إستعمال 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 الخزني لاقراص اللحم البقري المفروم وبتراكيز مختلفة (0.5،1،1.5،2)%، إذ لوحظ انخفاض في الأعداد البكتيرية مقارنةً مع عينة السيطرة عند الخزن بالتبريد للمدة من1 إلى 15 يوماً و كانت الزيادة في العدد الكلي للبكتريا الهوائية بمعدلات قليلة عند تركيز2%من الببتيد، إذ بلغ لوغارتيم 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 لوغارتيم أعداد البكتريا 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 للبكتريا المحبة للبرودة عند إضافة الببتيد بتركيز2%لوغارتيم العدد الكلي (3.66) م ت م/غم مقارنةً مع الأعداد، اذ كان لوغارتيم 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 لوغارتيم (4.14،5.75) و ت م / غم على التوالي،كما انعدم وجود بكتريا **Staphylococci** عند إضافة الببتيد بتركيز 2% وعند مدد خزن 5و10و15 يوماً مقارنةً مع معدل الأعداد في عينة السيطرة، اذ بلغ لوغارتيم العدد الكلي(3.92،3.30،4.32) و ت م / غم على التوالي عند المدة الخزنية نفسها فضلاً عن ذلك فأن أعداد البكتريا في عينات اقراص اللحم المفروم المعامل بالببتيد جميعها كانت ضمن المواصفة القياسية العراقية ، وانعدم وجود بكتريا ***Salmonella*** في العينات كافة .

المقدمة

أزداد الإهتمام في السنوات الأخيرة بالببتيدات المضادة للأحياء المجهرية المرضية **Antimicrobial peptides (AMPs)** أو ما تسمى بالببتيدات الدفاعية التي تمتلك فعالية تثبيطية عالية ضد مدى واسع من البكتريا 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 إلتئام 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 مضار على مستوى سلامة الغذاء وصحة المستهلك وهي تختلف فيما بينها أعتماداً 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 الأصليةكما 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 والهستدين وأن الحامض الأميني الأخير يوجد في الأوساط الحامضية ذات الرقم الهيدروجيني المنخفض وتكون نسبته عالية تصل لأكثر من 50%(11). تُعد الخمائر أحدى الأحياء المجهرية المهمة المنتجة للببتيدات الفعالة حيوياً ولاسيما التابعة لجنس ***Saccharomyces*** التي تتميز بقدرتها على إنتاج مواد حيوية فعالة تستطيع أن تدخل في أنشطة عديدة ومتنوعة

جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث

كلية الزراعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق.

لاسيما في أمكان إستخدامها كأحياء علاجية (Probiotics) مثل خميرة *Saccharomyces boulardii* التي لها القدرة على إنتاج مواد مثبطة مختلفةكما بين Qamar *et al*;(15)و Liu *et a;l* (9). ولها أهمية في تحسين النظام البيئي المعوي من خلال منع إلتهابات الأمعاء الناتجة عن التصاق الأحياء المرضية مثل *Salmonella typhimurium*،*Clostridium difficile*،*Escherichia coli, Candida albicans* في الخلايا الطلائية فضلاً عن علاج عدد من حالات الإسهال الحاد عند الأطفال وإضطرابات 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 التغييرات التي تطرأ على اللحم أو تقلل من خواصه النوعية والمايكروبيةDave and Ghaly (7) ومن هذا المنطلق هدفت الدراسة الحالية التي تضمنت استعمال البتيدات 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 MYA796^{TM} 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 وزرع1 مل من آخر تخفيف باستعمال طريقة الصبPour plat method على وسط YEPG وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 30 م لمدة 48 ساعة وحسبت أعداد المستعمرات النامية .

إنتاج البتيد

أُنتج البتيد حسب طريقة الشاوي (4) باستعمال وسط YEPG المستبدل فيه المصدر الكاربوني بعصير تمر الزهدي المضاف بنسبة 5% وضبط الرقم الهيدروجيني على 5 ولقحت بمقدار 0.5 % من الخميرة بحيث يحتوي 1 مل على 48× 10^8 وحدة تكوين المستعمرة/ مل وحضنت عند درجة حرارة 30 م لمدة24ساعة في حاضنة هزازة وعدد الدورات 120 دورة/دقيقة وبعد الحضن وضعت الأنابيب في جهاز النبذ المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ثم أخذ الراشح ومرر في اثناء جهاز الترشيح الفائق(10 MWCO) وحسب الطريقة المبينة من قبلNaimah *etal*.(12) وجماعته،ثم الترشيح الهلامي باستعمال عمود Sephadex G-50 للحصول على البتيد

إدخال البتيد 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 البتيد ،والمجموعة الثانية أضيف إليها 0.25 غم من البتيد 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 البتيد (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 بأخذ1 غرام من أقراص اللحم المفروم المضاف له البتيد من كل تركيز وأضيف إلى 9 مل من محلول البتون(Peptone water) المعقم ثم عملت سلسلة من التخافيف العشرية للمعاملات المختلفة لغاية 10^{-6} وتعامل عينة السيطرة المعاملة نفسها ثم حسبت أعداد المستعمرات النامية للبكتريا في الغرام الواحد من العينة عن طريق ضرب معدل عدد المستعمرات في مقلوب التخفيف المستخدم وشملت الفحوص البكتيرية مايأتي :

العد الكلي للبكتريا Total Bacterial count

اتبعت الطريقة المذكورة في كل من Smith, Brown (6)في تقدير العدد الكلي للبكتريا باستعمال الوسط الزرعي Nutrient Agar وأخذ1مل من سلسلة التخافيف 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 الزرعي 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*: أخذ 1 مل من سلسلة التخافيف 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 التخافيف 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

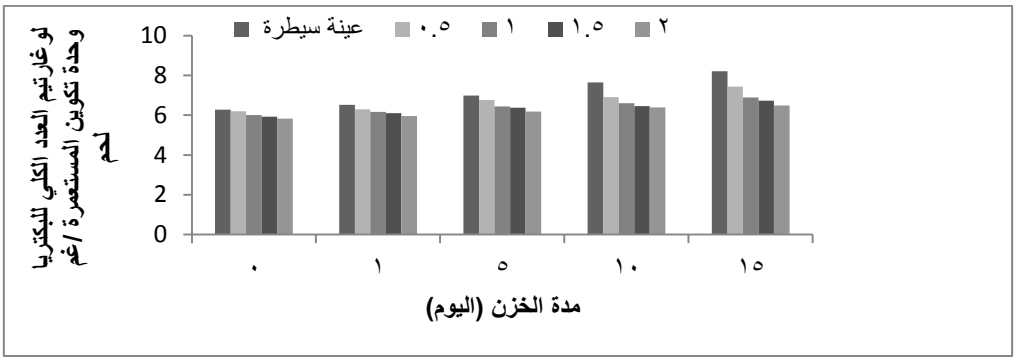
استعمل التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) للتجارب العاملية في تحليل النتائج، إذ حللت البيانات إحصائياً باستعمال البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS واختبرت العوامل المدروسة باستعمال اختبار أقل فرقاً معنوياً Revised-L.S.D المعدل عند مستوى احتمالية 0.05 (17).

النتائج والمناقشة

الإختبارات البكتيرية لأقراص اللحم

العد الكلي للبكتريا الهوائية

يوضح الشكل1 العد الكلي للبكتريا الموجودة في أقراص اللحم البقري المعامل بالبتيد وبتراكيز (0.5،1،1.5،2) %مع وجود عينة سيطرة والمخزون بالتبريد على درجة حرارة الثلاجة ولمدد خزن مختلفة(0،15،10،5،1) يوماً. إذ لوحظ من النتائج أن القدرة التثبيطية للببتيد تزداد بزيادة التركيز وكان الإنخفاض في أعداد الخلايا الحية يتناسب طردياً مع كمية الببتيد 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 (1،1.5،2)% عند إضافة الببتيد لاقراص اللحم بتركيز 0.5 %، إذ كان لوغارتيم العدد الكلي للبكتريا لساعة الصفر لوغارتيم 6.2 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بينما ارتفع العدد مع زيادة مدة الخزن، إذ بلغ بعد 15 يوماً لوغارتيم 7.44 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم مقارنةً مع عينة السيطرة، إذ بلغت أعدادها البكترية لوغارتيم6.27 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم ثم ارتفعت لوغارتيم 8.2 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم عند المدة الخزنية نفسها بينما لوحظ عند إضافة الببتيد بتركيز 2% عند ساعة الصفر كان لوغارتيم العدد 5.82 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بينما بلغ لوغارتيم عدد الكلي بعد مدة خزن 15 يوماً لوغارتيم 6.48 وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم. إن الإنخفاض الحاصل للعدد الكلي للبكتريا في اللحم البقري المفروم المعامل بتراكيز مختلفة من الببتيد مقارنةً مع عينة السيطرة هو دليل واضح على إمتلاك الببتيد فعالية تثبيطية



شكل1: تأثير إضافة تراكيز الببتيد المختلفة المستخلص من خميرة ***S. boulardii*** عفي لوغارتيم العدد الكلي

للبكتريا الهوائية في اللحم البقري المفروم (وحدة تكوين المستعمرة / غم) في اثناء الخزن بالثلاجةعالية 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 لوغارتيم 7 وحدة تكوين مستعمرة/ غم لحم(المواصفة القياسية العراقية ،2006) (1). جاءت النتائج مشابهة لما وجده(**Pihlanto *et al.***) وجماعته(13)عند دراسة تأثير إضافة ببتيدات المستخلصة الكازئين واللاكتوفيرين في الفعالية المضادة للبكتريا،إذ وجد إن العدد الكلي للبكتريا في لحم الخنزير المفروم المعامل بتركيز15 ملغم ببتيد/غم لحم المخزن بدرجة حرارة 4 م انخفض بعد3 أيام من الخزن عند استخدام اللاكتوفيرين أزدادت نسبة التثبيط من 35–61% بينما عند استعمال الببتيد المستخلص من الكازئين كانت نسبة التثبيط 85%.بينت الحلفي(2) عند دراسة تأثير الببتيدات المحضرة من مخلفات الاسماك والروبيان في العدد الكلي للبكتريا في أقراص اللحم البقري المعامل بتركيزين 50 و100ملغم ببتيد /100غم لحم المخزنة بالتبريد 4±1 م°

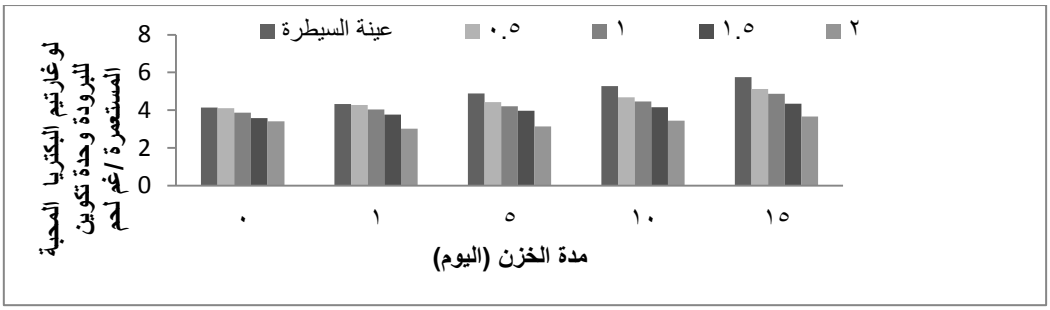
بمدد زمنية مختلفة، إذ كان العدد الكلي للبكتريا بعد يومين من الخزن لوغارتيم **4.81** وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم واستمرت الزيادة التدريجية ليصل العدد الكلي بعد **4** و**7** أيام الى لوغارتيم **5.30** و لوغارتيم **5.88** وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم بينما بلغت الأعداد الكلية للبكتريا في نهاية مدة الخزن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

عد البكتريا المحبة للبرودة

يبَين شكل **2** أعداد البكتريا المحبة للبرودة في أقراص اللحم المفروم المعامل بالببتيد المنتج من خميـــرة ***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 الببتيد عند ساعة الصفر قد خفض الأعداد في العينات كافة مقارنة مع عينة السيطرة .فضلاً عن ذلك فأن القدرة التثبيطية للببتيد تزداد بزيادة التركيز وأن هذه الزيادة اظهرت فروقاً معنوية عند مستوى(**0.05** $p<$)في اعداد البكتريا المحبة للبرودة إذ إزدادت الاعداد في العينة المضاف لها الببتيد بتركيز **0.5**% من **4.10** لوغارتيم العدد الكلي إلى **5.12** لوغارتيم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بينما الزيادة كانت أقل عند إضافة الببتيد بتركيز **2 % 3.66** لوغارتيم وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم بعد أن كانت **3.40** لوغارتيم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة بعد مدة خزن **15** يوماً مقارنةً مع الأعداد في عينة السيطرة التي ارتفعت من لوغارتيم **4.14** لتصل إلى **5.75** لوغارتيم العدد الكلي وحدة تكوين المستعمرة /غم لحم في اثناء المدة الزمنية نفسها. جاءت النتائج متشابهة مع ماتوصلت إليه الحلفي(**2**) عند دراسته لتأثير إضافة الببتيدات

شكل **2**: تأثير أضافة تراكيز الببتيد مختلفة والمستخلص من خميرة ***S. boulardii*** في لوغارتيم العدد الكلي

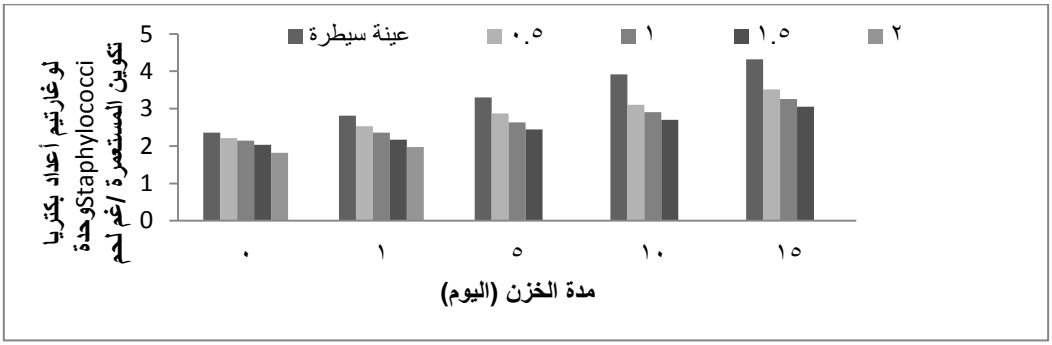
المحضرة للبكتريا المحبة للبرودة في اللحم البقري المفروم (وحدة تكوين المستعمرة/ غم) في اثناء الخزن بالثلاجة من مخلفات الأسماك والروبيان في أعداد البكتريا المحبة للبرودة في اقراص اللحم البقري، إذ إن إضافة التركيز **100**ملغم/ **100**غم لحم أعطى أعلى فعالية تثبيطية إتجاه البكتريا، إذ انخفضت أعداد البكتريا في اثناء الأيام الأولى من الخزن فكانت لوغارتيم**2.70** وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم و بعد **10** أيام من الخزن أزدادت الاعداد الى لوغارتيم**4.12** وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم مقارنةً مع العينة السيطرة التي بلغت لوغارتيم **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 ببتيد المنتج من خميرة ***S. boulardii*** وبتراكيز (**2**،**1.5**،**1**،**0.5**)% مع وجود عينة سيطرة والخزن بالتبريد على درجة حرارة الثلاجة ولمدد خزن مختلفة (**1**،**5**،**10**،**15**،**0**) يوماً ،إذ أظهرت النتائج عند إضافة الببتيد بتركيز **0.5** أرتفعت الأعداد من **2.21**

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



شكل3: تأثير إضافة تراكيز الببتيد المختلفة مالمستخلص من خميرة *S. boulardii* في العدد الكلي لبكتريا *Staphylococci* في اللحم البقري المفروم (لوغارتيم 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 هذة البكتريا في اللحم المفروم المبرد ذو النوعية الجيدة 5× 10^3 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم والنوعية المقبولة 1× 10^3 وحدة تكوين المستعمرة/غم لحم(1)، إذ أظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى 0.05 بين المعاملات.

وجاءت النتائج مشابهه مع ما وجده 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 أبتداءً من عملية تقطيع اللحم وفرمه بالفرامه وأنتهاءً بعملية إضافة الببتيد بنسب مختلفة وهذا ماأكده Selvan *et al.* وجماعته (18) إن أستعمال 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 خاليه 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 الإختبارات البكتيرية لاقراص 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 الفرم تؤدي الى مزج

البكتريا مع اللحم وبهذا فهي تكون بتماس مباشر مع محتويات اللحم وهذا يساعد ويسهل نمو وتكاثر البكترياكما 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 البتيدات الحيوية فهي عادةً تحمل شحنات موجبة بسبب وجود الأحماض الأمينية الموجبة (الهستدين واللايسين والارجنين) 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 البتيدات 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 ومنتجاتهاIQS: 2270/4/2006وزارة التخطيط والتعاون الانمائي الجهاز المركزي للتقييس 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 البصرة177 صفحة.

4- الشاوي، منار جبار عبد الشهيد(2017).فصل وتنقية البتيدات الفعالة المنتجة من خميرة *Saccharomyces boulardii* وأستعمالها في حفظ اللحم البقري. كلية الزراعة ،جامعة البصرة .

5- عبد علي، سمير عبد الامير؛ عبد الامير جواد زاير؛ 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:Fundamentahs and frontievs. 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 difficiletoxin 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 incrase 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 averge 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.

Part of MSc. Thesis the third author
College of Agric., Basrah Univ., Basrah, Iraq.