

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 بروتينيين من مخلفات الروبيان باستعمال انزيمي Pepsin و Alcalase 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 إنزيم Pepsin, اختبرت الفعالية المضادة للأكسدة لجميع القمم الناتجة وقد اظهرت ببتيديات 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 لإنزيم Pepsin تأثير تثبيطي تجاه بكتريا *Escherichia coli* مقارنة بالقمم الاخرى, اضيفت ببتيديات قمتي كلا الانزيمين إلى اقراص اللحم المفروم بتركيزين 50 و 100 ملغم. 100 غم لحم ¹⁻, خزنت بالتبريد بدرجة حرارة 4±1 م لمدة 10 ايام تم خلالها متابعة قيم البيروكسيد لاقراص اللحم المفروم المعامل ببتيديات قمتي الإنزيمين و لوحظ ان الانخفاض في قيم البيروكسيد لاقراص اللحم المفروم المعاملة ببتيديات القمة الثانية لإنزيم Alcalase كان اكثر وضوحا مقارنة ببتيديات القمة الأولى لنفس الإنزيم وببتيديات قمتي إنزيم Pepsin وقد حصل انخفاض في العدد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون الكلية والبكتريا المحبة للبرودة عند المعاملة ببتيديات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و 100 ملغم 100 غم لحم ¹⁻ على التوالي.

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

المقدمة

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

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

وغرقلت و أزيل الدهن منها بالهكسان باستعمال جهاز السوكسلت حفظت في عبوات من البولي اثلين بدرجة $18 \pm$ م لحين الاستعمال.

اللحم البقري

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

الانزيمات

استعمل الإنزيمان [Pepsin و Alcalase] المجهزان من شركة Sigma-aldrach في تحضير المتحللين البروتينيين تحت الظروف المثلى لعمل كل انزيم من درجة حرارة 37 و 50 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 بنسبة 1:5 وزن. حجم¹ 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 تدريجياً بعد خلطة بكمية قليلة من الماء المقطر استمر التحلل لمدة خمس ساعات مع مراعاة

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 الخزن عن طريق منع التزنخ , إلا إن استعمالها قد يكون محدوداً بسبب آثارها الضارة للإنسان [6] ونتيجة لذلك فان هنالك رغبة في استعمال مضادات الأكسدة الطبيعية لما تمتلكه 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, فالبيبتيدات المضادة للأكسدة تمتلك وزناً جزيئياً واطناً 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] . فهناك 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 40 م مع التقليب المستمر, ثم طحنت تلك المخلفات الجافة بالمطحنة الكهربائية

في كل أنبوبة 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 بمكرين.

المعاملة الأولى: العينة الضابطة بدون إضافة الببتيدات المعاملة الثانية: - إضافة ببتيديات متحلل انزيم Alcalase بتركيز 50 ملغم. 100 غم لحم¹ - إضافة ببتيديات متحلل انزيم Pepsin بتركيز 50 ملغم. 100 غم لحم¹.

المعاملة الثالثة: إضافة ببتيديات متحلل انزيم Alcalase بتركيز 100 ملغم. 100 غم لحم¹ - إضافة ببتيديات متحلل انزيم Pepsin بتركيز 100 ملغم. 100 غم لحم¹, وضعت الأقراص في أكياس من البولي اثلين وغلقت جيدا وخزنت بالتبريد بدرجة حرارة 4±1 م لمدة 10 أيام وتم متابعة التغير في قيمة البيروكسيد و أعداد البكتريا الملوثة للحم خلال مدة الخزن.

تقدير قيمة البيروكسيد

التحريك من مدة لأخرى ومتابعة درجة التحلل كل نصف ساعة وبعد انتهاء مدة التحلل ثبّطت فعالية الإنزيمات بدرجة حرارة 90م لمدة 10 دقائق ثم اجري النبذ المركزي بسرعة 5000 دورة .دقيقة¹ 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 بكرموتوكرافيا الترشيح الهلامي

تحضير الهلام 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 ثم بُردَ الخليط وأضيف إليه 0.02% Sodium azide لمنع نمو الإحياء المجهرية ثم أجريت عملية إزالة الغازات وصب الهلام في العمود الذي تبلغ أبعاده 2.5×75 سم ثم أجريت الموازنة بالماء المقطر بمقدار ثلاثة أمثال حجم الهلام في العمود بمعدل جريان 60 مل. ساعة¹ [15].

تنقية الببتيدات بالترشيح الهلامي

مرر 100 ملغم. مل¹ من المتحلل المجفد على عمود السيفادكس الذي حضر بالخطوة السابقة جمع 2مل

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 ذكره [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 لأكسدة 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*.

قدرت قيم البيروكسيد لأقراص اللحم المعاملة والمخزنة بالتبريد لمدة [0 و 2 و 4 و 7 و 10] 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 Peptone water المعقم [0.1 غرام Peptone مع 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

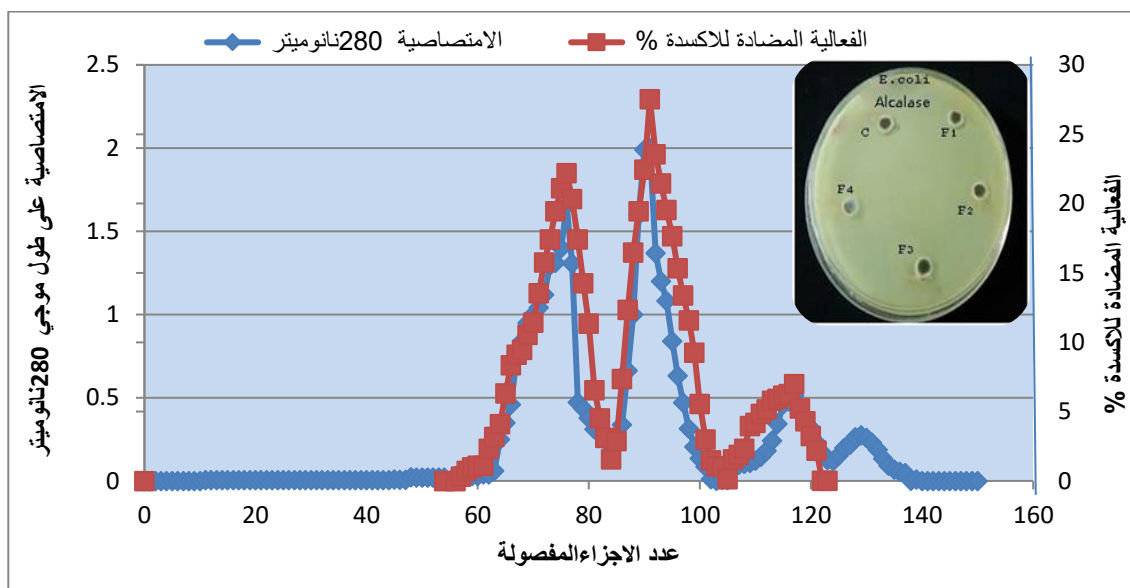
اتبعت الطريقة المذكورة في [5] في تقدير العدد الكلي للبكتريا باستعمال الوسط الزرع Nutrient Agar.

عد بكتريا القولون الكلية

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

عد البكتريا المحبة للبرودة

استعمل الوسط الغذائي Nutrient Agar في حساب أعداد البكتريا المحبة للبرودة إذ حضنت



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.

لبكتريا *E. coli* اما القمم الاخرى فلم يكن لها تاثير تثبيطي تجاه البكتريا.

الاختبارات الكيميائية والبكتيرية لأقراص اللحم المفروم

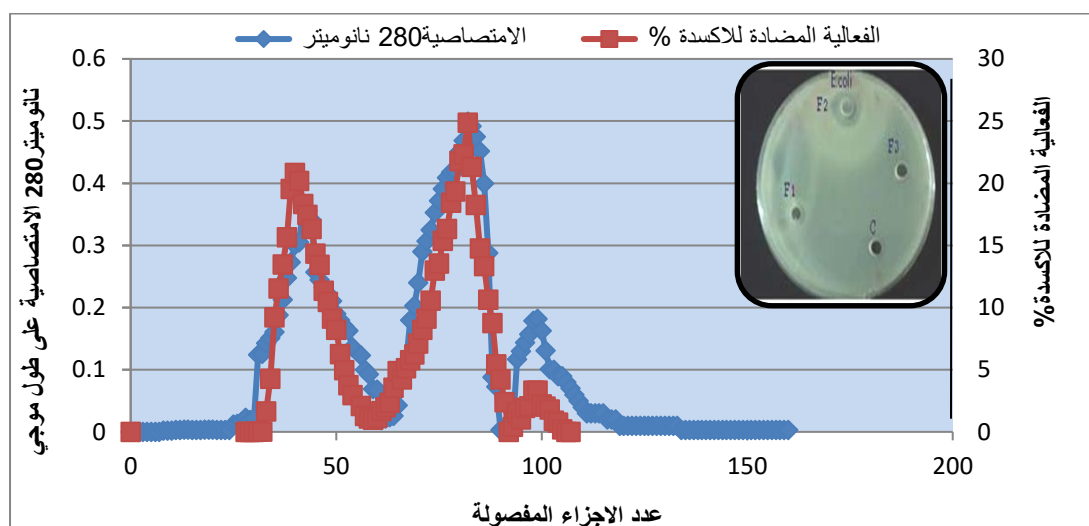
رقم البيروكسيد

يبين الشكل [3] قيم البيروكسيد لأقراص اللحم المفروم المضاف اليها بببتيدات قمم انزيم Alcalase بتركيزين 50 و 100 ملغم. 100 غم لحم¹⁻ المخزنة بالتبريد [4±1] °م لمدة [2 و 4 و 7 و 10] يوم. توضح النتائج ظهور فروق معنوية

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

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

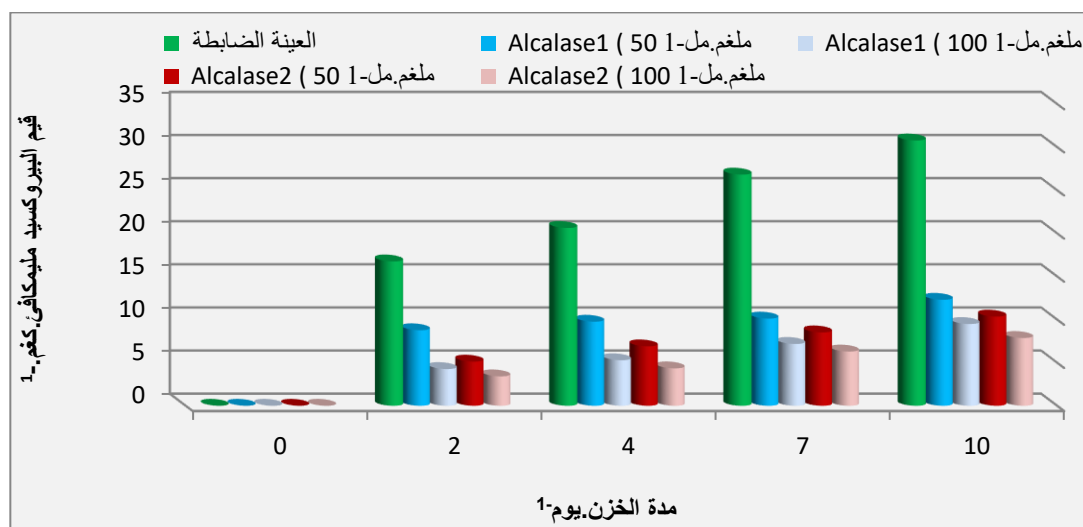
لوحظ من النتائج ظهور ثلاث قمم اختبرت فعاليتها المضادة لأكسدة حامض اللينوليك اذ حددت القمة الاولى والثانية بفعاليتها العالية المضادة للاكسدة كما حددت بببتيدات القمة الثانية بفعاليتها المثبطة



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

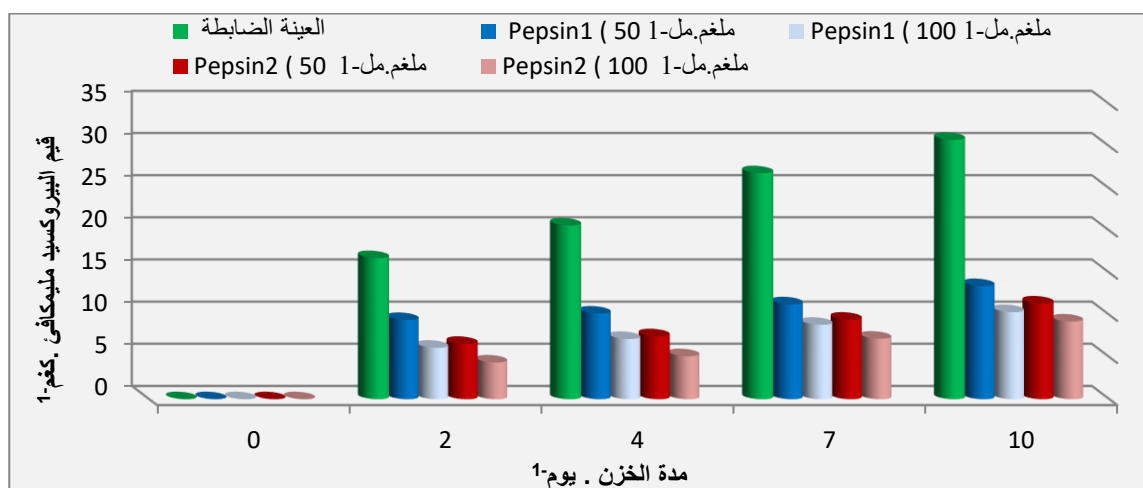
الاولى والثانية بعد 10 ايام خزن وان جميع هذه القيم كانت أقل بالمقارنة مع العينة الضابطة التي بلغت 30.77 مليمكافئ.كغم⁻¹ بعد 10 أيام. اما قيم البيروكسيد لببتيدات قمتي انزيم Pepsin فيلاحظ من الشكل [4] ان ببتييدات القمة الثانية اثرت في قيمة البيروكسيد اذ انخفضت بعد يومين من الخزن لتبلغ 6.57 مليمكافئ. كغم⁻¹ اما قيمة البيروكسيد لببتيدات القمة الاولى فكانت 9.40 ميلي مكافئ. كغم⁻¹ عند التركيز 50 ملغم.100غم لحم⁻¹ الا ان هذه القيم كانت اقل من قيمة البيروكسيد للعينة الضابطة التي بلغت 16.74 مليمكافئ. كغم⁻¹ وبعد 4 و 7 ايام من الخزن ارتفعت قيمة البيروكسيد بشكل تدريجي لتصل الى 10.16 و 7.47 ميلي مكافئ. كغم⁻¹ و 11.26 و 9.44 مليمكافئ. كغم⁻¹ على التوالي، اما بعد 10 ايام من الخزن فكانت قيمة البيروكسيد 13.42 و 11.36 مليمكافئ. كغم⁻¹ على التوالي لببتيدات قمتي الانزيم في حين كانت قيمة البيروكسيد للعينة الضابطة 30.77 مليمكافئ.كغم⁻¹

[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 50 ملغم.100غم لحم⁻¹ لببتيدات القمة الثانية لانزيم Alcalase أحدث انخفاض في قيمة البيروكسيد كان حوالي 4.12 مليمكافئ. كغم⁻¹ مقارنة ببتييدات القمة الأولى المضافة بالتركيز نفسه فكانت قيمة البيروكسيد 8.76 مليمكافئ. كغم⁻¹ بعد يومين من الخزن. وان هذه القيم أخذت بالزيادة التدريجية حتى وصلت إلى 12.29 و 10.34 مليمكافئ.كغم⁻¹ لببتيدات القمة الاولى والثانية بعد 10 أيام من الخزن. وعند زيادة التركيز إلى 100 ملغم.100غم لحم⁻¹ امتلكت ببتييدات 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 و 7.86 مليمكافئ. كغم⁻¹ لببتيدات القمة



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

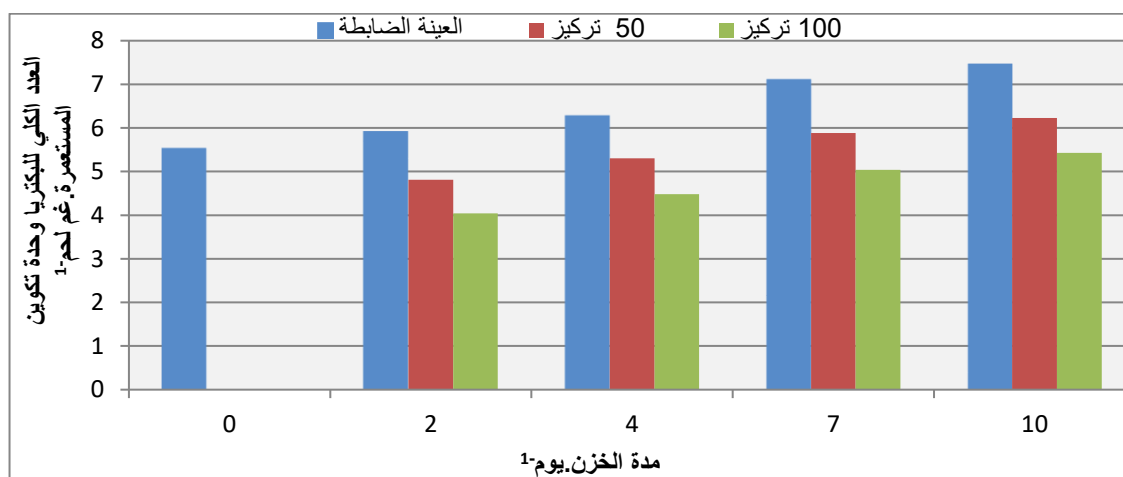
اما عند زيادة تركيزببتيدات القمة الثانية الى 100ملغم.100غم لحم¹ فقد احدثت انخفاضاً واضحاً في قيمة البيروكسيد بلغ 4.36 ميليغافى. كغم¹ في حين بلغت قيمة البيروكسيد لببتيدات القمة الاولى 6.11 ميليغافى. كغم¹ بعد يومين من الخزن وهي اقل مقارنة بالعينة الضابطة ويتقدم مدة الخزن حصلت زيادة في قيمة البيروكسيد كانت 10.73 و 9.22 ميليغافى. كغم¹



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

الضابطة. وقد يكون سبب الزيادة في قيم البيروكسيد عائدة الى تركيب دهون اللحم وأكسدها في أثناء الخزن والتي تؤدي إلى تكوين البيروكسيدات والالديهيدات والكتونات [2]. اما سبب انخفاض قيم البيروكسيد في اقراص اللحم المعاملة بتركيز 50 و100 ملغم. 100 غم لحم⁻¹ من الببتيدات قد يعود الى الفعالية العالية المضادة للاكسدة التي تمتلكها هذه الببتيدات.

لببتيدات القمة الأولى والثانية على التوالي بعد 10 ايام خزن، اتفقت النتيجة مع [7] , اذ وجدوا عند متابعتهم لقيم البيروكسيد لشرائح سمك الكروكر المضاف 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



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

الاختبارات البكتيرية

العد الكلي للبكتريا

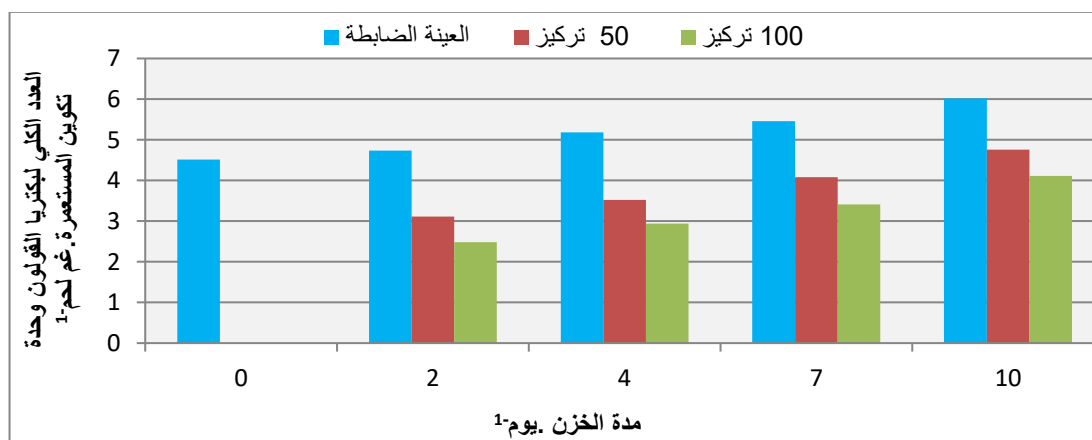
50 ملغم. 100 غم لحم⁻¹ أظهرت فعالية تثبيطية أدت إلى انخفاض العدد الكلي للبكتريا في بداية الخزن مقارنة بالعينة الضابطة إذ كان العدد الكلي للبكتريا بعد يومين من الخزن 4.81 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹ واستمرت الزيادة التدريجية ليصل العدد الكلي بعد 4 و7 ايام الى 5.30 و5.88 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹ في حين بلغت الاعداد الكلية للبكتريا في نهاية مدة الخزن 6.23 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹, مقارنة بالعينة الضابطة 7.46 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹ لحم عند نفس المدة.

يوضح الشكل [5] العدد الكلي للبكتريا في اقراص اللحم المفروم المعامل بببتيدات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و 100 ملغم. 100 غم لحم⁻¹ المخزنة بالتبريد 4 ± 1 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

اعداد بكتريا القولون الكلية

يوضح الشكل (6) ان اعداد بكتريا القولون الكلية في اقراص اللحم المفروم المعامل بببتيدات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و 100 ملغم . 100غم لحم⁻¹ المخزنة بالتبريد 4 ± 1 °م بمدد زمنية مختلفة. وبينت النتائج ان قابلية الببتيدات في تثبيط بكتريا القولون الكلية ازدادت بزيادة التركيز وقد اثرت معنوياً ($p < 0.05$) في اعداد البكتريا الكلية عند الخزن بالتبريد . ولوحظ من الشكل ان 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 ان هذه الأعداد كانت أقل من اعداد البكتريا في العينة الضابطة التي بلغت 4.51 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹

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 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹ لحم ويتقدم مدة الخزن من 3الى 7 ايام لوحظ زيادة طفيفة في العدد الكلي للبكتريا واستمرت الى مدة 10 ايام اذ وصل العدد الكلي الى 5.43 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹ وهي اقل من الزيادة الحاصلة في العينة الضابطة التي وصل فيها العدد الكلي الى 7.46 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم⁻¹، هذه النتيجة تقاربت مع [13] عند دراستهم لتأثير بببتيدات الكازين واللاكتوفيرين في الفعالية المضادة للبكتريا إذ وجدوا ان العدد الكلي للبكتريا في لحم الخنزير المفروم المعامل بالكازين واللاكتوفيرين بتركيز 15 ملغم. غم لحم⁻¹ المخزن بدرجة حرارة 4 م انخفض بعد 3 أيام من الخزن.



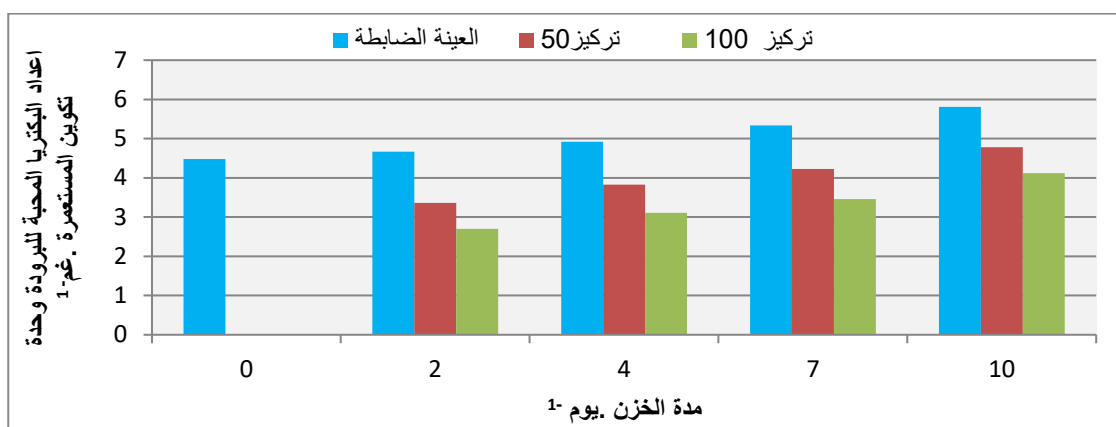
شكل [6] اعداد بكتريا القولون الكلية في أقراص اللحم المفروم المخزنة بالتبريد.

وبعد اربعة ايام وصلت الاعداد الى 3.52 وحدة تكوين المستعمرة. غم لحم¹⁻ و بزيادة مدة الخزن الى 7 و 10 ايام من الخزن ازدادت الأعداد البكتيرية بشكل تدريجي لتصل الى 4.08 و 4.76 وحده تكوين المستعمرة .غم لحم¹⁻ ولكن هذه الزيادة كانت اقل من الزيادة الحاصلة في اعداد البكتريا في العينة الضابطة. وكانت الفعالية التثبيطية للبيتيدات واضحة عند التركيز 100 ملغم. 100 غم لحم¹⁻ بالمقارنة مع التركيز 50 ملغم. 100 غم لحم¹⁻ والعينة الضابطة لتبلغ أعداد بكتريا القولون الكلية 2.48 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم¹⁻ خلال يومين من الخزن واستمرت الزيادة في أعداد البكتريا الى 2.94 و 3.41 وحده عد المستعمرة. غم لحم¹⁻ بعد 4 و 7 ايام من الخزن ووصلت هذه الزيادة الى 4.11 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم¹⁻ في نهاية مدة الخزن إلا أنها كانت أقل مقارنة بأعداد بكتريا القولون في العينة الضابطة الذي بلغ 6.02 وحده تكوين المستعمرة .غم¹⁻ لحم بعد 10 ايام من الخزن.

اعداد البكتريا المحبة للبرودة

اظهر الشكل [7] اعداد البكتريا المحبة للبرودة في اقراص اللحم المفروم المعامل ببيتيدات القمة الثانية لإنزيم Pepsin بتركيز 50 و 100 ملغم. 100 غم لحم¹⁻ المخزنة بالتبريد 4 ± 1 م° بمدد زمنية مختلفة، اتضح من النتائج ان قابلية البيتيدات في تثبيط البكتريا المحبة للبرودة ازدادت بزيادة التركيز وقد اثرت هذه الزيادة معنوياً [$p < 0.05$] 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 التركيز 50 ملغم. 100 غم لحم كانت أعداد البكتريا 3.36 وحده تكوين المستعمرة .غم لحم¹⁻ وكانت اعداد البكتريا في العينة الضابطة 4.48 وحده تكوين المستعمرة غم لحم¹⁻ بعد يومين من الخزن ويتقدم مدة الخزن أخذت أعداد البكتريا المحبة للبرودة بالزيادة التدريجية لتصل بعد 4 و 7 ايام من الخزن إلى 3.83 و 4.23 وحده تكوين المستعمرة .غم لحم¹⁻ وبعد 10 أيام من الخزن وصلت الى 4.78 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم¹⁻ إلا إن هذه الأعداد كانت أقل بالمقارنة مع العينة الضابطة فكانت 5.81 وحده تكوين المستعمرة .غم لحم¹⁻. في حين أبدى التركيز 100 ملغم. 100 غم لحم¹⁻ فعالية تثبيطية أعلى تجاه البكتريا إذ انخفضت أعداد البكتريا خلال الأيام الأولى من الخزن فكانت 2.70 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم¹⁻ وبعد 4 و 7 ايام من الخزن ازدادت هذه الاعداد لتصل بعد 10 ايام من الخزن الى 4.12 وحده تكوين المستعمرة. غم لحم¹⁻ وهي أقل بالنسبة الى التركيز 50 ملغم. 100 غم لحم¹⁻ والعينة الضابطة التي احتوت على 5.81 وحده تكوين المستعمرة . غم لحم¹⁻ بعد 10 ايام من الخزن . لأن إضافة البيتيدات لأقراص اللحم المفروم ساعد في خفض اعداد البكتريا الملوثة للحم وقد تعود الفعالية المثبطة للبيتيدات بشكل عام إلى تفاعل البيتيد مع الشحنة السطحية للخلايا ويؤثر في نفاذية الأغشية الخلوية أو قد يسبب إحداث ثقب أو 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 DNA أو RNA 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، ص 178.
- 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 Speck, (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. Trends in Microbiology, 8: 402- 410
- 9- Hsu, K. C. (2010). Purification of antioxidative peptides prepared from

- 13-Pihlanto, L.; Rokk, T. and H. (1998). Korhonen Angiotensin -I- 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 .
- enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chemistry*, 122(1): 42-48.
- 10-Huang, G.; Ren, Z. and Jiang, J.X. (2011). Separation of iron-binding peptides from shrimp processing by products hydrolysates. *Food Bioprocess Technol.*, 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 Society*, 5 : 36-39 .

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.