مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 29 (1)، 57- 69 ،2016

تأثير إضافة الببتيدات المحضرة من مخلفات الروبيان المنقاة بالترشيح الهلامي في اقراص لحم البقر المخزن بالتبريد

عالية زيارة هاشم الحلفي و ام البشر حميد جابر الموسوي

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

المستخلص: حضر متحللين بروتينين من مخلفات الروبيان باستعمال انزيمي Alcalase وPepsin اجري لهما عملية الفصل بالترشيح الفائق ثم اجريت عملية التنقية بالترشيح الهلامي وتم الحصول على أربع قمم لببتيدات متحلل أنزيم Alcalase وثلاث قمم لببتيدات متحلل إنزيمPepsin، اختبرت الفعالية المضادة للأكسدة لجميع القمم الناتجة وقد اظهرت ببتيدات القمة الاولى والثانية من كل إنزيم فعالية مضادة للأكسدة اعلى بالمقارنة مع القمم الاخرى وقد اختبر تأثيرها التثبيطي تجاه البكتريا وقد كان لببتيدات القمة الثانية لإنزيمPepsin تأثير تثبيطي تجاه بكتر يا *Escherichia coli* مقارنة بالقمم الاخرى ،اضيفت ببتيدات قمتي كلا الانزيمين إلى اقراص اللحم المفروم بتركيزين 50و100ملغم.100غم لحم $^{-1}$،خزنت بالتبريد بدرجة حرارة 1±4م لمدة 10ايام تم خلالها متابعة قيم البيروكسيد لاقراص اللحم المفروم المعامل ببتيدات قمتي الإنزيمين و لوحظ ان الانخفاض في قيم البيروكسيد لاقراص اللحم المفروم المعاملة ببتيدات القمة الثانية لإنزيم Alcalase كان اكثر وضوحا مقارنة ببتيدات القمة الأولى لنفس الإنزيم وببتيدات قمتي إنزيم Pepsin وقد حصل انخفاض في العدد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون الكلية والبكتريا المحبة للبرودة عند المعاملة ببتيدات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و 100ملغم 100غم لحم$^{-1}$ على التوالي.

الكلمات الدالة: الببتيدات ، التنقية ،الترشيح هلامي ، حفظ اقراص اللحم.

المقدمة

تعد تقنية الترشيح الهلامي أداة فعالة لفصل الببتيدات وتنقيتها والتي تقوم على أساس الحجم الجزئي إذ تكون البروتينات والببتيدات ذات الوزن الجزئي الكبير غير قادرة على الانتشار والمرور عبر المسام الهلامي في حين ان الببتيدات الصغيره تدخل عبر المسام الهلامي ثم يتم إقصاؤها إلى خارج الهلام، وتوجد الببتيدات منخفضة الوزن الجزئي في الغذاء ضمن خليط معقد من السكريات والأملاح والأحماض العضوية والأحماض الامينية الحرة مما جعل فصلها من الغذاء عملية صعبة ، ولذلك تستعمل طرائق الكروموتوكرافيا وطرائق الترشيح الفائق [9]. فالعديد من الدراسات التي أجريت على الببتيدات ركزت على فعالية الببتيدات المضادة للأكسدة المعزولة من مصادر غذائية متنوعة وعلى عزلها وتشخيصها ودراسة العلاقة بين تركيبها والخصائص الوظيفية إلا إن هنالك القليل

ماهو معروف عن استعمالها في التطبيقات الغذائية، اذ تنتج عن الأكسدة آثار غير مرغوبة في الغذاء تسهم في تدهور نكهة الطعام والتسبب بمختلف الأمراض لذا تستعمل مضادات الأكسدة الصناعية في الغذاء كي تسهم في الحفاظ على الجودة الحسية للغذاء وإطالة العمر الخزني عن طريق منع التزنخ ، إلا إن استعمالها قد يكون محدودا بسبب آثارها الضارة للإنسان [6] ونتيجة لذلك فان هنالك رغبة في استعمال مضادات الأكسدة الطبيعية لما تمتلكة من فعالية مضادة للأكسدة مقارنة بمضادات الأكسدة الصناعية وربما تكون أعلى ومن دون المخاطر الصحية المرتبطة بمضادات الأكسدة الصناعية فقد تم عزل العديد من الببتيدات المضادة للأكسدة من مصادر مختلفة، فالببتيدات المضادة للأكسدة تمتلك وزناً جزيئياً واطئاً وتركيباً ثابتاً وفعالية عالية وسهلة الامتصاص في الأمعاء من دون أن تسبب مخاطر صحية [11]. كما تنوعت مصادر الببتيدات المضادة للميكروبات منها ماهو نباتي أو حيواني أو مصدره الإحياء المجهرية [16] . فهنالك أكثر من 500 نوع من الببتيدات المضادة للميكروبات التي عزلت من مدى واسع من الكائنات الحية[8]. لذا هدفت الدراسة الى متابعة تأثير اضافة الببتيدات المنقاة على الصفات الكيميائية والبكتيرية لاقراص اللحم البقري المفروم.

المواد وطرائق العمل

جمعت قشور الروبيان ورؤوسة من السوق المحلية في محافظة البصرة بوصفهما ناتجاً ثانوياً لعملية تنظيف الروبيان ، وقد نظفت المخلفات بغسلها بالماء الجاري وجففت في الفرن الكهربائي الهوائي على درجة حرارة 40م مع التقليب المستمر، ثم طحنت تلك المخلفات الجافة بالمطحنة الكهربائية وغربلت و أزيل الدهن منها بالهكسان باستعمال جهاز السوكسليت حفظت في عبوات من البولي اثلين بدرجة ±18م لحين الاستعمال.

اللحم البقري

استعمل اللحم البقري الطازج المزال عنه الدهن في عمل اقراص اللحم الذي تم شراؤة من الاسواق المحلية في محافظة البصرة.

الانزيمات

استعمل الإنزيمان [Pepsin وAlcalase] المجهزان من شركة Sigma-aldrach في تحضير المتحللين البروتينيين تحت الظروف المثلى لعمل كل انزيم من درجة حرارة 37 و50 م ورقم هيدروجيني 2 و 8 لكلا الانزيمين على التوالي.

تحضير المتحللين البروتينيين

اتبعت الطريقة التي ذكرها [10] و[12] لتحضير المتحللين البروتينيين . وذلك بمزج المادة الأولية المحضرة مع الماء المقطر بنسبة1:5 وزن.حجم $^{-1}$ وقد خلطت لمدة 2-3 دقيقة لغرض التجانس ، عدل الرقم الهيدروجيني إلى الرقم الملائم لعمل كل إنزيم باستعمال هيدروكسيد الصوديوم وحامض الهيدروكلوريك وأجريت عملية التحلل في حمام مائي مثبت على الدرجة الحرارية الملائمة لعمل كل إنزيم وعند الوصول إلى الدرجة الحرارية المطلوبة أضيف الإنزيم بنسبة 0.1 % من وزن العينة تدريجيا بعد خلطة بكمية قليلة من الماء المقطر استمر التحلل لمدة خمس ساعات مع مراعاة

التحريك من مدة لأخرى ومتابعة درجة التحلل كل نصف ساعة وبعد انتهاء مدة التحلل ثبطت فعالية الإنزيمات بدرجة حرارة 90م لمدة 10 دقائق ثم اجري النبذ المركزي بسرعة 5000 دورة .دقيقة$^{-1}$ وتم جمع الراشح.

الفصل بالترشيح الفائق

مرر راشح المتحللين البروتينيين المحضرين عبر أغشية الترشيح الفائق مع حجم مسام[MWCO] 5 كيلودالتون وجمع الراشح المفصول وركز باستعمال المبخر الدوار بدرجة حرارة 40م وجفد وخزن لحين الاستعمال.

التنقية بكروموتوكرافيا الترشيح الهلامي

تحضيرالهلام وتعبئة العمود

حضر هلام السيفادكس Sephadex G25 بتعليق 56غم من حبيبات السيفادكس في 250 مل من ماء مقطر وفقا لتعليمات الشركة المجهزة Pharmacia وقد سخن الخليط في حمام مائي بدرجة حرارة 90م لمدة ساعة ثمَّ بُرِّد الخليط وأضيف إليه 0.02% Sodium azide لمنع نمو الإحياء المجهرية ثم أجريت عملية إزالة الغازات وصب الهلام في العمود الذي تبلغ أبعادة 2.5 ×75 سم ثم أجريت الموازنة بالماء المقطر بمقدارثلاثة أمثال حجم الهلام في العمود بمعدل جريان 60 مل. ساعة$^{-1}$ [15].

تنقية الببتيدات بالترشيح الهلامي

مرر 100ملغم.مل$^{-1}$ من المتحلل المجفد على عمود السيفادكس الذي حضر بالخطوة السابقة جمع 2مل في كل انبوبة وقراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجي 280 نانوميتر وجمعت الأجزاء وركزت بالمبخر الدوار Rotary evaporation بدرجة حرارة 40°م ثم جفدت واختبرت فعاليتها المضادة للاكسدة والمثبطة للبكتريا ثم استعملت في حفظ اقراص اللحم المفروم.

تحضير اقراص اللحم المفروم

حضرت أقراص اللحم بعد فرم اللحم بماكنة كهربائية تم تعقيمها بالماء الحار ثم أضيف إليه الدهن بنسبة 10% وفرم مرة أخرى لغرض التجانس ثم قسم إلى ثلاث معاملات بمكررين.

المعاملة الأولى: العينة الضابطة بدون إضافة الببتيدات المعاملة الثانية: - إضافة ببتيدات متحلل انزيم Alcalase بتركيز50ملغم. 100غم لحم$^{-1}$ - إضافة ببتيدات متحلل انزيم Pepsin بتركيز50ملغم .100^{-1}غم لحم.

المعاملة الثالثة: إضافة ببتيدات متحلل انزيم Alcalase بتركيز 100ملغم. 100غم لحم$^{-1}$ -إضافة ببتيدات متحلل انزيم Pepsin بتركيز 100ملغم. 100غم لحم$^{-1}$، وضعت الأقراص في أكياس من البولي اثلين وغلقت جيدا وخزنت بالتبريد بدرجة حرارة 1±4 م لمدة 10 أيام وتم متابعة التغير في قيمة البيروكسيد و أعداد البكتريا الملوثة للحم خلال مدة الخزن.

تقدير قيمة البيروكسيد

قدرت قيم البيروكسيد لأقراص اللحم المعاملة والمخزنة بالتبريد لمدة [0 و2 و4 و7 و10] أيام وللعينة الضابطة وفقا للطريقة المذكورة في [4].

الاختبارات البكتيرية

أجريت الاختبارات البكتيرية بأخذ 1 غرام من أقراص اللحم المفروم المضاف له الببتيد من كل تركيز وأضيف إلى 9مل من محلول الببتون الفسيولوجي المعقم [0.1غرام Peptone مع Peptone water 100 مل من الماء المقطر] وتحت ظروف معقمة وحضرت سلسلة من التخافيف العشرية للمعاملات المختلفة بواقع مكررين ولغاية 10^{-5} وشملت الاختبارات البكتيرية الاتي:

العد الكلي للبكتريا Total bacterial count

اتبعت الطريقة المذكورة في [5] في تقديرالعدد الكلي للبكتريا باستعمال الوسط الزرعي Nutrient Agar.

عد بكتريا القولون الكلية

قدر عدد بكتريا القولون الكلي بطريقة الصب باستعمال الوسط الزرعي MacConkey Agar حسب الطريقة الواردة في (5).

عد البكتريا المحبة للبرودة

استعمل الوسط الغذائي Nutrient Agar في حساب أعداد البكتريا المحبة للبرودة إذ حضنت الأطباق بدرجة حرارة 7 م وتم حساب العدد الكلي للبكتريا المحبة للبرودة حسب الطريقة التي ذكرها [3].

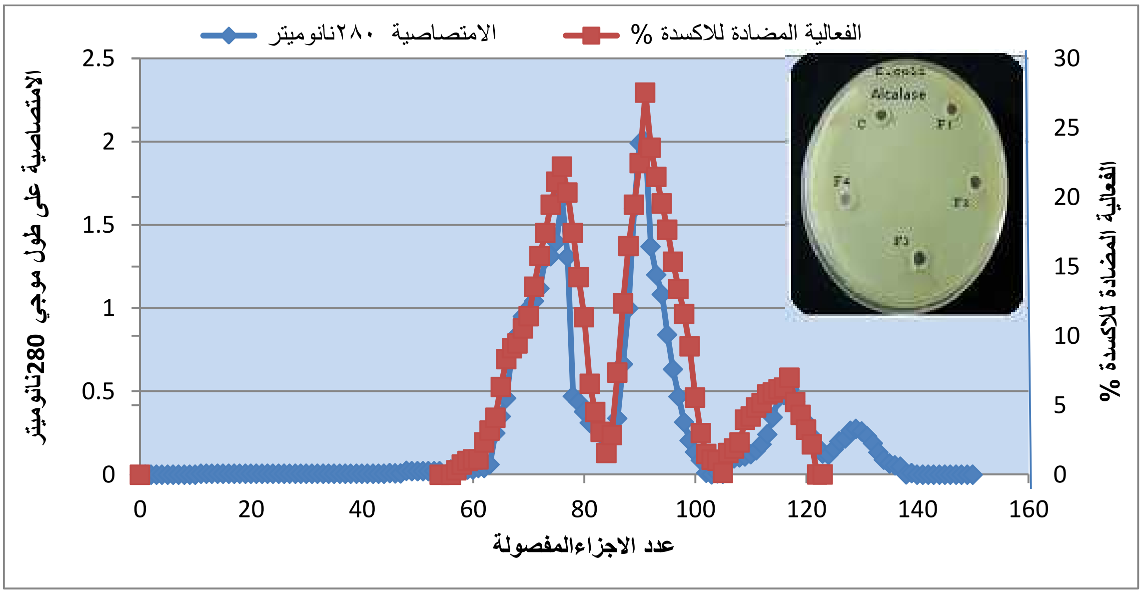
التحليل الاحصائي:

حللت النتائج احصائيا باستعمال التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design [CRD] ضمن البرنامج الاحصائي الجاهز SPSS وقورنت النتائج باستعمال اقل فرق معنوي معدل [RLSD] عند مستوى معنوية [0.05] وفقا لما ذكرة [1].

النتائج والمناقشة

التنقية بالترشيح الهلامي لمتحلل انزيم Alcalase مع اختبار تحديد الفعالية المضادة للاكسدة والمثبطة للبكتريا للقمم المفصولة

تبين نتائج الترشيح الهلامي في الشكل [1] مرتسم الترشيح الهلامي لتنقية ببتيدات المتحلل البروتيني لمخلفات الروبيان المفصولة باغشية الترشيح الفائق 5 كيلودالتون اذ اوضحت النتائج ظهور اربع قمم لمتحلل انزيم Alcalase واختبرت فعاليتها المضادة لاكسدة حامض اللينوليك وحددت القمة الاولى والثانية بفعاليتها العالية المضادة للاكسدة وعند اختبار كفاءة القمم المثبطة للبكتريا فلم يكن لها اي تاثير تثبيطي تجاه بكتريا *E. coli*.



شكل [1] مرتسم الفعالية المضادة للاكسدة مع صورة توضح الفعالية المثبطة لبكتريا *E.coli* لببتيدات قمم متحلل مخلفات الروبيان المحضر بانزيم Alcalase المنقاة بالترشيح الهلامي.

التنقية بالترشيح الهلامي لمتحلل انزيم Pepsin مع اختبار تحديد الفعالية المضادة للاكسدة والمثبطة للبكتريا للقمم المفصولة

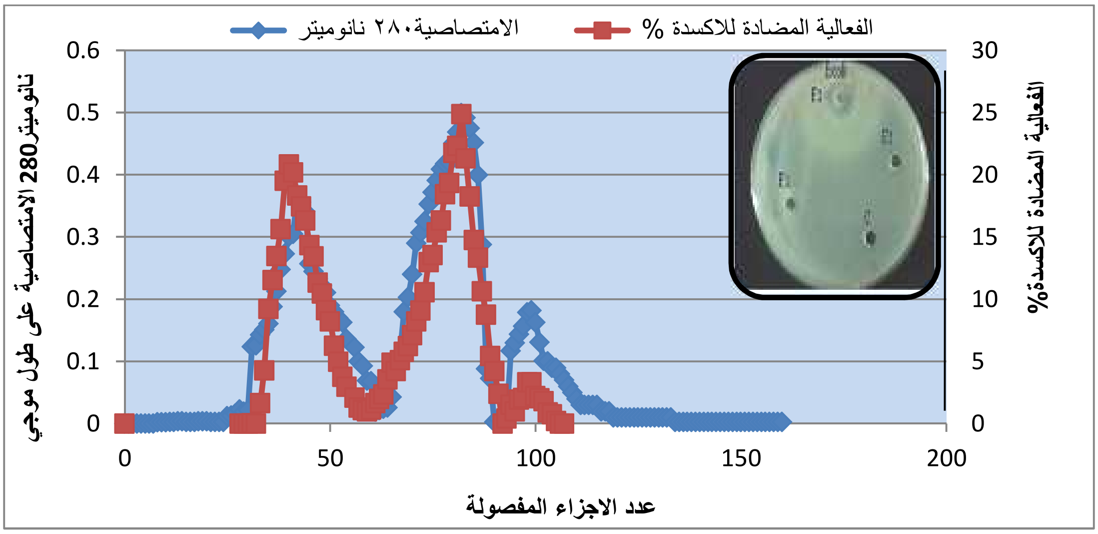
يوضح الشكل [2] مرتسم الترشيح الهلامي لتنقية ببتيدات قمم المتحلل البروتيني لمخلفات الروبيان المفصولة باغشية الترشيح الفائق 5 كيلودالتون اذ

لوحظ من النتائج ظهورثلاث قمم اختبرت فعاليتها المضادة لاكسدة حامض اللينوليك اذ حددت القمة الاولى والثانية بفعاليتها العالية المضادة للاكسدة كما حددت ببتيدات القمة الثانية بفعاليتها المثبطة لبكتريا *E. coli* اما القمم الاخرى فلم يكن لها تاثير تثبيطي تجاه البكتريا.

الاختبارات الكيميائية والبكتيرية لاقراص اللحم المفروم

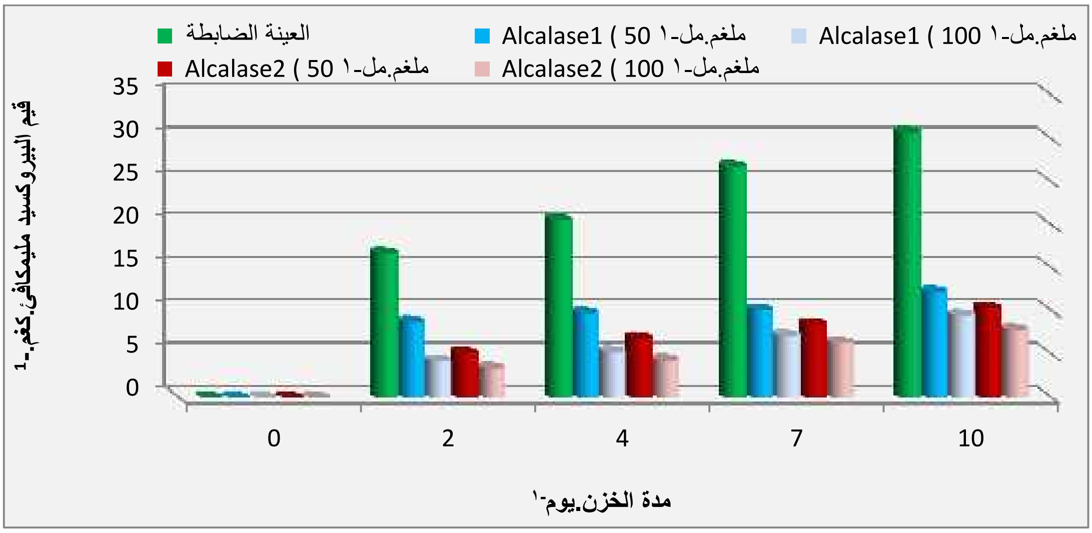
رقم البيروكسيد

يبين الشكل [3] قيم البيروكسيد لأقراص اللحم المفروم المضاف اليها ببتيدات قمتي انزيم Alcalase بتركيزين 50و100ملغم.100غم لحم$^{-1}$ المخزنة بالتبريد [4±1] °م لمدة [2و 4 و 7و10] يوم. توضح النتائج ظهور فروق معنوية



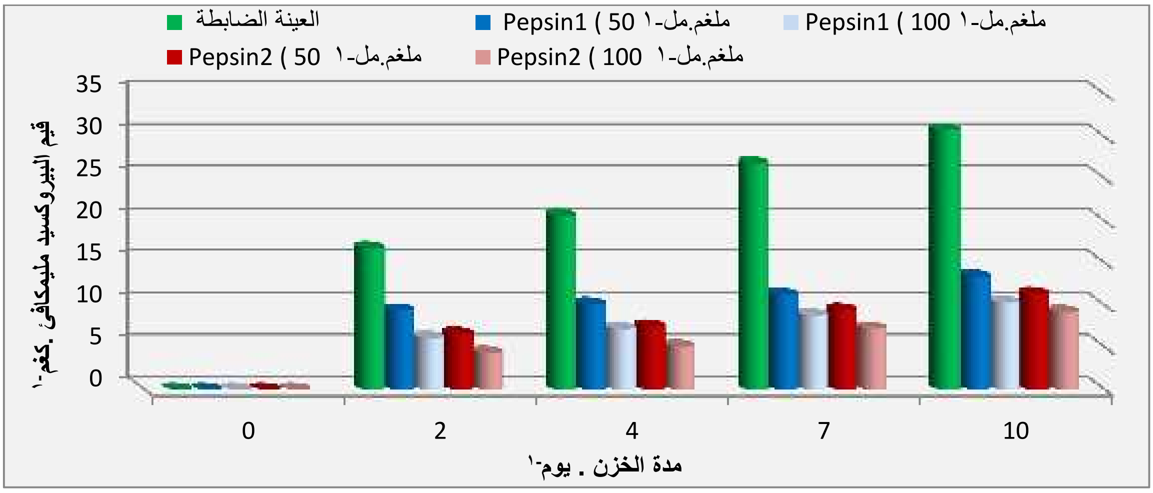
شكل [2] مرتسم الفعالية المضادة للاكسدة مع صورة توضح الفعالية المثبطة لبكتريا *E.coli* لببتيدات قمم متحلل مخلفات الروبيان المحضر بانزيم Pepsinالمنقاة بالترشيح الهلامي.

[P<0.05] بين قيم البيروكسيد لببتيدات قمتي الإنزيم باختلاف التركيز والمدة الزمنية، وقد ارتفعت قيم البيروكسيد بصورة تدريجية خلال مدد الخزن إلا إن هذا الارتفاع كان أقل بالمقارنة مع العينة الضابطة ، فالتركيز 50ملغم.100غم لحم$^{-1}$ لببتيدات القمة الثانية لانزيم Alcalase أحدث انخفاض في قيمة البيروكسيد كان حوالي4.12 مليمكافئ .كغم لحم$^{-1}$ مقارنة بببتيدات القمة الأولى المضافة بالتركيزنفسة فكانت قيمة البيروكسيد 8.76 مليمكافئ . كغم$^{-1}$ بعد يومين من الخزن. وان هذه القيم أخذت بالزيادة التدريجية حتى وصلت إلى12.29و10.34 مليمكافئ.كغم لحم$^{-1}$ لببتيدات القمة الاولى والثانية بعد 10 أيام من الخزن. وعند زيادة التركيز إلى100ملغم.100غم لحم$^{-1}$ امتلكت ببتيدات القمة الثانية قابلية اعلى في خفض قيمة البيروكسيد بلغت 3.41 مليمكافئ .كغم$^{-1}$ لحم بعد يومين من الخزن، ثم حصلت زيادة تدريجية في قيم البيروكسيد وصلت الى 9.48 و7.86 مليمكافئ . كغم لحم$^{-1}$ لببتيدات القمة الاولى والثانية بعد 10 ايام خزن وان جميع هذه القيم كانت أقل بالمقارنة مع العينة الضابطة التي بلغت 30.77 مليمكافئ.كغم لحم$^{-1}$ بعد 10 أيام. اما قيم البيروكسيد لببتيدات قمتي انزيم Pepsin فيلاحظ من الشكل [4] ان ببتيدات القمة الثانية اثرت في قيمة البيروكسيد اذ انخفضت بعد يومين من الخزن لتبلغ 6.57 مليمكافئ. كغم$^{-1}$ اما قيمة البيروكسيد لببتيدات القمة الاولى فكانت 9.40 ميلي مكافئ. كغم$^{-1}$ عند التركيز50 ملغم.100غم لحم$^{-1}$ الا ان هذه القيم كانت اقل من قيمة البيروكسيد للعينة الضابطة التي بلغت 16.74 مليمكافئ. كغم$^{-1}$ وبعد 4 و7 ايام من الخزن ارتفعت قيمة البيروكسيد بشكل تدريجي لتصل الى10.16و 7.47ميلي مكافئ. كغم$^{-1}$ و 11.26و 9.44 مليمكافئ. كغم$^{-1}$ على التوالي، اما بعد 10 ايام من الخزن فكانت قيمة البيروكسيد 13.42و11.36ميليمكافئ. كغم$^{-1}$ على التوالي لببتيدات قمتي الانزيم في حين كانت قيمة البيروكسيد للعينة الضابطة30.77ميليمكافئ.كغم$^{-1}$



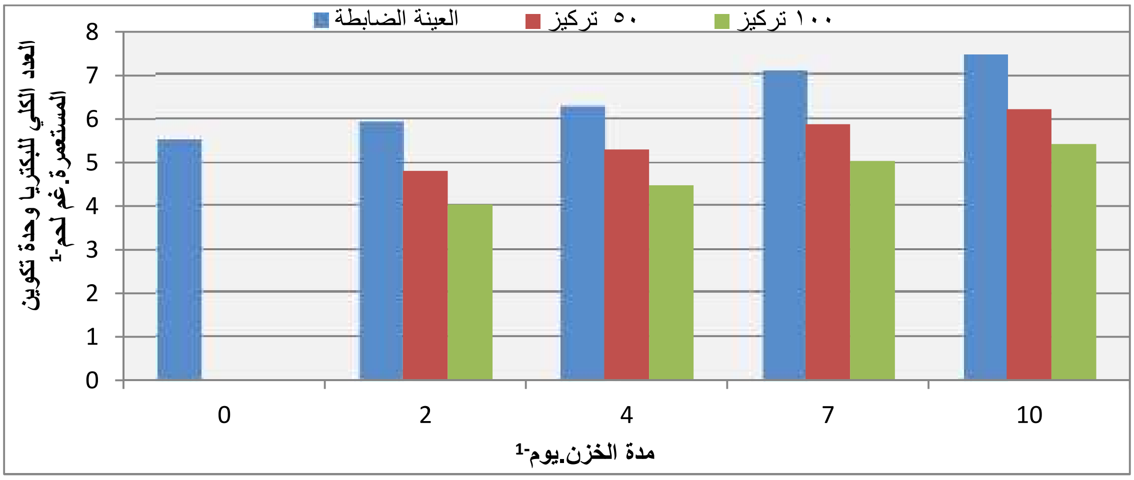
شكل[3]: قيم البيروكسيد لأقراص اللحم المفروم المعامل بببتيدات قمتي انزيم Alcalase [1و2] يمثل القمة الاولى والثانية.

اما عند زيادة تركيزببتيدات القمة الثانية الى 100ملغم.100غم لحم$^{-1}$ فقد احدثت انخفاضا واضحا في قيمة البيروكسيد بلغ 4.36 ميليمكافئ. كغم$^{-1}$ في حين بلغت قيمة البيروكسيد لببتيدات القمة الاولى 6.11 ميليمكافئ. كغم$^{-1}$ بعد يومين من الخزن وهي اقل مقارنة بالعينة الضابطة وبتقدم مدة الخزن حصلت زيادة في قيمة البيروكسيد كانت 10.73 و9.22 ميليمكافئ. كغم$^{-1}$



شكل [4]: قيم البيروكسيد لأقراص اللحم المفروم المعامل بببتيدات قمتي انزيم Pepsin .

لببتيدات القمة الأولى والثانية على التوالي بعد 10 ايام خزن، اتفقت النتيجه مع [7] ، اذ وجدوا عند متابعتهم لقيم البيروكسيد لشرائح سمك الكروكرالمضاف لها الببتيدات المحضرة من مخلفات الروبيان بأنزيم Alcalase حصول انخفاض معنوي في قيمة البيروكسيد ثم ازدادت قيم البيروكسيد تدريجيا خلال 10 أيام من الخزن بالتبريد إلا إن الزيادة كانت أقل مقارنة بالعينة الضابطة. وقد يكون سبب الزيادة في قيم البيروكسيد عائدة الى تركيب دهون اللحم وأكسدتها في أثناء الخزن والتي تؤدي إلى تكوين البيروكسيدات والالديهايدات والكيتونات [2]. اما سبب انخفاض قيم البيروكسيد في اقراص اللحم المعاملة بتركيز 50و100ملغم.100غم لحم$^{-1}$ من الببتيدات قد يعود الى الفعالية العالية المضادة للاكسدة التي تمتلكها هذه الببتيدات.



شكل[5]: العدد الكلي للبكتريا في أقراص اللحم المفروم المخزنة بالتبريد.

الاختبارات البكتيرية

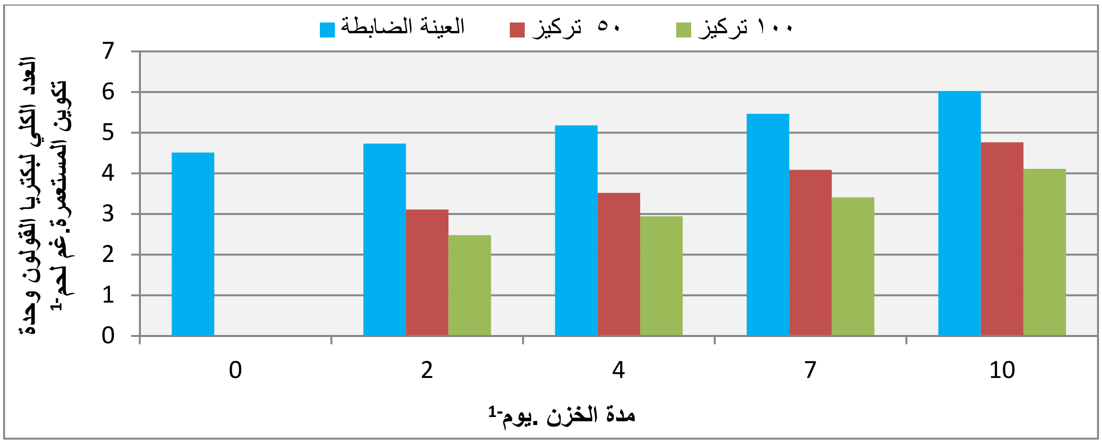
العدد الكلي للبكتريا

يوضح الشكل [5] العدد الكلي للبكتريا في اقراص اللحم المفروم المعامل ببتيدات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و 100 ملغم.100غم لحم$^{-1}$ المخزنة بالتبريد 1±4°م بمدد زمنية مختلفة. وقد لوحظ من النتائج ان القدرة التثبيطية للببتيدات تزداد بزيادة التركيز وان هذه الزيادة اظهرت فروقا معنوية [$p<0.05$] في العدد الكلي للبكتريا عند الخزن بالتبريد باختلاف التركيز، لأن إضافة الببتيدات إلى أقراص اللحم المفروم بتركيز 50ملغم.100 غم لحم$^{-1}$ أظهرت فعالية تثبيطية أدت إلى انخفاض العدد الكلي للبكتريا في بداية الخزن مقارنة بالعينة الضابطة إذ كان العدد الكلي للبكتريا بعد يومين من الخزن 4.81 وحده تكوين المستعمرة.غم لحم$^{-1}$ واستمرت الزيادة التدريجية ليصل العدد الكلي بعد 4و7 ايام الى 5.30 و5.88 وحدة تكوين المستعمرة. غم$^{-1}$ لحم في حين بلغت الاعداد الكلية للبكتريا في نهاية مدة الخزن 6.23وحدة تكوين المستعمرة.غم لحم$^{-1}$، مقارنة بالعينة الضابطة 7.46 وحدة تكوين المستعمرة. غم$^{-1}$ لحم عند نفس المدة.

أما عند زيادة تركيز الببتيدات الى 100ملغم.100غم لحم$^{-1}$ لاقراص اللحم المفروم ظهرت فعالية تثبيطية أعلى إذ انخفض العدد الكلي للبكتريا ليصل بعد يومين من الخزن إلى 4.04 وحدة تكوين المستعمرة .غم لحم$^{-1}$ مقارنة بالعينة الضابطة فيها العدد الكلي 5.92 وحده تكوين المستعمرة. غم$^{-1}$ لحم وبتقدم مدة الخزن من 3الى7 ايام لوحظ زيادة طفيفة في العدد الكلي للبكتريا واستمرت الى مدة 10ايام اذ وصل العدد الكلي الى 5.43 وحدة تكوين المستعمرة.غم$^{-1}$ لحم وهي اقل من الزيادة الحاصلة في العينة الضابطة التي وصل فيها العدد الكلي الى7.46 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم$^{-1}$، هذه النتيجة تقاربت مع [13]عند دراستهم لتأثير ببتيدات الكازين واللاكتوفيرين في الفعالية المضادة للبكتريا إذ وجدوا إن العدد الكلي للبكتريا في لحم الخنزير المفروم المعامل بالكازين واللاكتوفيرين بتركيز 15 ملغم.غم لحم$^{-1}$ المخزن بدرجة حرارة 4 م انخفض بعد3 أيام من الخزن.

اعداد بكتريا القولون الكلية

يوضح الشكل (6) ان اعداد بكتريا القولون الكلية في اقراص اللحم المفروم المعامل ببتيدات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و100 ملغم . 100غم لحم$^{-1}$ المخزنة بالتبريد 1±4°م بمدد زمنية مختلفة. وبينت النتائج ان قابلية الببتيدات في تثبيط بكتريا القولون الكلية ازدادت بزيادة التركيز وقد اثرت معنويا ($p<0.05$) في اعداد البكتريا الكلية عند الخزن بالتبريد .ولوحظ من الشكل إن اضافة الببتيدات الى اقراص اللحم بتركيز 50 ملغم. 100غم لحم$^{-1}$ اثر في الاعداد الكلية لبكتريا القولون اذ بلغت 3.11 وحدة تكوين المستعمرة . غم لحم$^{-1}$ بعد يومين من الخزن إلا إن هذه الأعداد كانت أقل من اعداد البكتريا في العينة الضابطة التي بلغت 4.51 وحدة تكوين المستعمرة.غم لحم$^{-1}$

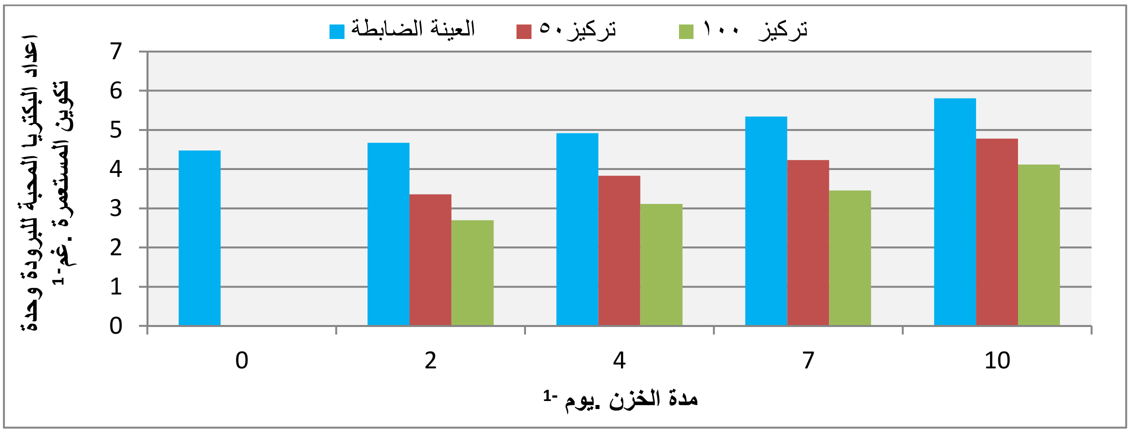


شكل [6] اعداد بكتريا القولون الكلية في أقراص اللحم المفروم المخزنة بالتبريد.

وبعد اربعة ايام وصلت الاعداد الى 3.52 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم$^{-1}$ وبزيادة مدة الخزن الى 7و10 ايام من الخزن ازدادت الأعداد البكتيرية بشكل تدريجي لتصل الى 4.08 و 4.76 وحده تكوين المستعمرة .غم لحم$^{-1}$ ولكن هذه الزيادة كانت اقل من الزيادة الحاصلة في اعداد البكتريا في العينة الضابطة. وكانت الفعالية التثبيطية للببتيدات واضحة عند التركيز 100 ملغم.100غم لحم$^{-1}$ بالمقارنة مع التركيز 50 ملغم. 100غم لحم$^{-1}$ والعينة الضابطة لتبلغ أعداد بكتريا القولون الكلية 2.48 وحده تكوين المستعمرة.غم لحم$^{-1}$ خلال يومين من الخزن واستمرت الزيادة في أعداد البكتريا الى 2.94 و3.41 وحده عد المستعمرة.غم لحم$^{-1}$ بعد 4و7 ايام من الخزن ووصلت هذه الزيادة الى 4.11 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم$^{-1}$ في نهاية مده الخزن إلا أنها كانت أقل مقارنة بأعداد بكتريا القولون في العينة الضابطة الذي بلغ 6.02 وحده تكوين المستعمرة .غم$^{1-}$ لحم بعد 10ايام من الخزن.

اعداد البكتريا المحبة للبرودة

اظهر الشكل [7] اعداد البكتريا المحبة للبرودة في اقراص اللحم المفروم المعامل ببتيدات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و 100 ملغم.100 غم لحم$^{-1}$ المخزنة بالتبريد 1±4م° بمدد زمنية مختلفة، اتضح من النتائج ان قابلية الببتيدات في تثبيط البكتريا المحبة للبرودة ازدادت بزيادة التركيز وقد اثرت هذه الزيادة معنويا[$p<0.05$] في أعداد البكتريا المحبة للبرودة عند الخزن باختلاف التركيز المستعمل، وقد لوحظ امتلاك التركيزين فعالية تثبيطية تجاه البكتريا فأدت إلى تقليل أعداد البكتريا مقارنة بالعينة الضابطة فعند التركيز50ملغم. 100غم لحم كانت أعداد البكتريا 3.36 وحده تكوين المستعمرة .غم لحم$^{-1}$ وكانت اعداد البكتريا في العينة الضابطة 4.48 وحده تكوين المستعمرة غم لحم$^{-1}$ بعد يومين من الخزن وبتقدم مدة الخزن أخذت أعداد البكتريا المحبة للبرودة بالزيادة التدريجية لتصل بعد4 و7 ايام من الخزن إلى 3.83 و 4.23وحده تكوين المستعمرة .غم لحم$^{-1}$ وبعد 10 أيام من الخزن وصلت الى 4.78 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم$^{-1}$ إلا إن هذه الأعداد كانت أقل بالمقارنة مع العينة الضابطة فكانت 5.81 وحده تكوين المستعمرة .غم لحم$^{-1}$. في حين أبدى التركيز 100ملغم. 100غم لحم$^{-1}$ فعالية تثبيطية أعلى تجاه البكتريا إذ انخفضت أعداد البكتريا خلال الأيام الأولى من الخزن فكانت 2.70وحده تكوين المستعمرة. غم لحم$^{-1}$ وبعد 4 و7 ايام من الخزن ازدادت هذه الاعداد لتصل بعد 10 ايام من الخزن الى 4.12 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم$^{-1}$ وهي أقل بالنسبة الى التركيز 50 ملغم.100غم لحم$^{-1}$ والعينة الضابطة التي احتوت على 5.81 وحده تكوين المستعمرة . غم لحم$^{-1}$ بعد 10 ايام من الخزن . لأن إضافة الببتيدات لأقراص اللحم المفروم ساعد في خفض اعداد البكتريا الملوثة للحم وقد تعود الفعالية المثبطة للببتيدات بشكل عام إلى تفاعل الببتيد مع الشحنة السطحية للخلايا ويؤثر في نفاذية الأغشية الخلوية أو قد يسبب إحداث ثقوب او تمزق أغشية الخلية وتسرب مكونات الخلية أو قد تصل إلى



شكل [7]: اعداد البكتريا المحبة للبرودة في أقراص اللحم المفروم المخزنة بالتبريد.

داخل الخلية ويثبط بناء DNAأوRNA والبروتينات داخل الخلية وتسبب موتها [14].

المصادر

1–الراوي، خاشع محمود وخلف الله، عبدالعزيز محمد (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. الطبعة الثانية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، ص 37.

2–الطائي، منير عبود جاسم (1987). تكنولوجيا اللحوم والاسماك. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي مطبعة جامعة البصرة، ص178.

3-Andrew, W. C. (1992). Annual of food quality control, 4- Rev, Microbiological analysis , FAO, Food and Nutrition paper No. 1414 (Rev - 1). Rome Italy.

4-AOAC (Association of Official Analytical Chemists)(1995). Official methods of analysis, Washington , Dc. USA.

5-APHA (American Public Health Association) (1984). Compendium of methods for microbiological examination of food. In Zend, M. L. and Speek, (Eds.). Washington, D.C.

6-Bougatef, A.; Nedjar-Arroume, N.; Manni, L.; Ravallec, R.; Barkia, A.; Guillochon, D. and Nasri, M. (2010). Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. Food Chemistry, 118(3): 559-565.

7-Dey, S. S. and Dora, K. (2014). Antioxidative activity of protein hydrolysate produced by alcalase hydrolysis from shrimp waste (*Penaeus monodon* and *Penaeus indicus*). J. Food Sci. Technol., 51(3) : 449- 457.

8-Hancock, R. E. W. and Diamond, G. (2000). The role of cationic antibacterial peptides in innate host defenses. Trendsin Microbiology, 8: 402- 410

9-Hsu, K. C. (2010). Purification of antioxidative peptides prepared from

enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. Food Chemistry,122(1): 42-48.

10-Huang, G.; Ren, Z. and Jiang, J.X. (2011). Separaion of iron-binding peptides from shrimp processing by products hydrolysates. Food BioprocessTechnol., 4(8): 1527-1532.

11-Liu, Q .; Kong , B .; Xiong, Y. L. and Xia, X. (2010). Antioxidant activity and functional properties of porcine plasma protein hydrolysate as influenced by the degree of hydrolysis. Food Chemistry, 118 :403-410.

12-Muzaifa, M.; Safriani, N. and Zakaria, F. (2012). Production of protein hydrolysates from fish by product prepared by enzymatic hydrolysis. International Journal of the Bioflux Soeiety, 5 : 36-39 .

13-Pihlanto,L.; Rokk, T.and H. (1998). Korhonen Angiotensin -l- converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. Int. Dairy J., 8: 325-331.

14-Powers, J. and Hancock, R.E.W. (2003). The relationship between peptide structure and antibacterial activity. Sciences Direct Peptides, 24: 1681-1691 .

15-Qian, Z. L.; Jung, W. K. and Kim, S. K. (2008). Free radical scavenging activity of a novel antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana Shaw*. Bioresource Technology, 99: 1690-1698.

16-Rajanbabu,V. and Chen, J.Y. (2011). Application of antimicrobial peptides from fish and perspectives for the future peptides, 32 : 415-420 .

مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 29 (1)، 57– 69 ،2016

Effect of Addition Peptides Prepared from Shrimp by Product Purified Using Gel Filtration in Beef Patties during Cooling Storage

Alia Z. H. AL-Hilfi and Aum-Elbashar H. J. Almosawi
Department of Food Sciences, College of Agriculture, University of Basrah

aliazyaraha@gmail.com

Abstract: Preparation two hydrolysates protein from shrimp by products using enzymes are Alcalase and Pepsin,it's separation by ultrafiltration and purification by gel filtration , showed four peaks of peptides hydrolysate enzyme Alcalase and three peaks for peptides hydrolysate enzyme Pepsin and tested the antioxidation activity, the peptides first and the second peak for hydrolysate enzyme alcalase and Pepsin showed highest antioxidant activity compared with other peaks, also tested the inhibitory effect against bacteria the peptides second peak of the enzyme Pepsin hydrolysate effect in the bacteria *Escherichia coli* compared to another peaks ,then addition peptides two peaks to beef patties by two concentration 50 and 100mg.100g meat $^{-1}$, beef patties storage at 1 ±4c for 10 dayes treated with peptides two peakes enzyme The results showed there is adecrease in peroxide values for beef patties treated treated with peptides of the enzyme Alcalase was more cleared compared to the peptides of first peak for the same enzyme and peptides two peakes enzyme Pepsin also got a decrease in the total number of bacteria and total coliform bacteria and psychrotrophic bacteria When the treatment second peptides peak of the enzyme Pepsin concentration of 50 and 100 mg . 100 g meat $^{-1}$.

Key words: peptides, purification, gel filtration, storage beef patties.

---

*Part of Ph. D. Thesis of the first author.