



التنقية الجزئية للبكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278 و *Weissella paramesenteroides*-DFR6 وتطبيقه في حفظ نقائق الدجاج.

زهراء علي مزهر<sup>1\*</sup>، اسوان حمدالله البيار<sup>2</sup>  
1 لاغذية كلية  
2 لاغذية كلية

zahraa.mizher@yahoo.com  
aswanbayar@yahoo.com

تاريخ قبول النشر: 2018/2/25

تاريخ استلام البحث: 2017/11/13

جرت تنقية جزئية للبكتريوسين باستخدام كبريتات الامونيوم بتركيز 50% ذ بلغت الفعالية للبكتريوسين المنتج *Pediococcus acidilactici*-FMAC278 25600 / مل وكانت عدد مرات التنقية 5.8 وبحصيلة 7.6% وعند اجراء الديليزة كانت الفعالية 12800 / مل وعدد مرات التنقية 6.3 وبحصيلة 3%، أما فعالية البكتريوسين *Weissella paramesenteroides*-DFR6 باستخدام كبريتات الامونيوم بتركيز 50% 12800 / مل وعدد مرات التنقية 2.7 وبحصيلة 8.8% وعند اجراء الديليزة بلغت الفعالية 6400 / مل وبتنقية 5.1 وبحصيلة 3.4%، وصنعت نقائق لحم الدجاج واطيف اليها تراكيز (0.25 0.5 1)% لبكتريوسين المنقى جزئياً لدراسة تأثيره في حفظ النقائق، وظهر ان اعداد البكتريا انخفضت بعد ثلاثة ايام من خزنها في الثلجة وبتركيز 0.5%، اما الاعفان فقد انخفضت اعدادها بعد مرور ثلاثة ايام من خزنها في الثلجة وبتركيز 0.5%.

الكلمات المفتاحية: التنقية الجزئية، البكتريوسين، نقائق الدجاج، *Pediococcus acidilactici*-FMAC278، *Weissella paramesenteroides*-DFR6.

## PARTIAL PURIFICATION OF BACTERIOCIN PRODUCED FROM *PEDIOCOCCUS ACIDILACTICI*-FMAC278 AND *WEISSELLA PARAMESENTEROIDES*-DFR6 AND ITS APPLICATION IN THE PRESERVATION OF CHICKEN SAUSAGES

Zahraa A. Mezher<sup>1</sup>, Aswan H. AL-Bayyar<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Food Science Department, College of Agriculture, Baghdad University, Baghdad, Iraq zahraa.mizher@yahoo.com

<sup>2</sup> Assis. Prof. Dr. Food Science Department, College of Agriculture, Baghdad University, Baghdad, Iraq aswanbayar@yahoo.com

### ABSTRACT

Bacteriocins were partially purified by ammonium sulphate 50% concentration, bacteriocin activity of *Pediococcus acidilactici*-FMAC278 was 25600 U/ml with 5.8 folds and 7.6% yeild, the activity decrease to 12800 U/ml after dialysis with 6.3 folds and 3% yield, On the other hand the bacteriocin activity of *Weissella paramesenteroides*-DFR6 was 12800 U/ml with 2.7 folds and 8.8% yeild, after dialysis the activity became 6400 U/ml with 5.1 fold and 3.4% yield, Chicken Sausage were made by adding 0.25, 0.5 and 1% particaly purified bacteriocin to study its effect on microorganisms and increasing shelf life of Sausage. It is found that bacterial numbers were decreased after 3 days of storage at refrigerator at 0.5% conc. While the molds decreased after 3 days of storage at refrigerator at 0.5% conc.

**Keywords:** Partial purification, Bacteriocin, Chicken Sausage, *Pediococcus acidilactici*- FMAC278, *Weissella paramesenteroides*-DFR6.

### : INTRODUCTION

تعرف بكتريوسينات بكتريا يك بأنها يدات ذات اوزان جزئية عالية للبتريا البا ما يمتد مداها الى ير قريبة بالبكتريا (Najib et. al., 2007) بكتريه يك *Lactosphaera, Leuconostoc, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus,*

\* بحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول .



*Pediococcus, Streptococcus, Melissococcus, Carnobacterium, Oenococcus, Tetragenococcus, (Noordiana et al., 2013) Weissella Vagococcus*

تعد بكتريا *Weissella paramesenteroides* غير مسببة للأمراض (Liu et al., 2009)

حيوية (Aldujaili and Imarah., 2014) وان البكتريوسين المنتج *Weissella paramesenteroides* DX يدعى weissellicin A (Papagianni, 2012)، اما بكتريا *Pediococcus acidilactici* فلها القدرة على انتاج م مايكروبي بيتيدي يدعى (Anastasiadou, 2009) Papagianni and Pediocin.

هناك عدة طرائق مستخدمة لتنقية البكتريوسين منها الترسيب بالاملاح مثال عليها كبريتات الامونيوم ويكون اما على مرحلتين ما بين نسبي اشباع 25-75% (Martinez-Cuesta et al., 2000)

70% (Lyon et al., 1993) Abdul-Qahar (2004) بتركيز البكتريوسين Lacticin G

عن طريق ترسيبه بكبريتات الامونيوم بنسبتي اشباع 25 65%، واما الطريقة الاخرى التي تأتي بعد عملية الترسيب هي القيام بالديليزة باستخدام انابيب من اغشية السليلوز (Ogunbanwo et al., 2003)

ظروف تنقية مختلفة و (Osmanagaoglu et al. (1998) الديليزة لتنقية البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici* 4 24 Abrams et al. (2011) إلى انه استخدم نسبة 70%

كبريتات الامونيوم لترسيب البكتريوسين المنتج من *Pediococcus pentosaceus*، أو استعمال المذيبات العضوية (Piard & Desmazeaud, 1992) مثال عليها الاسيتون واستخدم كذلك كروموتوغرافي الترشيح الهلامي (Pal &

Ramana, 2010) (Benkerroum et al. (2005) استخدامه للتجفيد لتحويل البكتريوسين بشكل مسحوق، Kamoun et al. (2005) فقد اوضح انه استخدم عدة خطوات لتنقية منها الديليزة، التجفيد، كروموتوغرافي السائل

.HPLC

Al-Zubaidi (2012) البيوتانول لغرض تنقية البكتريوسين

*terrigena* تنقية جزئية ثم قيست الفعالية للبكتريوسين خلال قياس قطر منطقة التثبيط (AL-Mashhadani (2010) البيوتانول لتنقية البكتريوسين البلانترسين المنتج من *Lactobacillus plantarum*.

تمتلك بكتريوسينات بكتريا حامض اللاكتيك آليات مختلفة تعمل من خلالها لتؤثر في الاحياء المجهرية الاخرى منها تثبيط بناء جدار الخلية (Chakraborty et al., 2010) وتثبيط تضاعف الحامض النووي DNA حيث

البكتريوسينات على التحليل غير المتخصص للحامض النووي DNA إذ يتداخل البكتريوسين السايوتوبلازمي فيعمل على تثبيط بناء DNA (Razzak et al., 2011) وتثبيط بناء البروتين

بعض أنواع البكتريوسينات الفعل الإنزيمي (RNase) إذ يعمل على يطة الوحدة الفرعية 30S عن طريق شطر 16S rRNA tRNAs مما يند تثبيط صنع البروتين (Gillor et al., 2005) وتكوين الثغور

بالغشاء السايوتوبلازمي (Lagos et al., 2009).

(Delves et al. (1996) انه بالامكان استعمال البكتريوسينات بشكل ناجح في حفظ عدد من المنتجات

الغذائية ويعود الى عدة اسباب الاول هو تأثيرها المميت لعدد من انواع البكتريا المسببة لتلف الاغذية، اما الثاني فهو مقاومتها للمعاملات الحرارية ويقصد بها البكتريوسينات المقاومة للحرارة والسبب الثالث يعود للطبيعة البروتينية للبكتريوسينات وهذا ما يجعلها عرضة للانزيمات المحللة للبروتين الموجودة في القناة الهضمية اضرار جانبية كالحساسية التي تسببها المضادات الحيوية.

لذا فقد ازداد الاهتمام بالبكتريوسينات بشكل كبير نظرا لفائدتها بديلاً طبيعياً للمواد الحافظة الكيميائية المستخدمة

في حفظ الاغذية لانها تعد امانة من الناحية الصحية (John et al., 2012).

هناك ثلاث طرائق لتطبيق البكتريوسين في حفظ الاغذية بشكل عام فالاولى تكون بأضافة الخلايا الحية المنتجة للبكتريوسين الى منتجات الغذاء فيجب ان تكون الخلايا قادرة على انتاج البكتريوسين في وسط الغذاء ويكون فعالاً، اما

الطريقة الثانية فتتم بأضافة البكتريوسينات النقية او شبه النقية في حفظ الاغذية، والطريقة الثالثة من التطبيقات تكون بأضافة الخلايا المنتجة للبكتريوسين مع البكتريوسين المنتج (Bagenda & Yamazak, 2007).

لقد بين (DeVuyst & Leroy (2007) قدرة بكتريوسينات بكتريا حامض اللاكتيك في الاستعمال الغذائي

(Adetunji & Adegoke (2007) انها تمتلك تأثيراً مضاداً للأحياء بنطاق واسع عند الاستعمال.

وقد وجد إن البكتريوسين المنتج من *Lactobacillus rhamnosus* *Bacillus brevis*

*Pseudomonas aeruginosa Bacillus subtilis Bacillus pumilus Escherichia coli*

*Arthrobacter spp. Acinetobacters spp. Vibrio harveyi Staphylococcus aureus*

(Sarika et al., 2010).



وتستخدم بكتريا حامض اللاكتيك المنتجة للبكتريوسين في انتاج الجبن والزيتون والخضروات (Amenu, 2014)، واستخدمت بكتريا *Weissella* بشكل بارز في بعض الاطعمة الافريقية المخمرة او في تخمير العجين *Pediococcus* كما اعتبر البكتريوسين *Pediocin* (Fusco et al., 2015) *Pediocin PA-1* (Vazquez et al., 2004) يقلل من عدد الكائنات المستهدفة (Clevelznd et al., 2001).

## :MATERIALS AND METHODS

### :Determination of protein concentration تقدير تركيز البروتين

فُدر تركيز البروتين لمستخلص البكتريوسين الخام والمنقى وذلك بإتباع الطريقة المذكورة من **Bradford** (1976) واعتماداً على المنحنى القياسي لألبومين المصل البقري، وذلك بمزج 100 مايكرو لتر من المستخ *Coomassie brilliant blue G250* بالبروتين، مما يسهم في زيادة الامتصاص *Coomassie brilliant blue G250* أنابيب إختبار نظيفة ثم مزجت جيداً وتركت بدرجة حرارة 10 دقائق ثم قرأت الامتصاصية للنماذج على طول موجي 595 .

### :Partial purification of bacteriocin التنقية الجزئية للبكتريوسين

استخدمت الطريقة المذكورة من **Jayachitra et al. (2012)** مع اجراء تحويل بنسب الاشباع واستخدام الماء المقطر في تجميع الراشح وكما يأتي:

تمت معاملة البكتريوسين المعزول من بكتريا *Weissella Pediococcus* بأضافة كبريتات الامونيوم الصلبة (30 40 50 60 70)% واختيرت النسبة الافضل التي اعطت افضل فعالية نوعية ثم مزجت لمدة ساعتين 4 14000 xg 4 جُمع البكتريوسين اجريت الديلزة لمدة 18 ساعة بأستخدام كيس الديلزة cat. NO.3787-F67، وفُدرت الفعالية للبكتريوسين وذلك على وفق الطريقة الواردة في **(Int. 1)** واجري تحويل عليها بأستخدام الاقراص:

0.1 مل من عالق بكتريا الاختبار *Salmonella Staphylococcus aureus* الاختبار *Bacillus cereus Escherichia coli typhimurium* L-shape [بحسب تعليمات الشركة المصنعة له **HIMEDIA** Nutrient agar 121 15 دقيقة].

حُضرت التخافيف وذلك بأخذ (100 مايكرو لتر) بكتريوسين (100 مايكرو لتر) [ 8.5 غم من كلوريد الصوديوم NaCl 1000 عمل تخفيف بكتريوسين 1/2 وتكمل التخافيف (1/4 1/8 1/16 1/32 1/64)....]. نُقعت الاقراص في كل تخفيف ووضعت على سطح وسط المغذي الصلب المزروع ببكتريا الاختبار. 24 37 وعُبر عن فعالية البكتريوسين ( / ) وحسبت من التخفيف الاعلى الذي يظهر منطقة تثبيط واضحة وذلك من المعادلة الآتية:

فعالية البكتريوسين ( / ) = مقلوب التخفيف × 100

### تقدير نسبة الكربوهيدرات في محلول البكتريوسين المنقى

#### Determination of carbohydrate content in purified bacteriocin solution:

استعملت طريقة الفينول-حامض الكبريتيك المذكورة من **Dubois et al. (1956)** القياسي للكلوكوز، فُدر تركيز الكربوهيدرات في محلولي البكتريوسين المنتجين من *Weissella Pediococcus* 1 مل من البكتريوسين الى 1 5% فينول لكل انبوبة ومُزجت جيداً ثم اضيف 5 الكبريتيك المركز ومُزج جيداً وثرُك ليبرد وقيست الامتصاصية الضوئية على طول موجي 490 .

#### :Freeze-drying bacteriocin تجفيد البكتريوسين

على البكتريوسين ووضع في التجميد -18م طوال الليل ثم جُفد بجهاز التجفيد ووزن بعد ذلك واستخدم جهاز التجفيد لغرض تجفيد البكتريوسين المنقى جزئياً للحصول على مسحوق البكتريوسين.

#### :Food application of bacteriocin (sausage store) ( التطبيق الغذائي للبكتريوسين )

##### :Sausage chickens components

طريقة المذكورة من **AL-Ani (1999)** في تحضير نقائق لحم صدر الدجاج ومبينة المكونات في (

: (1



(1) : المكونات الداخلة في صناعة نقائق الدجاج مع نسب البكتريوسين المضافة.

|                |     |                        |                    |    |   |
|----------------|-----|------------------------|--------------------|----|---|
| البكتريوسين    |     | عجينة البطاطا المسلوقة | دهن التجويف البطني |    |   |
| % (1 0.5 0.25) | 1.2 | 8.5                    | 15                 | 75 | % |

### طريقة تحضير نقائق الدجاج :Method prepare sausage chickens

مزج صدر الدجاج المثروم والمأخوذ من الاسواق المحلية مع الدهن والملح وعجينة البطاطا المسلوقة وقسمت الخلطة الى اجزاء متساوية الوزن ونُقل الخليط كلا على انفراد الى خلاط كهربائي Blender 5 30 ثانية واضيف بعدها 5 مل من الماء المبرد، واستمر الخلط لمدة دقيقة واحدة للحصول على خليط ثم اضيف نوعي البكتريوسين بالنسب المذكورة وعُبء الخليط بأغلفة صناعية. تم عمل عينتين من كل تركيز من البكتريوسين واحدة منها حفظت في درجة حرارة الثلاجة 4 رة التجميد -20 صُنعت عينتان لم يضيف لها البكتريوسين Standard لتقييم تطور النمو المايكروبي للنقائق 4م وحفظت الاخرى في حرارة التجميد -20 .

### الفحص المايكروبي لنقائق الدجاج :Microbiological test of chicken sausages

جري فحص العدد الكلي للبكتريا والاعفان لكل من صدر الدجاج والنقائق المصنعة عند وقت (0 3 5 8) يوم

وقد اجري الفحص المايكروبي لصدر  
واضيف اليها 9 % 0.85 NaCl تم وضعها في كيس مغلق ومزجت لخمس دقائق بأستخدام Stomacher  
فحصل هرس للحم وعد هذا تخفيف اول  $10^{-1}$  وتعمل تخافيف متتابعة ( $10^{-1}$  -  $10^{-7}$ ) استخدمت طريقة الصب  
1 مل من التخفيف وصب فوقها الوسط N.A PDA عمل مكرران لكل تخفي  
PDA 5 أيام على درجة حرارة 28 N.A

. 37

24

## :RESULTS AND DISCUSSION

### :Partial purification of bacteriocin التنقية الجزئية للبكتريوسين

اجريت عملية التركيز للبكتريوسين وذلك بترسيبه بكريتات الامونيوم وبنسبة اشباع 50% فعالية  
للبيكتريوسين إذ اعطت نتائج مشابهة للترسيب 60 70% .  
ويلاحظ من (2) زيادة فعالية البكتريوسين  
6400 / 12800 /مل في خطوة الديلزة وكذلك ارتفاع فعالية النوعية من 3368 / 21333  
/ملغم وكان عدد مرات التنقية التي تحققت عبر خطوة الترسيب بكريتات الامونيوم 5.8 مرة وبحصيلة 7.6% بينما  
عدد مرات التنقية من خطوة الديلزة 6.3 مرة وبحصيلة 3% .

### (2): تركيز وتنقية البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278.

| الحصيلة (%) | التنقية | الفعالية الكلية ( ) | الفعالية النوعية ( / ) | تركيز البروتين ( / ) | الفعالية ( / ) | ( )  | خطوة التركيز              |
|-------------|---------|---------------------|------------------------|----------------------|----------------|------|---------------------------|
| 100         | 1       | $64 \times 10^5$    | 3368                   | 1.9                  | 6400           | 1000 |                           |
| 7.6         | 5.8     | 486400              | 19692                  | 1.3                  | 25600          | 19   | الترسيب بكريتات الامونيوم |
| 3           | 6.3     | 192000              | 21333                  | 0.6                  | 12800          | 15   | الديلزة                   |

بينما يلاحظ من (3) ارتفاع فعالية البكتريوسين المنتج من *Weissella paramesenteroides*-DFR6  
3200 / 6400 /مل كما يلاحظ ارتفاع الفعالية النوعية للبكتريوسين من 2480 / 12800  
/ملغم، وان عدد مرات التنقية التي تحققت عبر خطوة الترسيب بكريتات الامونيوم 2.7 مرة وبحصيلة 8.8%



مرات التنقية من خطوة الديلزة كان 5.1 مرة وبحصيلة 3.4% يز وتنقية البكتريوسين للتخلص من اكبر كمية من المركبات التي ربما تؤثر في فعاليته وتتداخل معه.

**Contreras et al. (1997)** الى حصيلة مقدارها 6.7% من البكتريوسين Lactobin A

رسيب بكتريونات الامونيوم. *Lactobacillus amylovorus* وعدد مرات تنقية 9.5

**Abdul-Qahar (2004)** الى ان احد اسباب انخفاض فعالية البكتريوسينات هو ادمصاصها على اكياس التنافذ

الغشائي او انايبب الطرد المركزي او الزجاجيات.

(3): تركيز وتنقية البكتريوسين *Weissella paramesenteroides*-DFR6

| الحصيلة (%) | التنقية | الفعالية الكلية ( ) | الفعالية النوعية ( / ) | تركيز البروتين ( / ) | الفعالية ( / ) | ( )  | ة التركيز                   |
|-------------|---------|---------------------|------------------------|----------------------|----------------|------|-----------------------------|
| 100         | 1       | $10^5 \times 32$    | 2480                   | 1.39                 | 3200           | 1000 |                             |
| 8.8         | 2.7     | 281600              | 6736                   | 1.9                  | 12800          | 22   | الترسيب بكتريونات الامونيوم |
| 3.4         | 5.1     | 108800              | 12800                  | 0.5                  | 6400           | 17   | الديلزة                     |

تقدير المحتوى الكربوهيدراتي للبكتريوسينات

### : Determination of carbohydrate content of bacteriocins

جرى تقدير نسبة الكاربوهيدرات الكلية لنوعي البكتريوسين المنقى بطريقة الفينول- حامض الكبريتيك والموصوفة

**Dubois et al. (1956)**، وظهرت النتائج ان البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278

يحتوي على كربوهيدرات بتركيز 0.056 / 5.6% في البكتريوسين اما البكتريوسين المنتج من

*Weissella paramesenteroides*-DFR6 فيحتوي كربوهيدرات بتركيز 0.078 / 7.8%

البكتريوسين وان احتواء نوعي البكتريوسين على الكربوهيدرات يدل على انها ضمن الصنف الرابع في تصنيف

البكتريوسينات الذي وضعه **Nes et al. (1996)** انها عبارة عن معقد او مزيج غير محدد من البروتينات

والكربوهيدرات، وذلك يوضح سبب ثباتية البكتريوسين لنوعي البكتريا لأحتواء البكتريوسين على الكربوهيدرات.

**De Klerk & Smit (1967)** ان البكتريوسين المنتج من *Lactobacillus fermentum* يحتوي على

نسبة كربوهيدرات 53% وبروتين 24% ودهون 21% **Upreti & Hinsdill (1973)** ان البكتريوسين

Lactocin 27 هو عبارة عن كلايكوبروتين ونسبة البروتين الى الكربوهيدرات 1:1.75.

### :Freeze-drying bacteriocin تجفيد البكتريوسين

بعد ان تم تعريض البكتريوسين المنقى جزئيا الى التجفيد لم يتحول الى مسحوق لكن قل حجمه لنوعي البكتريوسين،

وان سبب عدم تحوله الى مسحوق قد يعود لإحتواء البكتريوسين على الكربوهيدرات في تركيبه والتي قدرت بنسبة 5.6%

في البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278 7.8% في البكتريوسين المنتج من

*Weissella paramesenteroides*-DFR6 يحدث امتصاصاً للرطوبة بسبب خاصية Hygroscopic

جزيئات الماء عند تعرضها لأي هواء فحدث تغيير فيزيائي في تركيب المادة المدمصة ومنع جفافها.

### :Microbiological test of chicken sausages الفحص المايكروبي لنقانق الدجاج

(4) لاعداد البكتريا خلال مدد حفظ مختلفة للنقانق المضاف له

البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278، فيلاحظ ان النقانق المخزونة في الثلاجة انخفضت

اعداد البكتريا فيها بالمقارنة مع النماذج التي لم يضاف اليها البكتريوسين ولا سيما عند 0.5% فأخفضت اعداد البكتريا

$10^5 \times 6.7$  / . . 0.25% كان اعداد البكتريا  $10^5 \times 8.6$  / . .

النقانق المخزونة في المجمدة فأخفضت اعداد البكتريا عند نسبة اضافة 1% من البكتريوسين الى  $10^6 \times 3.8$  / . . مل، بينما

بلغت الاعداد البكتيرية في النماذج الخالية من البكتريوسين  $10^7 \times 7.3$  / . .  $10^7 \times 3$  / . .

لحصول تمزق للخلايا والسائل الناضح منها بعد التجفيد يعتبر مشجع على زيادة اعداد الخلايا، فلو حظ ان الاعداد البكتيرية

بعد اليوم الثالث من خزن النقانق في الثلاجة، وعند اضافة نسبة 0.5% فيلاحظ انخفاض في العدد البكتيري

للنقانق المخزونة في المجمدة بعد خزنها لمدة يوم قد يعود سبب انخفاض العدد البكتيري الى تمزق خلايا البكتريا بالتجميد

اضافة الى تأثير البكتريوسين كترتيا قليلا بشكل تدريجي وصولا الى العدد  $10^6 \times 7$  / . .

لمدة ثمانية أيام.



(4): أعداد البكتيريا الكلية في النعناق المضاف لها النسب المختلفة من البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278 المحفوظ لعدة أيام.

| البكتريوسين | طريقة | 1 يوم             | 3 أيام            | 5 أيام            | 8 أيام            |
|-------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|             |       | $10^6 \times 7.2$ | $10^7 \times 1.9$ | $10^7 \times 3.1$ | $10^7 \times 7.3$ |
| 0.25%       |       | $10^6 \times 6.2$ | $10^6 \times 8.8$ | $10^6 \times 4.9$ | $10^5 \times 8.6$ |
| 0.5%        |       | $10^6 \times 6.2$ | $10^6 \times 9.5$ | $10^6 \times 4.2$ | $10^5 \times 6.7$ |
| 1%          |       | $10^6 \times 5.6$ | $10^6 \times 7.2$ | $10^6 \times 8.7$ | $10^6 \times 9.4$ |
|             |       | $10^6 \times 7$   | $10^6 \times 9.4$ | $10^7 \times 1.5$ | $10^7 \times 3$   |
| 0.25%       |       | $10^6 \times 7.1$ | $10^6 \times 7.4$ | $10^6 \times 8.3$ | $10^6 \times 9.8$ |
| 0.5%        |       | $10^5 \times 6$   | $10^6 \times 2.8$ | $10^6 \times 6.3$ | $10^6 \times 7$   |
| 1%          |       | $10^6 \times 4.4$ | $10^6 \times 4.8$ | $10^6 \times 4.1$ | $10^6 \times 3.8$ |

\* أعداد البكتيريا للحم الدجاج المفروم عند وقت الصفر =  $10^6 \times 5.1$  /

ويلا (5) ارتفاع اعداد البكتيريا للنعناق المخزونة في الثلجة والمجمدة التي لم يضاف لها بكتريوسين مقارنة بالنعناق المحفوظة بالبكتريوسين المنتج من *Weissella paramesenteroides*-DFR6 انخفاض اعداد البكتيريا للنعناق المخزونة في الثلجة المضاف لها نسبة 0.5% بكتريوسين فبلغت  $10^5 \times 7.5$  . . . / ثمانية ايام، اما النعناق المضاف لها بكتريوسين بنسبة 0.25% فأنخفضت الاعداد البكتيرية الى  $10^6 \times 5.4$  . . . / بالاعداد بعد اليوم الاول للخرن، وعند اضافة بكتريوسين بنسبة 1% للنعناق فأن اعداد البكتيريا بلغت  $10^6 \times 2.5$  . . . / اليوم الثامن من الخزن في الثلجة، فلو حظ انخفاض في اعداد البكتيريا بعد اليوم الثالث الى اليوم الثامن من الخزن في الثلجة للنعناق المضاف لها النسب الثلاثة (0.25 0.5 1)% .

(5): أعداد البكتيريا الكلية في النعناق المضاف لها النسب المختلفة من البكتريوسين المنتج من *Weissella paramesenteroides*- DFR6 أيام.

| البكتريوسين | طريقة | 1 يوم             | 3 أيام            | 5 أيام            | 8 أيام            |
|-------------|-------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|             |       | $10^6 \times 7.2$ | $10^7 \times 1.9$ | $10^7 \times 3.1$ | $10^7 \times 7.3$ |
| 0.25%       |       | $10^6 \times 6.7$ | $10^6 \times 9$   | $10^6 \times 8.2$ | $10^6 \times 5.4$ |
| 0.5%        |       | $10^6 \times 5.9$ | $10^6 \times 7.4$ | $10^6 \times 3.8$ | $10^5 \times 7.5$ |
| 1%          |       | $10^6 \times 6$   | $10^6 \times 6.7$ | $10^6 \times 5.2$ | $10^6 \times 2.5$ |
|             |       | $10^6 \times 7$   | $10^6 \times 9.4$ | $10^7 \times 1.5$ | $10^7 \times 3$   |
| 0.25%       |       | $10^6 \times 5.5$ | $10^6 \times 6.5$ | $10^6 \times 9.6$ | $10^7 \times 3.8$ |
| 0.5%        |       | $10^6 \times 5.8$ | $10^6 \times 7$   | $10^6 \times 7.3$ | $10^6 \times 8.1$ |
| 1%          |       | $10^6 \times 1.6$ | $10^6 \times 8.3$ | $10^6 \times 9.6$ | $10^7 \times 2.2$ |

\* البكتيريا للحم الدجاج المفروم عند وقت الصفر =  $10^6 \times 5.1$  /

ويوضح (6) اعداد الاعفان الناتجة من الخزن لنعناق الدجاج المضاف له نسب من البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278 المحفوظ لمدة ثمانية أيام، فلو حظ انخفاض في اعداد الاعفان بعد اليوم الثالث الى الثامن عند خزن النعناق في الثلجة والمضاف لها بكتريوسين بنسبة (0.25 0.5 1)% مقارنة بأعدادها بعد اليوم الاول 0.5%  $10^4 \times 6$  مستعمرة، اما عند اضافة بكتريوسين بنسبة 1% المخزونة في الثلجة فنلاحظ ان اعداد الاعفان بعد ثمانية ايام كان اعلى مقارنة بأعدادها عند اضافة بكتريوسين بنسبة 0.5%



لوجود بعض المركبات داخل الخلطة المستخدمة عند زيادة تركيز البكتريوسين يحصل اتحاد بينها وبين التركيز المضاف للبكتريوسين قد يتكون مركب معقد يعمل على تقليل فعالية البكتريوسين.

(6): أعداد الاعفان في النفاق المضاف له النسب المختلفة من البكتريوسين المنتج من *Pediococcus acidilactici*-FMAC278 المحفوظ لعدة ايام.

$$10^5 \times 7 =$$

| 8 أيام           | 5 أيام           | 3 أيام           | 1 يوم            | طريقة | البكتريوسين |
|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|-------------|
| $10^7 \times 19$ | $10^7 \times 12$ | $10^6 \times 15$ | $10^6 \times 8$  |       |             |
| $10^4 \times 13$ | $10^5 \times 11$ | $10^5 \times 15$ | $10^5 \times 11$ |       | %0.25       |
| $10^4 \times 6$  | $10^4 \times 15$ | $10^5 \times 12$ | $10^5 \times 9$  |       | %0.5        |
| $10^4 \times 12$ | $10^4 \times 19$ | $10^5 \times 20$ | $10^5 \times 12$ |       | %1          |
| $10^7 \times 16$ | $10^7 \times 9$  | $10^6 \times 18$ | $10^5 \times 22$ |       |             |
| $10^6 \times 20$ | $10^6 \times 12$ | $10^6 \times 8$  | $10^5 \times 19$ |       | %0.25       |
| $10^6 \times 13$ | $10^6 \times 11$ | $10^5 \times 21$ | $10^5 \times 16$ |       | %0.5        |
| $10^6 \times 12$ | $10^6 \times 8$  | $10^5 \times 19$ | $10^5 \times 9$  |       | %1          |

كما يوضح (7) المضاف له البكتريوسين المنتج من *Weissella paramesenteroides*- DFR6 المخزن في الثلاجة والمجمدة لثمانية ايام وبعد حساب تطور اعداد الاعفان خلال الثمانية ايام لوحظ انخفاض في اعداد الاعفان بعد اليوم الثالث الى اليوم الثامن لخزن النفاق في الثلاجة المضاف لها نسبة %0.25 أما النفاق المخزنة في الثلاجة المضاف لها نسبة %0.5 من البكتريوسين انخفض عدد الاعفان الى  $10^4 \times 15$  و  $10^4 \times 9$ .

(7): أعداد الاعفان في النفاق المضاف له النسب المختلفة من البكتريوسين *Weissella paramesenteroides*-DFR6 المحفوظ لعدة ايام.

| 8 أيام           | 5 أيام           | 3 أيام           | 1 يوم            | طريقة | البكتريوسين |
|------------------|------------------|------------------|------------------|-------|-------------|
| $10^7 \times 19$ | $10^7 \times 12$ | $10^6 \times 15$ | $10^6 \times 8$  |       |             |
| $10^4 \times 15$ | $10^5 \times 9$  | $10^5 \times 11$ | $10^5 \times 19$ |       | %0.25       |
| $10^4 \times 9$  | $10^4 \times 12$ | $10^5 \times 23$ | $10^5 \times 18$ |       | %0.5        |
| $10^5 \times 19$ | $10^5 \times 18$ | $10^5 \times 15$ | $10^5 \times 14$ |       | %1          |
| $10^7 \times 16$ | $10^7 \times 9$  | $10^6 \times 18$ | $10^5 \times 22$ |       |             |
| $10^6 \times 15$ | $10^6 \times 13$ | $10^5 \times 20$ | $10^5 \times 17$ |       | %0.25       |
| $10^5 \times 22$ | $10^5 \times 18$ | $10^5 \times 15$ | $10^5 \times 11$ |       | %0.5        |
| $10^5 \times 25$ | $10^5 \times 19$ | $10^5 \times 14$ | $10^5 \times 12$ |       | %1          |

$$10^5 \times 7 =$$

وأظهرت النتائج ان افضل نسبة مضافة من نوعي البكتريوسين هي %0.5 التي قللت بشكل كبير من نمو الاعفان والبكتريا عند الخزن في الثلاجة، إذ امكن المحافظة على اعداد البكتريا والاعفان ومنع الزيادة الكبيرة في اعدادها لمدة ثمانية ايام من الحفظ.



يعود سبب فعالية البكتريوسين تجاه تقليل اعداد البكتريا في الاغذية عنها في الاوساط الزراعية كبير يعود ذلك الى ارتباط الاجزاء الكاربوهيدراتية للبكتريوسين مع مكونات المادة الغذائية فيمنع او يقلل من فعاليته التثبيطية (Abdul-Qahar, 2004).

ويمكن ان يعزى سبب انخفاض فعالية البكتريوسين الى افراز مواد من قبل الاحياء المجهرية في النفاق التي تغير من بيئة الوسط وبذلك تؤثر في فعالية البكتريوسين، ولوحظ قلة فعالية التجميد كطريقة خزن للنفاق لتقليل اعداد البكتريا والاعفان ربما يعود ذلك لتكون بلورات ثلجية ادت الى تمزق خلايا مكونات الغذاء فتتضح السوائل ومن ثم خروج البكتريوسين مع السائل الناضح فيفقد تأثيره في الغذاء وقابليته في الحد من نمو الاحياء المجهرية، ويعزى انخفاض الاعداد د ثمانية ايام من الحفظ الى انخفاض الحمل المايكروبي واجهاد هذا الحمل بسبب وجود البكتريوسين مسببة مستويات واطئة من النمو، وقد يعزى ارتفاع اعداد البكتريا والاعفان عند وقت الصفر الى ملامسة صدر الدجاج لأيدي العمال واجهزة الثرم توي حمل مايكروبي كبير.

### :CONCLUSIONS

تم الحصول على بكتريوسين منقى *Pediococcus Weissella paramesenteroides*-DFR6 *acidilactici*-FMAC278 بأستخدام كيرينات الامونيوم والديلزة فلوخط زيادة بالفعالية والفعالية النوعية للبكتريوسين من كلا نوعي البكتريا واحتواءهما على الكاربوهيدرات في تركيبه، وان اضافة نوعي البكتريوسين يزيد

### :REFERENCES

- I. Abdul-Qahar, F. W. (2004). *Production and Characterization of A Bacteriocin From a Local Isolate of Lactic Acid Bacteria Lactococcus lactis*. Master Thesis, College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq.
- II. Abrams, D., Barbosa, J., Albano, H., Silva, J., Gibbs, P. A., & Teixeira, P. (2011). Characterization of bacPPK34 a bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* strain K34 isolated from Alheira. *Food Control*, 22, 940-946.
- III. Adetunji, V. O., & Adegoke, G. O. (2007). Bacteriocin and cellulose production by lactic acid bacteria isolated from West African soft cheese. *J. Rican Journal of Biotechnology*, 6(22), 2616-2619.
- IV. AL-Ani, W. A. (1999). *Sausages are Mde From Old Chicken Meat by Adding Different Proportions of Fillers*. Master Thesis, College of Agriculture, University of Baghdad, Iraq.
- V. Aldujaili, N. H., & Imarah, A. A. S. (2014). Molecular detection of *Weissella* isolated from fermented food. *Magazin of Al-Kufa University for Biology.*, 6(1), 73-81.
- VI. AL-Mashhadani, E. I. J. (2010). *Study the Activity of Bacteriocin Produced From Lactobacillus plantarum on Virulence Factors of Acinetobacter baumannii*. Master Thesis, College of Science, University of Mustansiriya, Iraq.
- VII. Al-Zubaidi, M. M. A. (2012). *Role of Plasmids in Bacteriocin Production from Klebsiella spp Isolated from Clinical Samples*. Master Thesis, Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Postgraduate Studies. University of Baghdad, Iraq.
- VIII. Amenu, D. (2014). Bacteriocin producing starter and non starter lactic acid bacteria in food industry. *World Journal of Agronomy Food Science and Technology*, 1(1), 1-4.
- IX. Bagenda, D. K., & Yamazaki, K. (2007). Application of bacteriocins in food preservation and safety. *Global Science Books*, 1(2), 137-148.
- X. Benkerroum, N., Daoudi, A., Hamraoui, T., Ghalfi, H., Thiry, C., Duroy, M., Evrart, P., Roblain, D., & Thonart, P. (2005). Lyophilized preparations of bacteriocinogenic *Lactobacillus curvatus* and *Lactococcus lactis subsp. lactis* as potential protective adjuncts to control *Listeria monocytogenes* in dry-fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 56-63.





- XI. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- XII. Chakraborty, H. J., Ganguli, S., Basu, P., Roy, P., & Datta, A. (2010). Structural analysis of Leucocine an essential bacteriocin. *J. Bioinformatics*, 2, 1-6.
- XIII. Clevelznd, J., Mantiville, T. J., Ness, I. F., & Chiknids, M. L. (2001). Bacteriocins: safe antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 71, 1-20.
- XIV. Contreras, B. G. L., De Vuyst, L., Devreese, B., Busanyova, K., Raymaeckers, J., Bosman, F., Sablon, E., & Vandamme, E. J. (1997 ). Isolation, purification, and amino acid sequence of Lactobin A, one of the two bacteriocins produced by *Lactobacillus amylovorus* LMG P .13139. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(1), 13-20.
- XV. De Klerk, H. C., & Smit, J. A. (1967). Properties of a *Lactobacillus fermenti* bacteriocin. *J. Gen. Microbio.*, 48, 309-316.
- XVI. Delves, B., Black burn, P., Evans, R. J., & Hugenholt, Z. (1996). *Application of The Bacteria Antonic*. Van Leeuwenhoek. 69.
- XVII. De Vuyst, L., & Leroy, E. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 13, 194-199.
- XXVIII. Dubois, M., Hamilton, J., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Biochem.*, 28, 350-356.
- XIX. Fusco, V., Quero, G. M., Cho, G., Kabisch, J., Meske, D., Neve, H., Bockelmann, W., & Franz, M. A. P. (2015). The genus *Weissella*: taxonomy, ecology and biotechnological potential. *Front. Microbiol.*, 6, 155-161.
- XX. Gillor, O. N., igro, L. M., & Riley, M. A. (2005). Genetically engineered bacteriocins and their potential as the next generation of antimicrobials. *Genetically Engineered Bacteriocins*, 15, 1-9.
- XXI. Int. 1: [https://www.researchgate.net/post/How\\_is\\_the\\_extraction\\_and\\_quantification\\_of\\_Bacteriocin\\_performed\\_Can\\_someone\\_provide\\_simplest\\_but\\_effective\\_methods](https://www.researchgate.net/post/How_is_the_extraction_and_quantification_of_Bacteriocin_performed_Can_someone_provide_simplest_but_effective_methods).
- XXII. Jayachitra, A., Sukanya, C. M., & Krithiga, M. (2012). Characterization of bacteriocin from probiotic *Lactobacillus plantarum*. *International Journal Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(11), 4374-4386.
- XXIII. John, R., Soumya, T. V., & Jose, S. (2012). Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus* SP and optimization of cultural conditions. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 2(12), 2250-3153.
- XXIV. Kamoun, F., Mejdoub, H., Aouissaoui, H., Reinbolt, J., Hammami, A., & Jaoua, S. (2005). Purification, amino acid sequence and characterization of bacthuricin F4, a new bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 81-88.
- XXV. Lagos, R., Tello, M., Mercado, G., García, V., & Monasterio O. (2009). Antibacterial and antitumorigenic properties of microcin e492, a pore-forming bacteriocin. *J. Current Pharmaceutical Biotechnology*, 10(1), 74-85.
- XXVI. Liu, J. Y., Li, A. H., Ji, C., & Yang, W. M. (2009). First description of a novel *Weissella* species as an opportunistic pathogen for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in China. *Veterinary Microbiology*, 136, 314-320.
- XXVII. Lyon, W. J., Sethi, J. K., & Glatz, B. A. (1993). Inhibition of psychrotrophic organisms by propionicin PLG-1, a bacteriocin produced by *Propionibacterium thoenii*. *J. of Dairy Sci*, 76, 1506-1513.



- XXVIII. Martinez-Cuesta, M. C., Buist, G., Kok, J., Hauge, H. H., Nissen-Meyer, J., Pelaez, C., & Requena, T. (2000). Biological and molecular characterization of a two-peptide lantibiotic produced by *Lactococcus lactis* IFPL 105. *J. of Applied Microbiology*, 89, 249-260.
- XXIX. Najib, L. M., Turki, A. M., & Hadithi, R. H. (2007). Isolation of bacteriocin from selected bacterial isolates and study of their inhibitory spectrum against some pathogenic bacteria. *Anbar University Journal of Pure Sciences*, 1(2), 63-71.
- XXX. Nes, I., Deipleiv, D., & Brurberg, M. (1996). Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Antonie van Lleeuwenhock*, 70, 113-128.
- XXXI. Noordiana N., Fatimah, A. B., & Mun, A. S. (2013). Antibacterial agents produced by lactic acid bacteria isolated from Threadfin Salmon and Grass Shrimp. *International Food Research Journal*, 20(1), 117-124.
- XXXII. Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I., & Onilude, A. A. (2003). Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal of Biotechnolog*, 2(8), 219-227.
- XXXIII. Osmanagaoglu, O., Gunduz, U., Beyatli, Y., & Cokmus, C. (1998). Purification and characterization of Pediocin F, A Bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* F. Turkey. *Journal of Biology*, 22, 217-228.
- XXXIV. Pal, A., & Ramana, K.V. (2010). Purification and characterization of bacteriocin from *weissella paramesenteroides* DFR-8, an isolate from cucumber (*Cucumis sativus*). *Journal of Food Biochemistry*, 34, 932-948.
- XXXV. Papagianni, M. (2012). Effects of dissolved oxygen and pH levels on weissellin a production by *Weissella paramesenteroides* DX in fermentation. *Bioprocess Biosyst Eng.*, 35, 1035-1041.
- XXXVI. Papagianni, M., & Anastasiadou, S. (2009). Encapsulation of *Pediococcus acidilactici* cells in corn and olive oil microcapsules emulsified by peptides and stabilized with xanthan in oil-in-water emulsions: studies on cell viability under gastro intestinal simulating conditions. *Enzyme Microb Tech.*, 45, 514-522.
- XXXVII. Piard, J., & Desmazeaud, M. (1992). Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances. *Laitieres, Unitede Microbiologie.*, 72, 113-142.
- XXXVIII. Razzak, M. S. A., Al-Charrakh, A. H., & Al- Greitty, B. H. (2011). Relationship between lactobacilli and opportunistic bacterial pathogens associated with vaginitis. *J. Medical Sciences.*, 3(4), 185-192.
- XXXIX. Sarika, A. R., Lipton, A. P. & Aishwarya, M. S. (2010). Bacteriocin production by a new isolate of *Lactobacillus rhamnosus* GP1 under different culture conditions. *J. Food Science and Technology*, 2(5), 291-297.
- XL. Upreti, G. C., & Hinsdill, R. D. (1973). Isolation and characterization of a bacteriocin from a homofermentative *Lactobacillus*. *Anti. Microb. Agents Chemother*, 4, 487-494.
- XLI. Vazquez, J. A., Gonzalez, M. P., & Murado, M. A. (2004). Pediocin Production by *Pediococcus acidilactici* in Solid State Culture on a Waste Medium. Process Simulation and Experimental Results. Instituto de Investigacions Marinas (CSIC).