مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، العدد (خاص) ، المجلد 21 ، 2008

التقيم الميكروبي للقشدة المنتجة باستخدام عزلات محلية من بكتريا *Lactobacillus acidophilus*

أبراهيم احمد محمود علاء كريم نعيمة الخزاعي •

قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية/ كلية الزراعة /جامعة البصرة

الخلاصة

حضر بادئ علاجي بخلط بكتريا *Lactobacillus acidophilus* المنتخبة وبكتريا *Bifidobacterium bifidum* وبكتريا *Streptococcus thermophilus* بنسب (1:1:1) واستخدام بادئ قياسي في عملية تصنيع القشدة المتخمرة، قدر العدد الكلي للبكتريا وعد بكتريا حامض اللاكتيك وعد بكتريا القولون وعد البكتريا العلاجية ثم خزنت العينات لمدة 14 يوم وبعدها تم تقدير عدد بكتريا القولون والبكتريا العلاجية .اتضح من النتائج تحسن الصفات المايكروبية بعد اضافة البادئ و كانت اعداد بكتريا حامض اللاكتيك في المعاملة التي استخدم فيها بادئ علاجي اعلى من المعاملة التي استخدم فيها بادئ قياسي. فقد بلغ عند نسبة دهن 18% (10^8×5.3) (وحدة تكوين مستعمرة /غم) و (10^8 ×1.3) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ القياسي وفي نسبة دهن 30% فقد كانت اعداد البكتريا حامض اللاكتيك (10^8×2.6) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي و (10^7×7.3) (وحدة تكوين مستعمرة /غم) للبادئ القياسي وقد حصل انخفاض في اعداد بكتريا القولون بعد الخزن ووصل اعدادها الى 10^1×1 (وحدة تكوين مستعمرة/غم) وانخفضت اعداد بكتريا *Lactobacillus acidophilus* لتصل الى (10^1×8.6) (وحدة تكوين مستعمرة) وبقيت *Bifidobacterium bifidum* محافظة على اعدادها بعد الخزن .

الكلمات المفتاحية: القشدة المتخمرة العلاجية، *Lactobacillus acidophilus*

• بحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الثاني

المقدمة

تعد القشدة المتخمرة من منتوجات الألبان المتخمرة التي انتشر استهلاكها في الآونة الأخيرة وهي ذات قيمة غذائية عالية وسهلة الهضم مقارنة بغيرها من الأغذية المتخمرة (15).

وتعد الالبان الحاوية على اجناس من بكتريا Bifidobacteria و Lactobacilli مصدر مهم لاستهلاك العلاجي Probiotic لتأثيرها الإيجابي في بيئة الامعاء، حيث تعمل على زيادة المقاومة للأمراض المعوية، خفض ضغط الدم، تحفيز الالتهام من قبل كريات الدم البيضاء، خفض نسبة الكولسترول، تقليل حالات الإسهال، المساعدة في جعل الدواء اكثر فعالية، المساعدة في انحسار الاورام الخبيثة والعوامل المساعدة على انتاج المواد المسرطنة كما ان استهلاك المنتجات المتخمرة يقلل من اعراض حالة عدم تحمل سكر اللاكتوز (16) .

كما وجد ان استهلاك بكتريا *Lb. acidophilus* في منتجات الحليب المتخمر هي الطريقة المثلى للحفاظ على التوازن المايكروبي للامعاء مع تثبيط البكتريا المرضية *Staphylococcus. aureus* ، *E. coli* ، *B. cereus* ، *Bacillus subtilis* لذلك تعد اضافة البادئات وخاصةً البادئات العلاجية من الامور المهمة لحماية الغذاء من البكتريا المرضية وزيادة مدة خزنه عن طريق تثبيط التغيرات غير المرغوبة اما بفعل الكائنات المجهرية الحية المسببة للتلف او التفاعلات الحيوية وايضا مساهمتها في زيادة القيمة الغذائية عن طريق التحوير في المواد الخام واظهار خواص حسية جديدة مؤدية الحصول على منتجات جديدة وجيدة، وكذلك تحسين الصحة من خلال تأثيرها الايجابي في المحافظة على التوازن المايكروبي في الامعاء (11) .

وتعد القشدة المتخمرة منتوجاً دهنياً متخمراً سهل الهضم لان بكتريا حامض اللاكتيك تمتلك نظاماً معقداً من الانزيمات المحللة للبروتين والدهن (6) .

ونظراً لاهمية القشدة المتخمرة من الناحية الغذائية والاقبال الكثير من المستهلكين عليها فقد هدفت هذه الدراسة لتقييم هذا المنتوج من الناحيةالميكروبية.

المواد وطرائق العمل

❖ تحضير البادئات:

تم الحصول على البادئ القياسي من كلية الزراعة ــ جامعة بغداد وهو يتكون من
Lactococcus lactis sub sp. *Lactis* , *Lactococcus lactis* sub sp. *cremoris*
Lactococcus lactis sub sp. *lactis* biovar *diacetylactis*
اما بكتريا البادئ العلاجي *Bifidobacterium bifidum* و *Streptococcus thermophilus*
فقد تم الحصول عليها من مختبر (Ch. Hansen) بالدنمارك بالاضافة الى العزلة المحلية لبكتريا *Lactobacillus acidophilus* .

❖ اخذ العينات:

تتلخص الطريقة بأخذ (11) غم من القشدة المتخمرة واضافة اليها (99)مل محلول تخفيف ماء الببتون يحتوي على (0.1%) ببتون ومزجت العينة جيداً ومن ثم اجراء التخافيف العشرية (4) .

❖ تقدير العدد الكلي للبكتريا Total bacterial count

تم تقدير العدد الكلي للبكتريا بطريقة صب الاطباق وحسب (3) .

❖ تقدير العدد الكلي لبكتريا القولون Total coliform bacteria

تم تقدير العدد الكلي لبكتريا القولون كما ورد في (3) .

❖ تقدير العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك Total Lactic acid bacteria

تم تقدير العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك بأخذ (1) مل من التخافيف العشرية ووضعها في اطباق بتري معقمة واضافة وسط MRS agar وتحريكه بهدوء وتركه ليتصلب ثم حضن الاطباق على درجة حرارة (37)مْ لمدة (48) ساعة (3) .

❖ تقدير بكتريا *Lb. acidophilus*

تم تقدير *Lb. acidophilus* على وسط MRS-bile salt (المتكون من M.R.S. و1.5 % أملاح الصفراء) بأخذ (1) مل من التخافيف العشرية ووضعها بطبق بتري معقم وصب عليه الوسط والحضن بدرجة (37)مْ ولمدة (24 – 48) ساعة في ظروف لا هوائية لمنع نمو *B. bifidum* (10) .

❖ تقدير بكتريا *B. bifidum*

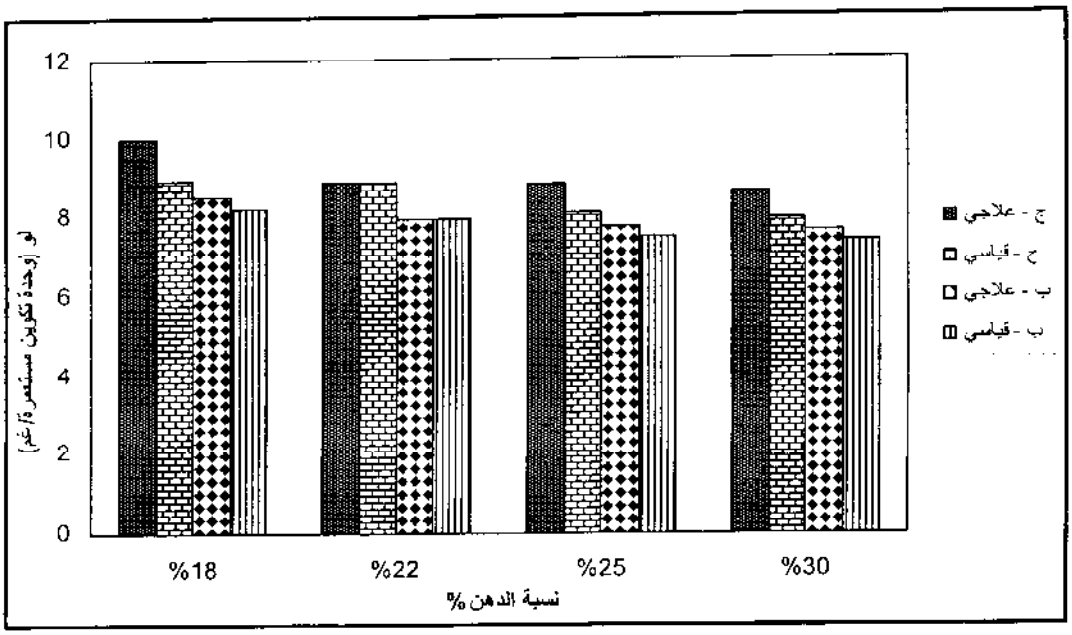
تم تقدير بكتريا *B. bifidum* بأخذ (1) مل من التخافيف الى طبق بتري معقم واضافة اليها وسط MRS – maltose والحضن في درجة (37)مْ لمدة (24 – 48) ساعة في ظروف لاهوائية (5) .

❖ خزنت عينات من القشدة المتخمرة لمدة 14يوم وحسبت اعداد بكتريا القولون،البكتريا العلاجية.

النتائج والمناقشة

❖ العدد الكلي للبكتريا:

يلاحظ من الشكل (1) ان هنالك انخفاضاً بسيطاً في العدد الكلي للبكتريا بزيادة نسبة الدهن فعند نسبة 18% كان العدد الكلي للبكتريا في القشدة المصنعة من حليب جاموس (92×10^{8} ، 8.3×10^{8})(وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي والقياسي على التوالي بينما كان العدد الكلي للبكتريا في القشدة المصنعة من حليب البقر عند نفس نسبة الدهن (3.3×10^{8} ، 1.6×10^{8})(وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي والقياسي بينما كان العدد الكلي للبكتريا عند نسبة دهن 30% للقشدة المصنعة من حليب جاموس (4.3×10^{8}، 9×10^{7}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي والقياسي على التوالي .
اما في القشدة المصنعة من حليب بقر كان (4.6×1^{7}، 2.6×10^{7})(وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي والقياسي على التوالي عند نفس نسبة الدهن وسبب هذا يرجع الى زيادة نسبة الدهن على باقي المكونات الاخرى وهذا يتفق مع ما ذكره (1) حيث ذكر ان أعداد البكتريا الموجودة في الالبان المتخمرة تزداد بزيادة المواد الصلبة الكلية غير الدهنية.

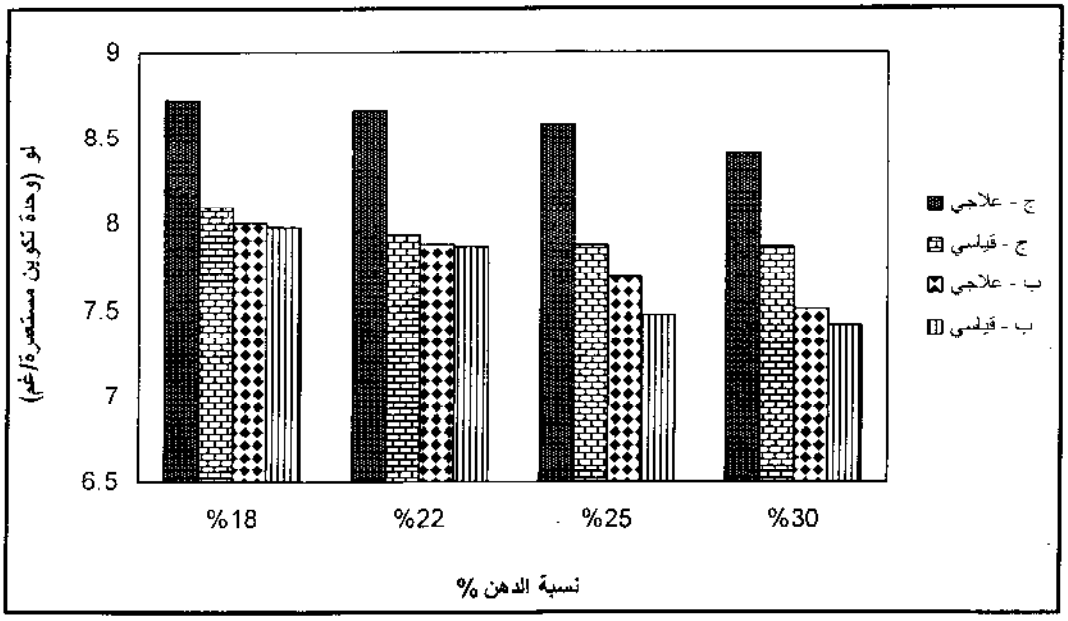


الشكل(1) لوغاريتم العدد الكلي للبكتريا في القشدة المتخمرة بعد الانتهاء من عملية التخمير

❖ العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك:

يتبين من الشكل (2) ان العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك أنخفضت بالزيادة التدريجية بنسبة الدهن في المنتوج فلقد بلغت في نسبة دهن 18% للقشدة المصنعة من حليب جاموس (5.3×10

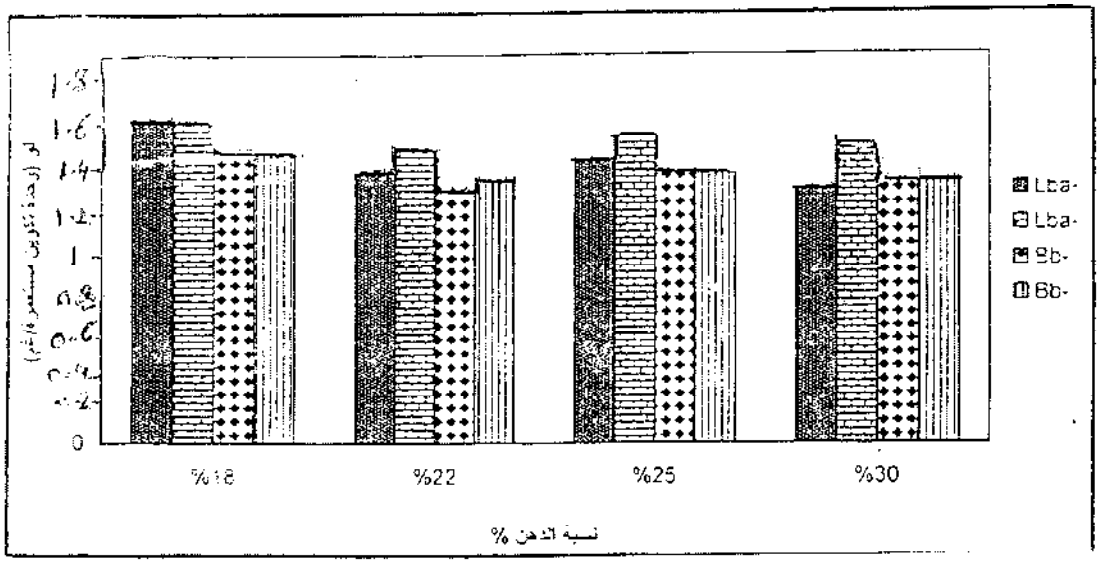
10^{8} ، $10^{8}\times1.3$) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ القياسي والعلاجي على التوالي اما في القشدة المصنعة من حليب بقر فقد كان ($10^{8}\times1$ ، $10^{7}\times9.6$) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ القياسي والعلاجي اما عند نسبة دهن 30% فقد بلغ العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك في القشدة المصنعة من حليب جاموس ($10^{8}\times2.6$ ، $10^{7}\times7.3$)(وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي والقياسي على التوالي . اما في القشدة المصنعة من حليب البقر كان العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك في نسبة دهن 30% ($10^{7}\times3.3$ ، $10^{7}\times2.6$)(وحدة تكوين مستعمرة/غم) ربما يرجع سبب ذلك الى ان زيادة الدهن سيكون عامل غير مشجع لنمو البكتريا (12) كما يوضح الشكل (2) حصول زيادة في العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك في القشدة المصنعة من حليب جاموس مقارنة بالقشدة المصنعة من حليب بقر وقد يعود السبب الى زيادة المواد الصلبة وبعض المغذيات في القشدة المصنعة من حليب الجاموس وهذا يتفق مع ما ذكره (8) .حيث أشاروا الى ان حليب الجاموس أفضل من حليب البقر لتنمية البادئ المختلط وبكتريا حامض اللاكتيك . والنتائج المذكورة عن أعداد بكتريا حامض اللاكتيك لا تتفق مع ما ذكره(9) اذ ذكر ان العدد الكلي للبكتريا في الاغذية المتخمرة يتراوح بين (10^{6} -$10^{3}\times5$) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) ومن ضمنها خلايا بكتريا البادئ المستخدم في عملية التخمير.



الشكل(2) لوغاريتم العدد الكلي لبكتريا حامض اللاكتيك في القشدة المتخمرة بعد الانتهاء من عملية التخمير

❖ العدد الكلي لبكتريا القولون:

يلاحظ من الشكل (3) حدوث أنخفاض بسيط جداً في العدد الكلي لبكتريا القولون بزيادة نسبة الدهن فكان عدد بكتريا القولون عند نسبة دهن 18% (4×10^{1}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للقشدة المصنعة من حليب جاموس ، (3×10^{1}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للقشدة المصنعة من حليب البقر وانخفضت لتصل عند نسبة دهن 30% (2×10^{1} ، 3×10^{1}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم)للبادئ العلاجي والقياسي في القشدة المصنعة من حليب جاموس(2×10^{1}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للقشدة المصنعة من حليب بقر ولكلا البادئين وكانت جميع المعاملات لم تتجاوز الحدود المايكروبية للمواصفات القياسية العراقية المقررة والتي يجب ان لا تزيد عن (10^{2}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم). وقد يرجع سبب أنخفاض أعداد البكتريا الى قلة الرطوبة وزيادة الدهن وارتفاع الحموضة بالاضافة الى قلة المواد الصلبة غير الدهنية.



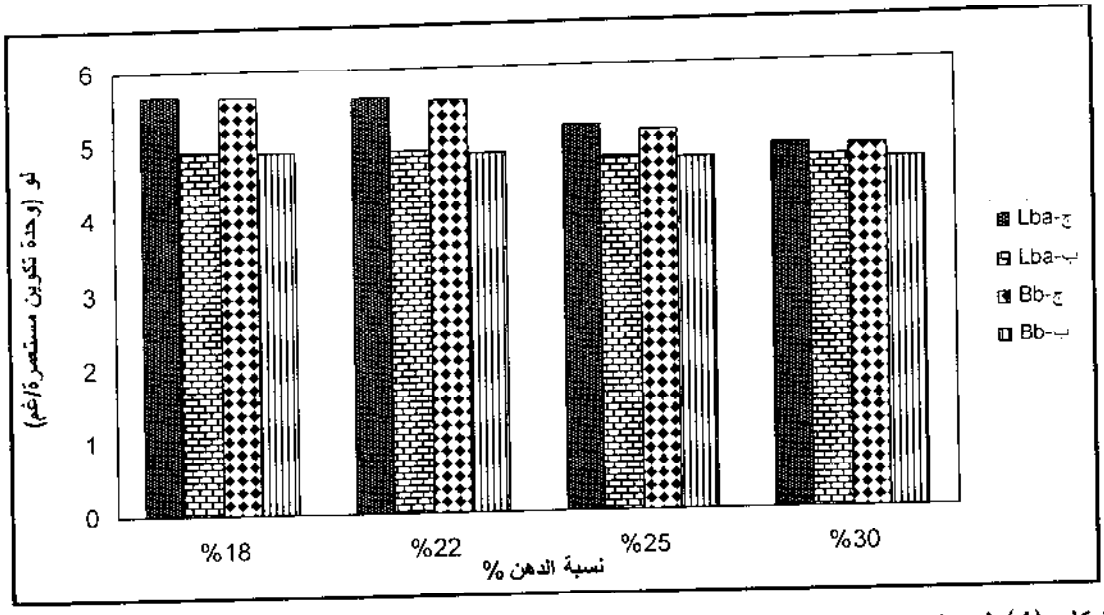
الشكل (3) لوغاريتم اعداد بكتريا القولون في القشدة المتخمرة بعد الانتهاء من عملية التخمر.

❖ عد البكتريا العلاجية:

يوضح الشكل (4) نمو البكتريا العلاجية وتبين ان أعداد البكتريا العلاجية أنخفضت بشكل بسيط بزيادة نسبة الدهن في كلا النوعين من القشدة فقد بلغت أعداد البكتريا *Lb. acidophilus* عند نسبة دهن 18% (5×10^{5}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) في منتوج القشدة المتخمرة المصنعة من حليب جاموس وفي القشدة المصنعة من حليب بقر(8.6×10^{4}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) .بينما كانت أعداد *B. bifidum* (4.6×10^{5} ، 8×10^{4}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) . في القشدة المصنعة من حليب جاموس وبقر على التوالي .

بينما بلغت أعداد *Lb. acidophilus* عند نسبة دهن 30% (8.3×10^{4} ، 5.6×10^{4}) (وحدة

تكوين مستعمرة/غم) للقشدة المصنعة من حليب جاموس وبقر بينما كان أعداد *B. bifidum* عند نفس النسبة من الدهن (7.6×10^{4} ، 5×10^{4})(وحدة تكوين مستعمرة/غم) للقشدة المصنعة من حليب جاموس وبقر على التوالي. وقد يعود السبب في ذلك الى قلة العناصر الغذائية الاساسية وزيادة نسبة الدهن . كذلك يبين الشكل (4) النمو لبكتريا *Lb. acidophilus* و *B. bifidum* في القشدة المتخمرة من حليب الجاموس أكثر من النمو في القشدة المتخمرة من حليب البقر وهذا يتفق مع ما ذكره (14) حيث أشاروا الى نمو بكتريا حامض اللاكتيك بصورة كبيرة في القشدة المصنعة من حليب الجاموس.



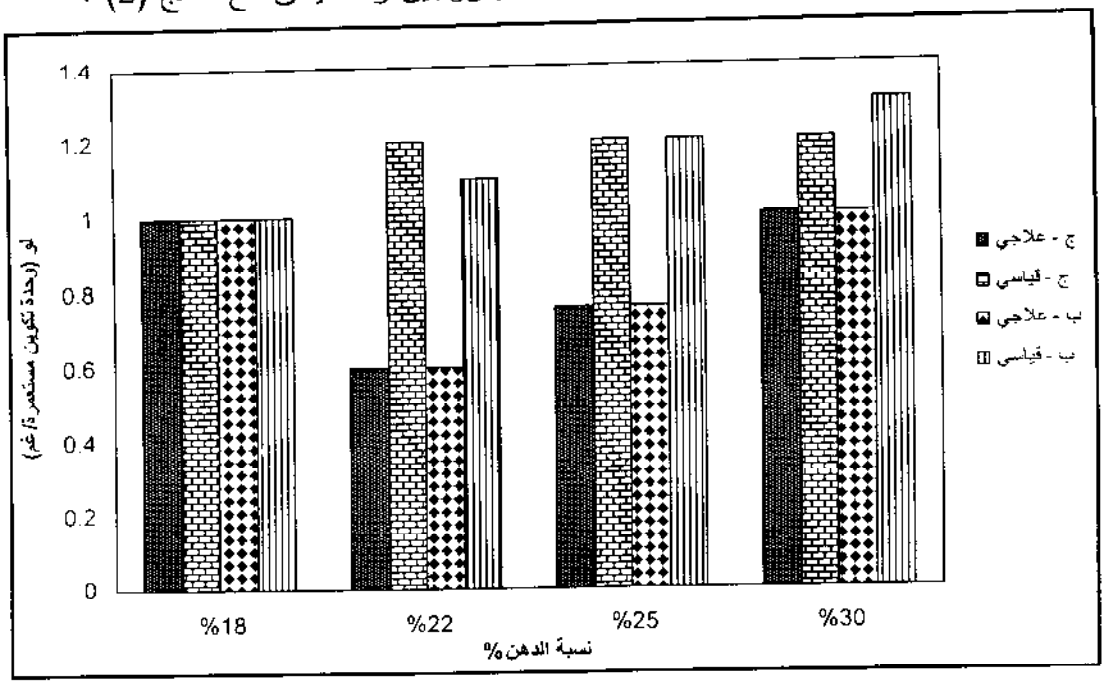
الشكل (4) لوغاريتم اعداد البكتريا العلاجية في القشدة المتخمرة بعد الانتهاء من عملية التخمير.

❖ أعداد بكتريا القولون بعد الخزن:

يلاحظ من الشكل (5) انخفاض في أعداد بكتريا القولون كما وجد بعد عملية التخمير حيث وصلت أعداد بكتريا القولون (1×10^{1}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) في القشدة المصنعة من حليب الجاموس والبقر وللبادئين القياسي والعلاجي عند نسبة دهن 18% وعند نسبة 30% بلغت أعداد بكتريا القولون في القشدة المصنعة من حليب جاموس (1×10^{1} ، 1.6×10^{1}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي والقياسي . اما في القشدة المصنعة من حليب بقر فكان عدد بكتريا القولون (1×10^{1} ، 2×10^{1}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للبادئ العلاجي والقياسي .

ويعزى السبب في هذا التأثير التثبيطي لبكتريا *Lb. acidophilus* حيث تنتج العديد من

المركبات المثبطة للبكتريا بالإضافة الى إن بكتريا *B. bifidum* تنتج حامض الخليك ذو التأثير التثبيطي مقارنة بالحوامض الاخرى (13) .ولقابلية البكتريا العلاجية على أنتاج مواد مثبطة بالاضافة للحموضة مثل البكتريوسين وبيروكسيد الهيدروجين وهذا يتفق مع نتائج (2) .

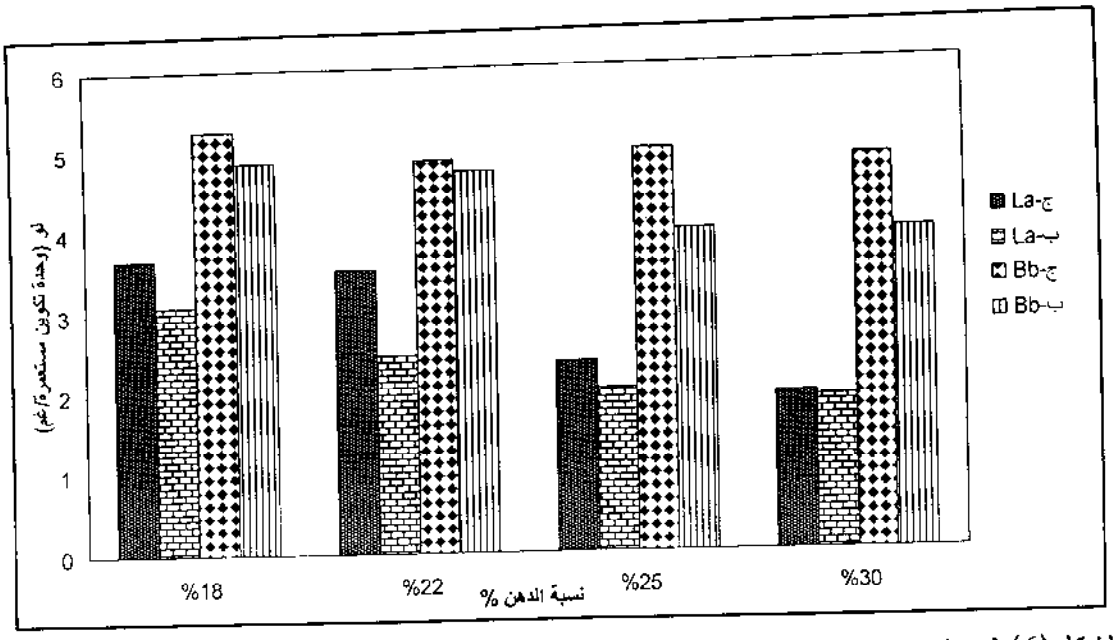


الشكل(5) لوغاريتم اعداد بكتريا القولون للقشدة المتخمرة بعد عملية الخزن

❖ أعداد البكتريا العلاجية بعد الخزن:

يبين الشكل (6) حصول أنخفاض في أعداد بكتريا *Lb. acidophilus* ويزداد الانخفاض بزيادة نسبة الدهن حيث بلغت أعداد هذه البكتريا في نسبة دهن 18% (10×4.6^{3} ، 10×1.3^{3}) (وحدة تكوين مستعمرة/غم) للقشدة المصنعة من حليب جاموس وبقر على التوالي.بينما بلغت أعدادها في نسبة دهن 30% (10×8.6^{1} ، 10×7.6^{1}) للقشدة المصنعة من حليب جاموس وبقر على التوالي.

ولم يظهر تأثير واضح لفترة الخزن على بكتريا *B. bifidum* حيث بقيت محافظة على اعدادها في جميع نسب الدهن ولم تتأثر بشكل واضح وقد يرجع السبب لتأثر بكتريا *Lb. acidophilus* بشكل كبير بالحموضة وانخفاض الأس الهيدروجيني وهذا يتفق مع ما ذكره (13 ; 10) حيث اشاروا الى ان سبب انخفاض في اعداد بكتريا *Lb. acidophilus* عند تواجدها مع بكتريا اخرى من بكتريا حامض اللاكتيك وعند الخزن بدرجة حرارة 5مْ ولمدة 21 يوم يعزى الى الحوضة وبيروكسيد الهيدروجين .



الشكل(6) لوغاريتم اعداد البكتريا العلاجية في القشدة المتخمرة بعد عملية الخزن

المصادر

1. الدباغ، وائل ياسين (1979) إنتاج وحفظ البادئات ، رسالة ماجستير . كلية الزراعة والغابات.جامعة الموصل.
2. الدروش، عامر خلف والشمري ، الهام إسماعيل (2000) تصنيع بعض منتجات الألبان العلاجية . مجلة البحوث الزراعية العربية 4 (2)333 -347.
3. America Public Health Association (1978) Standard Method of the Examination of Dairy Products.14th ed., A.P.H.A Inc Washington. D.C., U.S.A .
4. Arihara, K.; Ota, H.; Itoh, M.; Kondo, Y.; Sameshima T.; Yamanaka, H.; Akimoto, M.; Kanai, S. and Miki, T. (1998) *Lactobacillus acidophilus* group Lactic acid Bacteria Applied to Meat Fermentation .J. Food Sci. 63 (3): 544 – 547.
5. Dave, R.I. and Shah, N.P. (1996) Evalution of Media for Selective Enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii sp bulgaricus*, *Lb. acidophilus* and Bifidobacteria .J. Dairy Sci..79:9.
6. Demasi, T.W.; Wardlow, F.O.; Dick, R.L. and Acton , J.C. (1990) Lactic Acid Bacteria In Food: Use and Safety.J. Cahiers Agricultures,5(5):331–342.
7. Hgnicioglu, O. and Krapinar, M(1997) Microflora Of Boza. Atraditional Fermented Turkish Beverage Int. J. Food Microbiol 35:

271 – 274 .

8. Khanna, A. and Singh, J. (1978) Short Communication, A Comparison of Yoghurt Starter in Cow's and Buffalo Milk. **J**. Dairy Resh. 46: 681-688.

9. Kosikowski,F.(1970) Cheese and Fermented Milk Foods, Cornell University I Thecae, New York.

10. Lankaputhra, W.E.V. and Shah, N.P. (1995) Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* sp. In The Presence of Bile Acid Salt. **J**. Cultured Dairy Prod.30(3) :446-451.

11. Lucke, F.K. (2000) Utilization of Microbes to Process and Preserve Meat. **J**. Meat Sci. 56: 105 – 115.

12. Robinson, R.K. (1981) Dairy Microbiology Vol.2 Elsevier Applied Science Publishers. London U. K.

13. Robinson, R.K. (1991) Therapeutic Properties Of Formented Milk Elsevies Applied Scienc London & New York.

14. Singh, B. Khanna, A. and Chander, H. (1999) Effect of Incubation Temperature and Heat Treatment Of Sour Cream From Milk of Cow and Buffalo on Acid and Flavor Production By *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. **J**. Food Prot. 43: 399 – 403.

15. Speck, M.L. (1984) Compendium of Methods For Microbiological Examination of Foods. 2nd ed., American Public Health Association Inc, Washington D.C. U.S.A. P. 222 – 230.

16. Tannok, G.W. (1999) Identification of Lactobacilli and Bifidobacteria Iniprobiotics: Acritical Review Edited By. Tannok, G.W.

Basrah J. Agric.Sci.,21 (Special issue) 2008

MICROBIAL ASSESSMENT OF CREAM MANUFACTURING BY LOCAL STRAINS OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

Ibrahim A.Mahmood **Alaa K.N. Al-Kzaae**

Department of Food Science and Biotechnology-College of Agriculture-University of Basra-Iraq.

SUMMARY

Probiotic starter was prepared by mixing *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* at ratio (1:1:1),. Probiotic and standard starters were used in fermented cream manufacturing. Microbiological tests: total count bacteria, coliform bacteria , lactic acid bacteria and probiotic bacteria counts.Then samples were stored for 14 days after that, total content of coliform bacteria and probiotic bacteria were estimated.

The results showed Improving microbioal characteristic after addition of starter , the number of lactic acid bacteria increases in treatment that used in it probiotic starter, higher than treatment that used in it standard starter. The number of coliform bacteria decreases after storage. *Lactobacillus acidophilus* bacteria numbers decreases. The number of *Bifidobacterium bifidum* bacteria conserves its level after storage

Key word: Sour cream probiotic, *Lactobacillus acidophilus*