السيطرة، إذ بلغ لوغاريتم العدد الكلي (4.32، 3.30، 3.92) و ت م / غم على التوالي عند المدة التخزينية نفسها فضلاً عن ذلك فأن أعداد البكتيريا في عينات اقراص اللحم المفروم المعامل بالببتيد جميعها كانت ضمن المواصفة القياسية العراقية ، وانعدم وجود بكتيريا *Salmonella* في العينات كافة .

المقدمة

أزداد الإهتمام في السنوات الأخيرة بالببتيدات المضادة للأحياء المجهريّة المرضية **Antimicrobial peptides (AMPs)** أو ما تسمى بالببتيدات الدفاعية التي تمتلك فعالية تثبيطية عالية ضد مدى واسع من البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة كرام التي يمكن أن تستعمل كمضادات حيوية للاستعمال الموضعي في الرعاية الصحية لأنها قادرة على تثبيط مسببات الأمراض بصورة مباشرة او غير مباشرة كما تحسن الاستجابة المناعية وتزيد قابلية إلتام الجروح او مواداً حافظة في الصناعات الغذائية وهي بذلك تمثل بديلاً طبيعياً عن المواد الحافظة الكيميائية التي غالباً ما يحاول المصنعون والمستهلكون تجنبها لما لها من مضرار على مستوى سلامة الغذاء وصحة المستهلك وهي تختلف فيما بينها اعتماداً على مصدرها سواء أكانت منتجة من الأحياء حقيقية النواة أم بدائية النواة فضلاً عن ذلك فأن بعض الببتيدات يمكن أن تكون ذات فعالية حيوية ضمن جزيئة البروتين الأصلية وبعضها الآخر يظهر فعاليته الحيوية بعد تحررها من الجزيئة الأصلية كما بين (10، 16) وهي تتكون من 12 إلى 50 حامضاً أمينياً تكون الأحماض الأمينية الموجبة الشحنة هي الأكثر وجوداً في تركيب هذه الببتيدات مثل اللايسين والارجنين والهستيدين وأن الحامض الأميني الأخير يوجد في الأوساط الحامضية ذات الرقم الهيدروجيني المنخفض وتكون نسبته عالية تصل لأكثر من 50% (11). تُعد الخمائر إحدى الأحياء المجهريّة المهمة المنتجة للببتيدات الفعالة حيويّاً ولاسيما التابعة لجنس *Saccharomyces* التي تتميز بقدرتها على إنتاج مواد حيوية فعالة تستطيع أن تدخل في أنشطة عديدة ومتنوعة

لاسيما في أماكن إستخدامها كأحياء علاجية (Probiotics) مثل خميرة *Saccharomyces boulardii* التي لها القدرة على إنتاج مواد مثبطة مختلفة كما بين (Qamar et al; 15) و Liu et al; 9). ولها أهمية في تحسين النظام البيئي المعوي من خلال منع التهابات الأمعاء الناتجة عن التصاق الأحياء المرضية مثل *Salmonella typhimurium*, *Clostridium difficile*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* في الخلايا الطلائية فضلاً عن علاج عدد من حالات الإسهال الحاد عند الأطفال واضطرابات الجهاز الهضمي الناجمة عن تعاطي المضادات الحيوية (19,20) تُعد اللحوم من الأغذية سريعة التلف إذا تركت في ظروف حفظ غير جيدة. وعليه فإن عملية الحفظ ضرورة أساس عند نقل وتوزيع اللحوم، إذ إن حفظ اللحوم يؤخر أو يمنع حدوث التغيرات التي تطرأ على اللحم أو تقلل من خواصه النوعية والميكروبية Dave and Ghaly (7) ومن هذا المنطلق هدفت الدراسة الحالية التي تضمنت استعمال الببتيدات المنتجة من خميرة *Saccharomyces boulardii* في إطالة حفظ اللحم البقري ومعرفة مدى صلاحيتها للإستهلاك البشري وسلامتها من الناحية الصحية من خلال مطابقته للمواصفة القياسية العراقية.

المواد وطرق البحث

مصدر عزلة الخميرة

تم الحصول على خميرة *Saccharomyces boulardii* ATCC MYA796TM القياسية المجهزة من مختبرات شركة Swanson probiotic الاسترالية .

تنشيط الخميرة

نشطت الخميرة بزرع 200 ملغم من الخميرة المجفدة في ماء مقطر معقم لمدة نصف ساعة بدرجة حرارة 30 م، ثم وضعت على المازج Vortex وأخذت منها قطرة بواسطة الناقل الجرثومي Loop ونقلت الى أنابيب حاوية على وسط YEPG وحضنت الأنابيب بدرجة حرارة 30 م لمدة 48 ساعة.

حساب عدد الخلايا الحية في اللقاح

قُدر عدد الخلايا الحية في حجم اللقاح المستعمل في التجارب بأخذ 1 مل من الخميرة المنشطة ، حضر منه تخافيف عديدة وزرع 1 مل من آخر تخفيف باستعمال طريقة الصب Pour plat method على وسط YEPG وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 30 م لمدة 48 ساعة وحسبت أعداد المستعمرات النامية .

إنتاج الببتيد

أُنتج الببتيد حسب طريقة الشاوي (4) باستعمال وسط YEPG المستبدل فيه المصدر الكربوني بعصير تمر الزهدي المضاف بنسبة 5% وضبط الرقم الهيدروجيني على 5 ولقحت بمقدار 0.5 % من الخميرة بحيث يحتوي 1 مل على $10^8 \times 48$ وحدة تكوين المستعمرة/ مل وحضنت عند درجة حرارة 30 م لمدة 24 ساعة في حاضنة هزازة وعدد الدورات 120 دورة/دقيقة وبعد الحضان وضعت الأنابيب في جهاز النبذ المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ثم أخذ الراشح ومرر في اثناء جهاز الترشيح الفائق (10 MWC0) وحسب الطريقة المبينة من قبل Naimah et al. (12) وجماعته، ثم الترشيح الهلامي باستعمال عمود Sephadex G-50 للحصول على الببتيد

إدخال الببتيد المنقى في حفظ اللحم

تحضير أقراص اللحم : حضرت أقراص اللحم البقري حسب طريقة الحلفي (2) وذلك بفرم اللحم خالي من الشحم في فرامة كهربائية معقمة وأضيف إليه شحم بمقدار 15% وملح بمقدار 2 % ومزجت المكونات وقسمت

الى 5 مجاميع كل مجموعة وزنها 50 غم ،وهي : المجموعة الأولى تمثل عينة السيطرة خالية من إضافة الببتيد ،والمجموعة الثانية أضيف إليها 0.25 غم من الببتيد المنقى أي 0.5 % ومزجت جيداً وقسمت الى 5 أقراص، والمجموعة الثالثة أضيف إليها 0.5 غم ببتيد أي (1 %) وخلطت جيداً وقسمت الى 5 أقراص، والمجموعة الرابعة أضيف إليها 0.75 غم ببتيد (1.5 %) وقسمت الى 5 أقراص. اما المجموعة الخامسة فقد أضيف إليها 1 غم من الببتيد (2%) وقسمت الى 5 أقراص. وتمت عملية التصنيع بعمل الأقراص ثم وضعت في أكياس من البولي أثيلين وفصل بين قرص و آخر ورق شمعي و أغلقت الاكياس وخزنت بدرجة حرارة الثلاجة لمدة (1,5,10, 15) يوماً على التوالي أجريت على المجاميع المذكورة آنفاً الفحوص التالية للكشف عن العدد الكلي للبكتريا ،بكتريا المحبة للبرودة ،بكتريا *Salmonella* ، بكتريا *Staphylococci* قبل الخزن أي (ساعة الصفر) وبعد الخزن بالتبريد.

الفحوص البكتيرية

أجريت الفحوص البكتيرية بأخذ 1 غرام من أقراص اللحم المفروم المضاف له الببتيد من كل تركيز وأضيف إلى 9 مل من محلول الببتون (Peptone water) المعقم ثم عملت سلسلة من التخفيف العشرية للمعاملات المختلفة لغاية 10^{-6} وتعامل عينة السيطرة المعاملة نفسها ثم حسب أعداد المستعمرات النامية للبكتريا في الغرام الواحد من العينة عن طريق ضرب معدل عدد المستعمرات في مقلوب التخفيف المستخدم وشملت الفحوص البكتيرية ما يأتي :

العد الكلي للبكتريا Total Bacterial count

اتبعت الطريقة المذكورة في كل من Smith, Brown (6) في تقدير العدد الكلي للبكتريا باستعمال الوسط الزراعي Nutrient Agar وأخذ 1 مل من سلسلة التخفيف وزرع في الطبق باستخدام طريقة الصب مع تحريك الطبق يميناً ويساراً ليمزج جيداً وحضنت بصورة مقلوبة على درجة 32 م لمدة 24 ساعة بعدها تُعد المستعمرات .

عد البكتريا المحبة للبرودة Psychrophilic Bacteria

أعتمدت الطريقة المبينة في كل من Brown and Smith (6) وذلك بوضع 1 مل من التخفيفين الأخيرين من العينة في أطباق بتري وأضيف الوسط الزراعي Nutrient Agar بعدها مزجت العينة وتركت لحين التصلب وحضنت بصورة مقلوبة على درجة حرارة 7 م للمدة من 5-7 أيام بعدها تُعد المستعمرات .عد بكتريا *Salmonella-Shigella*: أخذ 1 مل من سلسلة التخفيف ويزرع في الطبق وأستعمل وسط *Salmonella-Shigella Agar* وبطريقة الصب مع تحريك الطبق يميناً ويساراً ليمزج جيداً وحضنت بصورة مقلوبة على درجة 37 م للمدة من 24-48 ساعة بعدها تعد المستعمرات (6). عد بكتريا *Staphylococci*: أخذ 1 مل من سلسلة التخفيف وزرع في الطبق وأستخدم وسط Mannitol Salt Agar بطريقة الصب وحضنت الأطباق بصورة مقلوبة عند درجة 37 م لمدة 24 ساعة بعدها عدت المستعمرات (6).

التحليل الإحصائي

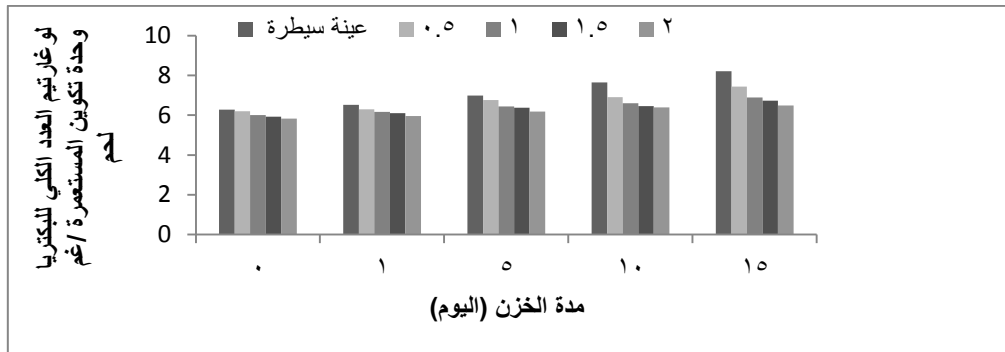
استعمل التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) للتجارب العاملة في تحليل النتائج، إذ حللت البيانات إحصائياً باستعمال البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS واختبرت العوامل المدروسة باستعمال اختبار أقل فرقاً معنوياً Revised-L.S.D المعدل عند مستوى احتمالية 0.05 (17).

النتائج والمناقشة

الإختبارات البكتيرية لأقراص اللحم

العد الكلي للبكتريا الهوائية

يوضح الشكل 1 العد الكلي للبكتريا الموجودة في أقراص اللحم البقري المعامل بالبيتيد وبتراكيز (2،1،0.5) % مع وجود عينة سيطرة والمخزون بالتبريد على درجة حرارة الثلاجة ولمدد خزن مختلفة (1،5،10،15،0) يوماً. إذ لوحظ من النتائج أن القدرة التثبيطية للبيتيد تزداد بزيادة التركيز وكان الإنخفاض في أعداد الخلايا الحية يتناسب طردياً مع كمية البيتيد المضاف عند ساعة الصفر و أن هذه الزيادة أظهرت فروقاً معنوية في العدد الكلي للبكتريا ($P < 0.05$) في المدد الأولى من الخزن بالتبريد لكن لم يكن هناك فرق معنوي عند المستوى نفسه في مدد الخزن من 10-15 يوماً عند إضافته بتركيز (2،1،0.5) % عند إضافة البيتيد لأقراص اللحم بتركيز 0.5 %، إذ كان لوغاريتم العدد الكلي للبكتريا لساعة الصفر لوغاريتم 6.2 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بينما ارتفع العدد مع زيادة مدة الخزن، إذ بلغ بعد 15 يوماً لوغاريتم 7.44 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم مقارنةً مع عينة السيطرة، إذ بلغت أعدادها البكتيرية لوغاريتم 6.27 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم ثم ارتفعت لوغاريتم 8.2 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم عند المدة الخزن نفسها بينما لوحظ عند إضافة البيتيد بتركيز 2 % عند ساعة الصفر كان لوغاريتم العدد 5.82 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بينما بلغ لوغاريتم عدد الكلي بعد مدة خزن 15 يوماً لوغاريتم 6.48 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم. إن الإنخفاض الحاصل للعدد الكلي للبكتريا في اللحم البقري المفروم المعامل بتراكيز مختلفة من البيتيد مقارنةً مع عينة السيطرة هو دليل واضح على إمتلاك البيتيد فعالية تثبيطية



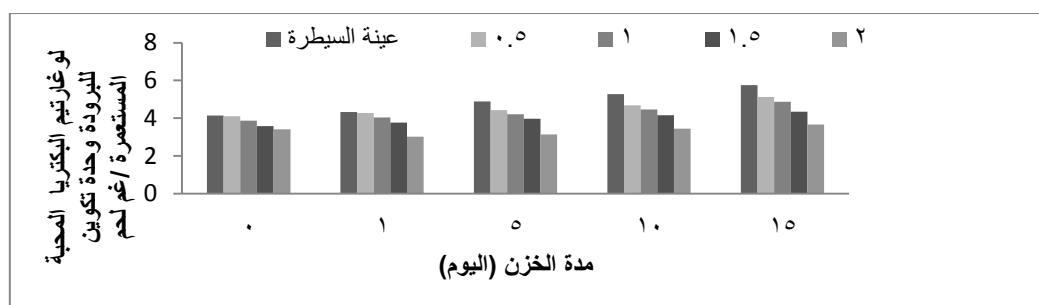
شكل 1: تأثير إضافة تراكيز البيتيد المختلفة المستخلص من خميرة *S. boulardii* عفي لوغاريتم العدد الكلي

للبكتريا الهوائية في اللحم البقري المفروم (وحدة تكوين المستعمرة / غم) في اثناء الخزن بالثلاجة عالية لنمو البكتريا، إذ أصبح العدد الكلي للبكتريا ضمن الحدود المسموح بها في اللحم حسب المواصفة القياسية العراقية التي أشارت إلى أن الحد الأدنى للعدد الكلي للبكتريا المسموح به هو لوغاريتم 7 وحدة تكوين مستعمرة / غم لحم (المواصفة القياسية العراقية، 2006) (1). جاءت النتائج مشابهة لما وجدته *Pihlanto et al.* وجماعته (13) عند دراسة تأثير إضافة بيتيدات المستخلصة الكازئين واللاكتوفيرين في الفعالية المضادة للبكتريا، إذ وجد إن العدد الكلي للبكتريا في لحم الخنزير المفروم المعامل بتركيز 15 ملغم بيتيد / غم لحم المخزن بدرجة حرارة 4 م انخفض بعد 3 أيام من الخزن عند استخدام اللاكتوفيرين أزدادت نسبة التثبيط من 35-61 % بينما عند استعمال البيتيد المستخلص من الكازئين كانت نسبة التثبيط 85 %. بينت الحلفي (2) عند دراسة تأثير البيتيدات المحضرة من مخلفات الاسماك والروبيان في العدد الكلي للبكتريا في أقراص اللحم البقري المعامل بتركيزين 50 و 100 ملغم بيتيد / 100 غم لحم المخزنة بالتبريد 1 ± 4 م

بمدد زمنية مختلفة، إذ كان العدد الكلي للبكتريا بعد يومين من الخزن لوغاريتم 4.81 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم واستمرت الزيادة التدريجية ليصل العدد الكلي بعد 4 و 7 أيام الى لوغاريتم 5.30 و لوغاريتم 5.88 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم بينما بلغت الأعداد الكلية للبكتريا في نهاية مدة الخزن لوغاريتم 6.23 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم، مقارنة بعينة السيطرة التي كانت لوغاريتم 7.46 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم عند الخزن نفسها.

عد البكتريا المحبة للبرودة

يبين شكل 2 أعداد البكتريا المحبة للبرودة في أقراص اللحم المفروم المعامل بالبتيدي المنتج من خميرة *S. boulardii* وبتراكيز (0.5، 1، 1.5، 2) % مع وجود عينة سيطرة والخزن بالتبريد على درجة حرارة الثلاجة ولمدد خزن مختلفة (1، 5، 10، 15، 0) يوماً، إذ لوحظ إن إضافة البتيدي عند ساعة الصفر قد خفض الأعداد في العينات كافة مقارنة مع عينة السيطرة. فضلاً عن ذلك فإن القدرة التثبيطية للبتيدي تزداد بزيادة التركيز وأن هذه الزيادة أظهرت فروقاً معنوية عند مستوى ($p > 0.05$) في أعداد البكتريا المحبة للبرودة إذ إزدادت الأعداد في العينة المضاف لها البتيدي بتركيز 0.5% من 4.10 لوغاريتم العدد الكلي إلى 5.12 لوغاريتم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بينما الزيادة كانت أقل عند إضافة البتيدي بتركيز 2 % 3.66 لوغاريتم وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بعد أن كانت 3.40 لوغاريتم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة بعد مدة خزن 15 يوماً مقارنة مع الأعداد في عينة السيطرة التي ارتفعت من لوغاريتم 4.14 لتصل إلى 5.75 لوغاريتم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم في اثناء المدة الزمنية نفسها. جاءت النتائج متشابهة مع ماتوصلت إليه الحلفي(2) عند دراسته لتأثير إضافة البتيديات



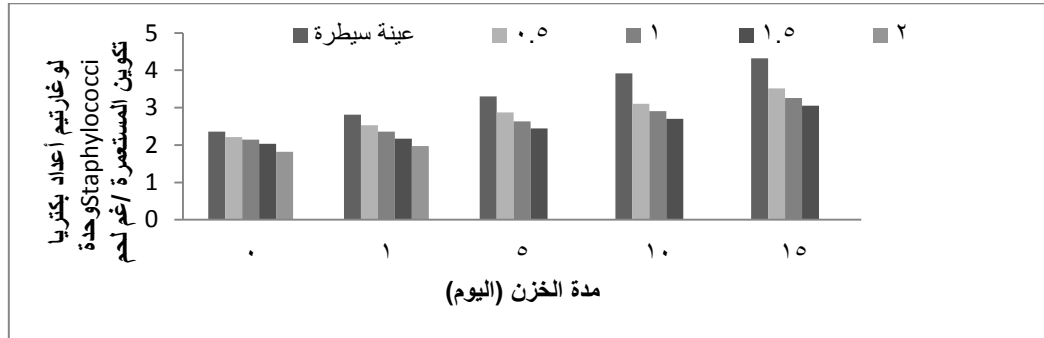
شكل 2: تأثير إضافة تراكيز البتيدي المختلفة والمستخلص من خميرة *S. boulardii* في لوغاريتم العدد الكلي

المحضرة للبكتريا المحبة للبرودة في اللحم البقري المفروم (وحدة تكوين المستعمرة/غم) في اثناء الخزن بالثلاجة من مخلفات الأسماك والروبيان في أعداد البكتريا المحبة للبرودة في اقراص اللحم البقري، إذ إن إضافة التركيز 100ملغم/ 100غم لحم أعطى أعلى فعالية تثبيطية إتجاه البكتريا، إذ انخفضت أعداد البكتريا في اثناء الأيام الأولى من الخزن فكانت لوغاريتم 2.70 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم و بعد 10 أيام من الخزن إزدادت الأعداد الى لوغاريتم 4.12 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم مقارنة مع العينة السيطرة التي بلغت لوغاريتم 5.81 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم عند المدة نفسها من الخزن .

عد بكتريا *Staphylococci*

يبين الشكل 3 أعداد بكتريا *Staphylococci* في أقراص اللحم المفروم المعامل ببتيدي المنتج من خميرة *S. boulardii* وبتراكيز (0.5، 1، 1.5، 2) % مع وجود عينة سيطرة والخزن بالتبريد على درجة حرارة الثلاجة ولمدد خزن مختلفة (1، 5، 10، 15، 0) يوماً، إذ أظهرت النتائج عند إضافة البتيدي بتركيز 0.5% ارتفعت الأعداد من 2.21

للوغاريتم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم لتصل إلى لوغاريتم 3.51 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم وهي أقل مقارنة مع عينة السيطرة، إذ بلغت الأعداد فيها 2.36 لوغاريتم العدد الكلي وحده تكوين المستعمرة/غم لحم وازدادت لتصل 4.32 لوغاريتم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم وذلك بعد مدة خزن 15 يوماً أما عند إضافة الببتيد بتركيز 2% فقد أنخفضت الأعداد مباشرة إلى 1.82 لوغاريتم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم مقارنة مع عينة السيطرة في ساعة الصفر بعدها إنعدم وجود البكتريا عند مدد الخزن 5 و10 و15 يوماً .



شكل 3: تأثير إضافة تراكيز الببتيد المختلفة المستخلص من خميرة *S. boulardii* في العدد الكلي لبكتريا *Staphylococci* في اللحم البقري المفروم (لوغاريتم وحدة تكوين المستعمرة/غم) في اثناء الخزن في الثلاجة

فضلاً عن ذلك فإن أعداد بكتريا *Staphylococci* في عينات اقراص اللحم المفروم المعامل بالببتيد كافة كانت ضمن المواصفة القياسية العراقية التي أشارت الى أن اعداد هذه البكتريا في اللحم المفروم المبرد ذو النوعية الجيدة $10^3 \times 5$ وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم والنوعية المقبولة $10^3 \times 1$ وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم (1)، إذ أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى 0.05 بين المعاملات. وجاءت النتائج مشابهة مع ما وجدته الخزاعي (3) عند دراسته لتأثير الببتيد (البديوسين) المنتج من بكتريا *Pediococcus acidilactici* في أقراص اللحم عند إضافة بتركيز 25%، إذ لم يلاحظ ظهور نمو للأنواع البكتيرية التابعة لهذه المجموعة في اثناء مدة الخزن البالغة 14 يوماً.

عد بكتريا *Salmonella*

عند إضافة الببتيد المنتج من خميرة *S. boulardii* إلى أقراص اللحم المفروم وبتراكيز (1، 0.5، 1.5، 2) % مع وجود عينة سيطرة والخزن بالتبريد على درجة حرارة الثلاجة ولمدد خزن مختلفة (1، 5، 10، 15، 0) يوماً، إذ أظهرت النتائج عدم وجود بكتريا *Salmonella* في العينات جميعها كما مبين في جدول 1 المحضرة والمعاملة لان هذه العينات قد تم تحضيرها تحت ظروف معقمة ابتداءً من عملية تقطيع اللحم وفرمه بالفرايم وأنتهاءً بعملية إضافة الببتيد بنسب مختلفة وهذا ما أكدته Selvan et al. وجماعته (18) إن استعمال اللحوم الخام ومنتجات اللحوم المسوقة التي لا تحتوي على بكتريا *Salmonella* دليل مهم على نظافة اللحوم. علماً إن المواصفة القياسية العراقية تنص على أن اللحوم خالية تماماً من بكتريا *Salmonella* المواصفة القياسية العراقية (1). أتفقت النتائج مع عبد علي وآخرون (5) عند دراستهم للتلوث البكتيري للحوم الحمراء المحلية والمستوردة فلم يكن هناك وجود لبكتريا *salmonella* في اللحوم المحلية ولا في المستوردة. ومن خلال الاختبارات البكتيرية لأقراص اللحم يلاحظ سبب إرتفاع الأعداد البكتيرية عند معاملة السيطرة مقارنة باللحم المعامل بالببتيد وبتراكيز مختلفة وهذا يعود إلى أن اللحم المفروم هو أسهل تلفاً من اللحم غير المفروم بسبب زيادة المساحة السطحية، كذلك أن عملية الفرغ تؤدي الى مزج

البكتريا مع اللحم وبهذا فهي تكون بتماس مباشر مع محتويات اللحم وهذا يساعد ويسهل نمو وتكاثر البكتريا كما بين Doyle and Buchanan (8) أما سبب إنخفاض الأعداد البكتيرية (العدد الكلي للبكتريا ، بكتريا المحبة للبرودة، بكتريا *Staphylococci*، بكتريا *Salmonella*) فيعود إلى الفعالية التثبيطية التي تمتلكها الببتيدات الحيوية فهي عادةً تحمل شحنات موجبة بسبب وجود الأحماض الأمينية الموجبة (الهستيدين واللايسين والارجينين) في تركيبها وتعمل هذه الشحنات على الإتحاد مع الشحنات السالبة الموجودة في الفوسفوليبيدات التي تُعد من مكونات جدران الخلية البكتيرية وبسبب هذا التفاعل يؤدي إلى تكوين فتحات في الجدار الخلوي للبكتريا، وقد تسبب في تمزق الجدار الخلوي وتسرب المكونات الخلوية إلى وسط النمو ، وقد تثبط هذه الببتيدات عمل بعض الانزيمات الخلوية أو تتحد مع كل من DNA أو RNA وبالتالي تسبب هلاك الخلية البكتيرية (14) .

المصادر

- 1- المواصفة القياسية رقم (2270/4). الحدود المايكروبية في الاغذية الجزء الرابع الحدود المايكروبية للحوم ومنتجاتها IQS: 2270/4/2006 ووزارة التخطيط والتعاون الانمائي الجهاز المركزي للقياس والسيطرة النوعية
- 2- الحلفي، عالية زيارة هاشم (2016). إستخلاص وتنقية وتوصيف متحللات بروتينية من مخلفات الأسماك والروبيان وإختبار كفاءتها في حفظ أقراص اللحم البقري .أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة. 142 صفحة
- 3- الخزاعي، علاء كريم نعيمه (2010). إنتاج البديوسين شبيه البكتريوسين من عزلة محلية لبكتريا *Pediococcus acidilactici* واستعماله كمادة حافظة للأغذية. أطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة 177 صفحة.
- 4- الشاوي، منار جبار عبد الشهيد (2017). فصل وتنقية الببتيدات الفعالة المنتجة من خميرة *Saccharomyces boulardii* وأستعمالها في حفظ اللحم البقري. كلية الزراعة ،جامعة البصرة .
- 5- عبد علي، سمير عبد الامير؛ عبد الامير جواد زابر؛ صلاح مهدي محسن و منقذ عبد المجيد علوان. (2013). التلوث البكتيري في اللحوم الحمراء المحلية والمستوردة. المجلة العراقية للعلوم .الصفحة 249-254.
- 6- Brown, A. and H. Smith (2015). Benson's microbiological applications. MCGraw-Hill Education , New York USA.
- 7- Dave and A.E. Ghaly (2011). Meat Spoilage Mechanisms and Preservation Techniques: A Critical Review. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 6 (4): 486-510.
- 8- Doyle, M.P. and R.L. Buchanan (2013). Food Microbiology: Fundamentals and frontiers. 4th edition. AsMpress. washington.DC.USA.
- 9- Liu, J.-J.; I. I. Kong; G.-C. Zhang; L. N. Jayakody; H. Kim; P.-F. Xia; Kwak, S.; Sung, B. H.; Sohn, J.-H. and Walukiewicz, H. E. (2016). Metabolic Engineering of Probiotic *Saccharomyces boulardii*. Applied and environmental microbiology, 82:2280-2287.
- 10- Mahlapuu, M.; J. Håkansson; L. Ringstad and C. Björn (2016). Antimicrobial peptides: An emerging category of therapeutic agents. frontiers in cellular and infection microbiology. 6:1-12p.
- 11- Mcphee, J. B.; M. G. Scott and R. E. Hancock (2005). Design of host defence peptides for antimicrobial and immunity enhancing activities. Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening, 8: 257-272.

- 12- Naimah, A.K.; A.J. Al-Manhel and M.J. Al-Shawi (2017). Isolation, Purification and Characterization of Antimicrobial Peptides Produced from *Saccharomyces boulardii* .Int J Pept Res Ther.1-7.
- 13- Pihlanto, A. (2006). Antioxidative peptides derived from milk protein. International Dairy Journal. 16(11) :1306–1314
- 14- Powers, J.-P. S and R. E. Hancock (2003). The relationship between peptide structure and antibacterial activity. Peptides, 24, 1681-1691.
- 15- Qamar, A.; S. Aboudola; M. Warny; P. Michetti; Pothoulakis, C.; Lamont; J. T. & Kelly; C. P.(2001). *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin a immune response to clostridium difficile toxin a in mice. infection and immunity, 69: 2762-2765.
- 16- Reddy, K.; R. Yedery and C. Aranha (2004) . Antimicrobial peptides: premises and promises. international journal of antimicrobial agents. 24: 536-547.
- 17- Seltman, H.J. (2015). Experimental design and analysis .Retrieved January , 15p.428.
- 18- Selvan, P.; R. Narendra; S. Babu; Sureshkumar.; Venkataramanujamv (2007) Microbial Quality of Retail Meat Products Available in Chennai city. American journal of Food Technology; vol.2 (1): p.55-59.
- 19- Tiago, F. D. C. P.; F. D. S. Martins; E. Souza; P. F. P. Pimenta; H. Araújo R. C. Castro; I. D. M.; R. L. Brandão and J. R. Nicoli (2012). Adhesion to the yeast cell surface as a mechanism for trapping pathogenic bacteria by *saccharomyces* probiotics. Journal Of Medical Microbiology,61:1194-1207.
- 20- Tomičić, R. M., I. S. Čabarkapa; Đ. M. Vukmirović; J. D. Lević and Z. M. Tomičić (2016a). Influence of growth conditions on biofilm formation of *listeria monocytogenes*. Food And Feed Research, 43: 19-24.

UTILIZATION OF BIOACTIVE PEPTIDES PRODUCED FROM *Saccharomyces boulardii* YEAST USING AS PRESERVATION OF BEEF

A. J. Al-Manhel A. K. Naimah M. J. Alshawi

ABSTRACT

Bioactive peptide was used to extend period of storage for ground beef tablets with different concentrations (0.5%, 1%, 1.5% and 0.2%). It found that there was reducing in bacterial numbers compared with control sample during storage time (15 days) in cool condition . Also, the total number of bacteria was low at 2% concentration of peptide. In addition, the Log. total number after 15 days was 6.48 for meat compared with sample at zero time which was 5.82CFU/gm. However, when peptide concentration 2% was added.The increase in psychotropic bacteria count was lower(3.66) CFU/gm. The bacterial count was 3.40 CFU/GM after 15 days at zero time,while.the average bacterial count incontrol at zero time and after 15 days of storage (4.14 and 5.75) CFU/gm respectively. Furthermore,Staphylococci was not existed at 2% concentration to samples at periods of storage 5, 10 and 15 days compared with Log. numbers of control sample (3.30, 3.92 and 4.32) respectively. Likewise, the results of bacterial number in meat samples with peptide add were according to the Iraqi standard, and also,the presence of *Salmonella* bacteria was exited in all samples during storage time.

College of Agric., Basrah Univ., Basrah, Iraq.