مجلة زراعة الرافدين ISSN: 2224-9796 (Online) ISSN: 1815 – 316 X (Print) المجلد (٤٠) العدد (٢) ٢٠١٢

تصنيع منتوج لبني صحي Bifilact باستخدام بعض أنواع بكتريا حامض اللاكتيك المدعم

محمود يونس علي حامد صالح محمد
قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

الخلاصة

استخدمت البكتريا العلاجية في إنتاج لبن من حليب كامل الدسم مدعم بالنشأ وسكر اللاكتوز. ثم تخزين المنتج لمدة أسبوع تحت التبريد ، تم دراسة الخواص الفيزيائية من خلال أجراء تقييم حسي للمنتج. بينت النتائج بأن اللبن الناتج من استخدام بادئ منفرد او مختلط مقبول من ناحية نسبة الحموضة اذ كانت بعد التصنيع مباشرة في لبن *Lactobacillus acidophilus* ٠,٥٢% بينما في لبن *Bifidobacterium lactis* أصبح ٠,٩٢% وفي البادئ المختلط ١,٢٠%. وبالنسبة للمكونات الاخرى وبخاصة المواد الصلبة الكلية لكل من لبن *L. acidophilus* و *B.lactis* والبادئ المختلط ١٦,٤٧ و ١٦,٤٨ و ١٥,٩٣%على التوالي. وان اعداد البكتريا كانت ضمن الحدود المقبولة عالميا" طيلة فترة التخزين اذ كان أعلى عدد لبكتريا *B.lactis* في اللبن الحاوي على البادئ المفرد لهذه البكتريا وكذلك في البادئ المختلط تليها بكتريا *L. acidophilus* في اللبن المختلط وكانت اقل الأعداد في اللبن الحاوي على البادئ المفرد *L. acidophilus* بعد أسبوع من الحفظ ٨١ ×١٠^{٧} و ٨١ ×١٠^{٧} و ٣٦ ×١٠^{٧} و ١١×١٠^{٧} c.f.u/مل، على التوالي، وهذه مطابقة حسب قوانين منظمة الصحة العالمية WHO و منظمة الغذاء والزراعة FAO . تبين من التقييم الحسي للبن الصحي Bifilact بأن المنتوج قابل للاستهلاك البشري لمدة أسبوع في الأقل دون ان يطرأ عليه تغيير من الناحية المايكروبية والحسية مما يجعل الوقت كافيا لاستخدامه كمنتوج علاجي. أوضحت الخواص الفيزيائية للمنتج المجفد قابلية أعادة استخدامه بإعادة الذوبان مما يؤكد أمكانية استخدامه على شكل كبسولة .

المقدمة

استخدمت الإحياء المجهرية منذ القدم في إنتاج الأغذية المتخمرة والمشروبات الكحولية اذ ظهرت بوضوح في الصورة الجدارية المصرية عند صناعة السايلج قبل ألاف السنين . وبعد التحقق من فوائد هذه الإحياء بدء الاهتمام بها ومنها بكتريا حامض اللاكتيك اذا احتلت موقع الصدارة من بين الإحياء فهي تخمر السكريات وتستخدمها للطاقة وتنتج حامض اللاكتيك بشكل رئيسي وعليه سمي بالتخمر المتجانس او تنتج بالإضافة الى حامض اللاكتيك مركبات أخرى كحامض ألخليك والايثانول وغاز ثاني اوكسيد الكاربون وحامض الفورميك والسكسنيك وهذا ما يعرف بالتخمر غير المتجانس. لقد استخدمت هذه الإحياء في تصنيع أنواع من المنتجات الصحية وعرفت بالـ probiotic والتى تعني (من أجل الحياة) كما في صناعة اليوغرت والأغذية المتخمرة وأدخلت الى حقول تصنيع المشروبات الغازية soft drinks والأدوية واستخدمت لعلاج كثير من المشاكل ذات العلاقة بالغذاء وصحة المستهلك (Sullivan و Nord ، ٢٠٠٥) وتم تسويقها على شكل مزارع سائلة وكبسولات ومستحضرات مجفدة (Corbo وآخرون، ٢٠٠١). عرفت Mahan (٢٠٠٨) مصطلح الـ Probioticبأنة مشتق من كلمة إغريقية تعني الإحياء المفيدة والمستوطنة في الأمعاء والتى لها دور في تحسين صحة المعدة والأمعاء وتحسين امتصاص الكالسيوم ، وهناك أكثر من ٩٠ منتجا حيويا في العالم تحتوي على واحد او أكثر من هذه الأحياء (Fuller ، ١٩٩٨). وازداد استخدام هذه البكتريا لما لها من فوائد في القناة الهضمية منها تثبيط نمو الأحياء المرضية ومقاومتها لأملاح الصفراء وخفضها للكولسترول (Abd–Elsalam واخرون ، ٢٠٠٤) وكذلك التخفيف من عدم تحمل اللاكتوز، ومقاومتها للظروف غير الطبيعية للجهاز الهضمي من حيث الحموضة المرتفعة للمعدة لتستقر فيما بعد في القناة الهضمية . هناك كثير من المنتجات الحاوية على الـ *B.lactis* أو *Lb.acid.* او الاثنين معا" كما في بعض أنواع الحليب المجفف واللبن الرائب وحليب الخض والقشدة الحامضية.

تاريخ تسلم البحث ٥ / ١٠ / ٢٠١٠ وقبوله ٩ / ٥ /٢٠١١

هدفت هذه الدراسة الى استخدام هذه البكتريا في أنتاج لبن من حليب كامل الدسم (مدعم بالنشأ وسكر اللاكتوز) ومخزن بالتبريد لمدة أسبوعين ، مع أجراء التحليلات الميكروبية والتقيم الحسي كما تم تجفيد المنتوج ودراسة تأثير هذه العملية على بعض الصفات الفيزيائية والميكروبية له.

مواد البحث وطرائقه

تم الحصول على سلالات البكتريا المستخدمة في الدراسة من شركة CHR. Hansen الدانماركية مجفده وحاوية على ٣٠ ×١٠^{٩} c.f.u/ غم وهي متكونة من *Lactobacillus acidophilus* (Probio –Tec L5) و– *Bifidobacterium animalis* subsp.lactis (Probio Tec Bb-12)، أجريت الفحوصات التأكيدية المظهرية والكيموحيوية حسب ماجاء في Harrigan و Maccance (١٩٨٥) في إنتاج اللبن الصحي Bifilact وتم الحصول على الحليب الخام البقري من حقول كلية الزراعة والغابات-جامعة الموصل، تمت تصفيته بقطعة من الشاش وأضيفت له كل من النشا وسكر اللاكتوز بنسبة ١,٥٪. أجريت المعاملة الحرارية على ٨٥° م لمدة ١/٢ ساعة وتم التبريد إلى ٤٥°م . تمت عملية التلقيح بالبادئ المذكور بنسبة ٣% وخلطت لمدة دقيقتين تمت التعبئة في عبوات بلاستيكية وحضنت على ٤٢°م لحين التخثر ونقلت إلى الثلاجة لتبريدها على ٥°م وتم أجراء التحاليل والتقييم الحسي لها بعد التصنيع مباشرة وبعد أسبوع من الحفظ. واجري التقييم الحسي حسب الاستمارة الخاصة بتقويم اللبن حسب Kebary و Hussein(١٩٩٩) .وتم تقدير الحموضة بعملية التسحيح حسب الطريقة التي ذكرها Elmer (١٩٧٨) وثم تقدير الـ pH بجهاز الـ pH meter نوع PW9421 من شركة Philips.

وقدرت النسبة المئوية للدهن حسب طريقة كيربر ، ونسبة البروتين بطريقة كلداهل الموصوفة في (Ling، ١٩٦٣) . وقدرت أعداد بكتريا *L.acidophilus* بطريقة الأطباق المصبوبة باستعمال الوسط الغذائي MRS-salicin agar وحضنت الاطباق بالحاضنة اللاهوائية على ٣٧ْم لمدة ٤٨ ساعة وحسب ما جاء في Anonymous (١٩٩٥).اما أعداد *B.lactis* فقدرت بنفس الطريقة السابقة مع استخدام الوسط MRS-Mannose agar .

تم تجفيد اللبن بجهاز التجفيد Freeze –dryer من شركة – The Virits company gardinar N.Y.12525-USA.

بعد التجفيد قدرت الأعداد البكتيرية ودرست الصفات الفيزيائية للبن المجفد وخاصة تلك الصفات التي لها علاقة بالقدرة الاسترجاعية وشملت حجم الحبيبة الجافة بواسطة المجهر الضوئي وباستخدام شريحة Thoma والكثافة الحجمية بأنواعها المتاحة والتقريبية والانضغاطية حسب طريقة (Piseckly، ١٩٨٠) . واختبرت الصفات الكيميائية للحليب الخام المستخدم في أنتاج اللبن الصحي باستخدام جهاز Ekomilk .

النتائج والمناقشة

يوضح الجدول (١) الصفات الكيميائية للحليب الخام المستخدم في أنتاج اللبن الصحي باستخدام جهاز Ekomilk .

يتبين من الجدول (٢) إن البادئ المختلط المستخدم في إنتاج اللبن الصحي أعطى أعلى حموضة كلية (١,٢٪) مقابل قيمة الرقم الهيدروجيني ٣,٩ وبعد أسبوع من الخزن في الثلاجة استمر أنتاج الحموضة حيث بلغت ١,٥٪ وبقيمة ٣,٦٧ للرقم الهيدروجيني وكان البادئ المنفرد *B.lactis* يليه في أنتاج الحموضة ٠,٩٢٪ وبقيمة ٤,٢٦ للرقم الهيدروجيني . توضح النتائج حدوث زيادة في نسبة الحموضة بعد مدة أسبوع من الخزن المبرد في حالة البادئ المفرد والمختلط كما تبين من الجدول(٢)، وهذه النتيجة تتفق مع ما ذكره Kehagias وآخرون (٢٠٠٦) بأن حيوية *B.lactis* كانت جيدة والزيادة في الحموضة كانت أكثر وضوحا مقارنة مع *L.acidophilus* وان أنتاج الحموضة وانخفاض الرقم الهيدروجيني في البادئ المختلط كان أكثر وضوحا وهذا يرجع الى التآزر بين النوعين مما يسبب في ا زيادة النشاط الحيوي. يتبين من الأرقام المذكورة في الجدول (١) بأن نسب جميع المكونات جيدة ومقبولة لإنتاج اللبن الصحي .

الجدول (١) : الصفات الكيميائية للحليب الخام المستخدم في انتاج لبن Bifilact

المكون	النسبة المئوية
المواد الصلبة غير الدهنية	٩,١١
الدهن	٣,٢٦
البروتين	٣,٤٣
اللاكتوز	٥
الكثافة	١,٠٣١
الرقم الهيدروجيني	٦,٤٤
الماء المضاف	صفر

الجدول (٢) : الرقم الهيدروجيني والنسبة المئوية للحموضة في اللبن الصحي المصنع باستخدام أنواع مختلفة من البادئات

نوع البادئ	اللبن الطازج		اللبن المخزن لمدة أسبوع	
	الرقم الهيدروجيني	نسبة الحموضة %	الرقم الهيدروجيني	نسبة الحموضة %
L.acidophilus	٤,٥٩	٠,٥٢	٤,٥٦	٠,٧٨
B.lactis	٤,٢٦	٠,٩٢	٤.١٦	١,١٨
البادئ المختلط ١:١	٣,٩٠	١,٢٠	٣,٦٧	١,٥٠

يظهر من الجدول(٣) تأثير نوع البكتيريا على مكونات اللبن المنتج اذ تفوقت العينة المختلطة في نسبة الدهن ٣,١٢ % وكانت اقل نسبة حسابية له مع بكتريا *L.acidophilus*. وقد يعود السبب الى انتاج الحموضة وفقدان قسم من الدهن في الشرش او نتيجة لاستخدام الدهن كمصدر للكربون وهذا ما أكده Rybka و Railasapathy (١٩٩٧).اما نسبة البروتين فكانت عالية حسابياً في حالة الـ *L.acidophilus* حيث كانت ٣,٦٠% ويرجع السبب الى ان بكتريا *L.acidophilus* تمتاز ببطيء نموها واستهلاكها كميات أقل من البروتين وبذلك تكون نسبة البروتين عالية في اللبن المنتج وهذا يتفق مع ما ذكره Mahanna وGpnoc (١٩٨٨).

الجدول(٣): تأثير أنواع البكتريا على مكونات اللبن المختلفة

نوع البكتريا	النسبة المئوية			
	البروتين	الدهن	المواد الصلبة غير الدهنية	المواد الصلبة الكلية
B. lactis	٣,٥٧أ*	٢,٩٣ب	١٣,٥٤أ	١٦,٤٧أ
L.acidophilus	٣,٦٠أ	٢,٩١ب	١٣,٥٧أ	١٦,٤٨أ
البادئ المختلط (B+A)	٣,١٦ب	٣,١٢أ	١٢,٨١ب	١٥,٩٣ب

*الأحرف المتشابهة لا تواجد بينها فروقات معنوية والأحرف المختلفة هناك فروقات معنوية

بالنسبة للمواد الصلبة غير الدهنية والمواد الصلبة الكلية نجد ان لبن الـ *L.acidophilus* تفوق حسابياً على باقي العينات حيث كانت النسبة ١٣,٥٧ و ١٦,٤٨% على التوالي وهذا يتفق مع ما ذكره

(كامل ، ١٩٩٩) من ان سكر اللاكتوز هو أكثر المكونات تأثيرا" ويستهلك من قبل البكتريا، وهذه البكتريا تنتج حموضة ببطء ولكن اذا أعطيت لها الفرصة والوقت فإنها تستهلك السكر وتنتج كميات كبيرة من حامض اللاكتيك .

يتبين من الجدول (٤) ان أعداد بكتريا حامض اللاكتيك في اللبن الصحي Bifilact جميعها أعلى $١٠^{٦}$ c.f.u/مل وهذا يتفق مع ما اقرتة منظمة الصحة العالمية WHO ومنظمة الغذاء والزراعة الدولية FAO بان اعداد بكتريا Probiotic لاحداث الاثر الصحي المطلوب تتراوح بين $١٠^{٦}$-$١٠^{٩}$ c.f.u/غم (الخفاجي ، ٢٠٠٨) ويلاحظ من الجدول بان اللبن الصحي المحتوى على مزرعة مختلطة احتوى على اعلى الاعداد ٢٨ × $١٠^{٨}$ و ٦٣ × $١٠^{٨}$ c.f.u/مل من بكتريا *B.lactis* وبعد أسبوع من الخزن انخفضت الأعداد في جميع أنواع اللبن ولكنها حافظت على العدد المطلوب ضمن المواصفات المقررة وهذا ما أكده (عبد الله ، ٢٠١٠).

الجدول (٤) : أعداد بكتريا حامض اللاكتيك (c.f.u/مل) في اللبن الصحي

بكتريا البادئ	العدد c.f.u/مل بعد التصنيع مباشرة	العدد بعد أسبوع من الحفظ
L.acidophilus	$١٠^{٨}$ × ١٣	$١٠^{٧}$ × ١١
B.lactis البادئ المختلط	$١٠^{٨}$ × ٢٩	$١٠^{٧}$ × ٨١
L.acidophilus البادئ المختلط	$١٠^{٨}$ × ٢٨	$١٠^{٧}$ × ٣٦
B.lactis	$١٠^{٨}$ × ٦٣	$١٠^{٧}$ × ٨١

من الجدول (٥) نلاحظ ان اعداد بكتريا حامض اللاكتيك انخفضت بعد عملية التجفيد الى ٦٣ ×$١٠^{٦}$ و ٢٦ × $١٠^{٦}$ c.f.u/غم بالنسبة لـ *B.lactis* و *L.acidophilus* على التوالي. لكن هذه الأعداد بقيت ضمن المدى المطلوب ومن نفس الجدول (٥) بخصوص الخصائص الفيزيائية للبن المجفد نجد ان معامل الذوبان يساوي (٨) والذي يعتبر مقياس مباشر للبروتينات المدنترة وهذا يعتبر ضمن المواصفات القياسية الأمريكية (Caric، ١٩٩٤) . وان حجم حبيبات اللبن المجفد تتراوح بين ١,٥ – ٣ ملم وكلما زاد الحجم زادت قابليه ذوبان اللبن المجفد في الماء وبالنسبة للكثافة الحجمية اذ كانت ٤,٨ غم/مل وكانت الكثافة الحجمية المضغوطة ٣,٩ غم/مل للبن المجفد المصنع من بادئ مختلط ، أن الكثافة الحجمية دلالة على جودة عملية تجميع الجزيئات وهي من العوامل المحددة لإنتاج المساحيق ذاتية الانتشار وتتراوح الكثافة الحجمية التقريبية للمساحيق الجيدة من ٠,٤٥ - ٠,٥٥ غم/مل Piseckly(١٩٨٠) من ذلك تبين بان

الجدول(٥): المحتوى المايكروبي وبعض الصفات الفيزيائية للبن المجفد المصنع من البادئ المختلط

اعداد البكتريا	العدد cfu/غم	حجم الحبيبات(ملم)	الكثافة الحجمية (غم/مل)			معامل الذوبان (ملم)
			المتاحة	التقريبية	المضغوطة	
B.lactis	$١٠^{٦}$ ×٦٣	١,٥ – ٣	٥,٣	٤,٨	٣,٩	٨
L.acidophilus	$١٠^{٦}$ × ٢٦					

الكثافة الحجمية للبن المجفد تقع في المدة المقبولة من ناحية الخواص الفيزيائية ذات العلاقة بالخواص الاسترجاعية المهمة للمستهلك ، وبالنسبة للكثافة الحجمية بأشكالها تدل على جودة عملية تجميع

الجزيئات . ويمكن الاستنتاج من الأرقام أعلاه بأنه يمكن تجفيد هذا اللبن واستخدامه بأشكال مختلفة ومنها وضعه داخل كبسولة او على شكل حبوب للاستفادة منه كمنتوج علاجي.

الجدول (٦) : الصفات الحسية للبن الصحي

الصفة والدرجة	الطازج (بعد التصنيع مباشرة)			بعد أسبوع من الحفظ		
	لبن *L.acidophilus*	لبن Bifido.	لبن مختلط	لبن *L.acidophilus*	لبن Bifido.	لبن مختلط
النكهة ٤٥	٤٠	٤٢	٤٠	٣٧	٤١	٤٠
النسجة والقوام ٣٠	٢٧	٢٨	٢٧	٢٣	٢٨	٢٦
المظهر١٥	١٣	١٥	١٣	١٠	١٤	١٢
اللون ١٠	١٠	٩	١٠	٨	٩	١٠
المجموع ١٠٠	٩٠	٩٤	٩٠	٧٨	٨٢	٨٨

يتبين من الجدول (٦) ان اللبن الطازج المستخدم فيه الـ Bifido كان أكثر قبولا من النوعين الآخرين بعد التصنيع مباشرة حيث بلغ مجموع درجاته ٩٤ من مائة ، بينما نجد النوع الثاني الحاوي على البادئ المختلط قد حصل على أعلى درجة تقييم ٨٨ بعد اسبوع من الحفظ. وأعلى درجة للنكهة أعطيت للبن المصنع من .Bifido ونفس السياق جرى مع النسجة والقوام او المظهر أيضا". اما من ناحية اللون فبقي النموذج المصنع من البادئ المختلط محافظ" على درجة التقييم العليا وهي ١٠ سواء بعد التصنيع مباشرة او بعد الحفظ لمدة أسبوع . مما يدل على ان هذا اللبن العلاجي يمكن استهلاكه بعد مضي أسبوع على الأقل دون ان يطرأ عليه أي تغيير من النواحي الميكروبية والحسية .

PRODUCTION OF PROBIOTIC YOGHURT (BIFILACT) BY USING SOME SPECIES OF LACTIC ACID BACTERIA

M.Y. Ali H.S. Mohammed
Food Sci. Dept ., Collage of Agric . and Forestry , Mosul Univ., Iraq.

ABSTRACT

Probiotic lactic acid bacteria was used in manufacturing yoghurt from fortified whole milk. The product was stored under refrigeration for one week. The results showed that yoghurt manufacturing by using single or mixed strain bacteria was acceptable concerning acidity percent as it was 0.52 , 0.92 and 1.20 % using *L.acidophilus* , *B.lactis* and mixed culture , respectively for the fresh yoghurt. Total solid percentages of the fresh yoghurt were 16.47 , 16.48 and 15.93% for the three mentioned culture , respectively. Counts of Bifidobacteria in single strain starter and in mixed starter were higher followed by *L.acidophilus* in mixed starter, while counts were lowest in *L.acidophilusin* in single strain starter one week after storage counting were 81×10^7 , 81×10^7 , 36×10^7 and 11×10^7 c.f.u/ml. respectively, and these counts were within the acceptable ones of WHO and FAO values. Sensory evaluation showed that the product was acceptable for at least one week storage without any microbial or sensory changes which indicated that it can be used as a therapeutic product.

Physical properties of the freeze dryed product were also studied and the results showed the ability for reconstruction and using it in capsule formulation.

المصادر

الخفاجي ، زهرة محمود (٢٠٠٨) الأحياء العلاجية من اجل الحياة- دار الكتب والوثائق بغداد . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، بغداد – العراق

كامل ، عالية شفيق (١٩٩٩) . تأثير التبريد والبسترة والتجميد والتركيز في صفات اللبن وحفظه . رسالة ماجستير – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل.

عبد الله ، خزعل شعبان (٢٠١٠) تأثير عمليات التبريد والتجميد والتجفيد على بكتريا حامض اللاكتيك العلاجية المستخدمة في أنتاج اللبن العلاجي باستخدام بعض المثبتات. أطروحة دكتوراه – كلية الزراعة والغابات – جامعة الموصل.

Abd-Elsalam,B.A.,Nagwa,I;Sultan.E,O.Fayed and M.A, Zedan(2004). Invitro studies on probiotic criteria of Lactobacilli.Egy. J. Dairy Sci. 32:17-29.

Anonymous (1995) . International Dairy Federation. Fermented and Non Fermented Milk Products Detection and Enumeration of *Lactobacillus acidophilus* culture media ,306.

Corbo, M.R.,M.Albenzio, M. De Augelis , A. Sevi and M.Gobbetti (2001) . Microbiological and biochemical properties of conestrato pagliese hard cheese supplemented with bifidobacteria . J. Dairy Sci. 84:551-561.

Caric, M.(1994). Concentrated and Dried Dairy Products . VCH. Cambridge ,UK.

Elmer ,H.M.(1978).Standard Methods For The Examination Of Dairy Products. Interdisciplinary Books and Periodicals For The Professional and Layman.

Fuller,R.(1989).Prebiotic in man and animal .J.Appl. Bacterial . 66:365:378.

Harrigan,W.F. and M.E.McCance (1976).Laboratory Method In Food and Dairy Microbiology . Academic Press. London. Newyork. San_fancisco.

Kebary, K.M.and S.Hussein (1999).Manufacture of lowfat Zabady using different fat substitute , Acta.Alimentara 28:1-14.

Kehagias . C.(2006) .Viability and biochemical activity of *Bifidobacteria* in association with yoghurt starter cultures in bifidus milk and bioyoghurt during storage at 4°c.Egypt .J.Dairy Sci. 34:51-58.

Ling ,E.R.(1963).A Textbook of Dairy chemistry Vol. 2 Chapman and Hall , Ltd . London.

Mahan , L.K.(2008).Kruses Food and Nutrition Saunder Elsevier Book Aid.12th .ed. Sylvia Escott- Stump pp.215-217.

Mahanna , N.M.and S.Gpnoc .C.(1988).Manufacture of yoghurt from milk fortified with whey powder . Egypt .J.Dairy Sci.16:239-248.

Piseckly , J.(1980).Bulk density of milk powders the Australian J. of Dairy tech. 106.

Rybka, R.,G.Kailasapathy (1997).Effect of freeze drying and storage on the microbiological and Physical properties of AB-Yoghurt . Mikhwissenchaft. 52:390:394.

Sullivan, A. and C.E.Nord(2005). Probiotics and gastrointestinal diseases .J.Lutern .Med.1:78-92.