مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد (18) العدد (1) – (2018)
ISSN-1813-1646

تقييم فعالية الخلايا الحية لبعض انواع المعززات الحيوية في خفض مستويات دهون الدم في الاوساط الزرعية المختبرية

نغم نورالدين صعب العبيدي[1]* وامين سليمان بدوي* وعامر عبد الرحمن الشيخ ظاهر**

*جامعة تكريت/كلية الزراعة قسم/علوم الاغذية **جامعة بغداد/كلية الزراعة/ قسم علوم الاغذية

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة الى تقييم فعالية الخلايا الحية لانواع من المعززات الحيوية وهي *Bifidus actiregularis* و*Lactobacillus rhamnosus GG* و *Lactobacillus acidophilus* و *Lactobacillus plantarum* و*Lactobacillus reuteri* و*Lactobacillus casei* وخميرة *Saccharomyces boulardii* في مستويات الكولسترول، الكليسريدات الثلاثية، البروتين الدهني واطئ الكثافة (LDL)، البروتين الدهني عالي الكثافة (HDL)، والبروتين الدهني واطئ الكثافة جدا (VLDL)، على الاوساط الزرعية المحورة.

نشطت المعززات الحيوية المستعملة وحضرت الخلايا ولقح الوسط السائل المحور de Man, Rogosa and Sharpe-Plasma بالمعززات الحيوية البكتيرية ولقح الوسط Potato dextrose agar-Plasma بالخميرة *Saccharomycis boulardii* وحضنت لمدة 24-48 ساعة، اظهرت النتائج انخفاضا في النسبة المئوية للكولسترول، الكليسريدات الثلاثية، LDL وVLDL وارتفاعا في نسبة HDL . بلغت النسبة المئوية لتخفيض الكولسترول لمعاملات أنواع البكتريا *Lb. acidophilus*، *Lb. casei*، *Lb. plantarum*، *Lb. returii*، *Lb. rhmanosus* و *Bifidus actiregularis* وخميرة *Sacch.boulardii* (25.00، 27.93، 11.77، 13.23، 17.65، 5.88 و5.97) على التوالي في مدة الحضن 24 ساعة، فيما بلغت خلال مدة الحضن 48 ساعة (29.41، 30.88، 14.70، 19.11، 22.06، 10.29 و7.45) على التوالي، واظهرت الخلايا الحية لبكتريا *Lb. acidophilus, Lb. casei* افضلية في خفض نسب T.G خلال مدة الحضن 24 و48 ساعة اذ بلغت نسب التخفيض هذه (28.16 و25.35) و(30.99 و29.57) على التوالي، بينما أظهرت بكتريا *Bifidus actiregularis*اقل نسب تخفيض اذ بلغت (5.63 و9.86) خلال مدتي الحضن 24 و48 ساعة على التوالي، تفوقت خلايا بكتريا *Lb. acidophilus* الحية في زيادة نسبة مستوى HDL وبلغت نسبته (40.43) % خلال مدة الحضن 24 ساعة وعند اطالة مدة الحضن الى 48 اظهرت بكتريا *Lb. casei* افضلية في زيادة نسبة HDL اذ بلغت النسبة (55.33). كما لوحظ تفوق الخلايا الحية لبكتريا *Lb. casei* و*Lb. acidophilus* في خفض نسب LDL وVLDL خلال مدتي الحضن 24 و48 ساعة، فيما اظهرت بكتريا *Lb.plantarum* الحية اقل نسبة في تخفيض LDL (11.85%) خلال مدة الحضن 24 ساعة. وأظهرت النتائج افضلية الخلايا الحية لبكتريا *Lb. casei* في خفض مستوى الكولسترول، الكليسريدات الثلاثية، LDL وVLDL وارتفاعا معنوياً في نسبة HDL مقارنة مع باقي المعززات الحيوية المستعملة.

الكلمات المفتاحية:
المعززات الحيوية، الكولسترول، الكليسريدات الثلاثية، البروتين الدهني واطئ الكثافة، البروتين الدهني واطئ الكثافة جدا، البروتين الدهني عالي الكثافة.

للمراسلة:
نغم نورالدين صعب العبيدي
البريد الالكتروني:
Nononagham73@yahoo.com

الاستلام: 29/ 9 / 2016
القبول: 2 / 4 / 2017

Evaluation of some Live Probiotic Cells for Decreasing of Blood Lipids Levels in Laboratory Culture Media

Nagham N. Alaobady* , Amin S. Badawy* and Ammer A.Alshak Dhaher**
*Tikrit Univ.- College of Agric. Food sci. Dept. ** Baghdad Univ. College of Agric. Food Sci. Dept.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effectiveness of live cells of some Probiotic species which includes *Bifidus actiregularis*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*,

key words:
Probiotics, Cholesterol, Triglycerids, Low Density Lipoproteins, Very Low

[1] البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

Density Lipoproteins high-density Lipoprotein.

Corresponding Author:
Nagham N. Alaobady

E-mail:
Nononagham73@yahoo.com

Received: 29/9/2016

Accepted: 2/4/2017

Lactobacillus reuteri, *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces boulardii* yeast. on the cholesterol levels, Triglycerides (TG), low density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL) and very low density lipoprotein (VLDL) that cultured on modified media.

contained subculture the probiotics strains and prepared a live cells from these probiotics. As well as, the probiotics strains were inoculated to De Man, Rogosa and Sharpe-Plasma media and the Potato dextrose agar-Plasma media was inoculated with *Saccharomycis boulardii* yeast and incubated for 24 -48 hr. with convenient Temp,The results showed reduction in percentage of cholesterol, triglycerides, LDL and VLDL. However , significant increase in HDL value . The reduce percentages of cholesterol for the treatments of bacterial cells (*Lb. acidophilu* , *Lb. casei* , ،*Lb. plantarum*, *Lb. returii* ، *Lb.rhmanosu* ,*Bifidus actiregularis* and *Sacch.boulardii*) were 25.00 ، 27.93 ،11.77 ،13.23 ،17.65 ،5.88 و5.97 respectively for 24 hr and incubation periods as 29.41 ،30.88 ،14.70 ،19.11 ،22.06 ،10.29 و7.45 respectively, The live bacterial cells *Lb. acidophilus* and *Lb. casei* showed priority in reducing TG during 24 & 48 hr incubation periods as (28.16 , 25.35) and (30.99 , 29.57) respectively. However, *Bifidus actiregulari*s showed less decrease in TG as (5.63 , 9.86) for 24 & 48 hr respectively. Live cells of *Lb. acidophilus* showed excellence in percentage of HDL which become 40.43% during 24hr , but during 48hr *Lb. casei* showed priority in increasing HDL (55.33 %) .Also both bacteria *Lb. acidophilus* and *Lb. casei* showed decrease in LDL & VLDL percentage during 24 & 48 hr incubation periods. Live cells of *Lb. casei* bacteria gave best results in decrease in cholesterol, TG, LDL, and VLDL but increase in HDL percentage comparing with other probiotics used.

المقدمة:

تعد الأمراض القلبية الوعائية في صـــدارة اســـباب الوفيات في جميع أنحاء العالم اذ يفوق عدد الوفيات الناجمة عن هذه الأمراض عدد الوفيات الناجمة عن ايّ من اسباب الوفيات الاخرى، فقد وثقت التقارير وفاة نحو 17.5 مليون نسمة جرّاء الأمراض القلبية الوعائية في عام 2012، ممّا يمثّل 31% من مجموع الوفيات التي وقعت في العالم في العام نفسه. ومن اصل مجموع تلك الوفيات حدثت 7.4 مليون حالة وفاة بسبب الامراض القلبية التاجية وحدثت 6.7 مليون حالة جرّاء السكتات الدماغية ويحدث اكثر من ثلاثة أرباع الوفيات الناجمة عن الاصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية في البلدان المنخفضة والمتوسطة الدخل، كما تحدث 82% من حالات الوفاة الناجمة عن الإصـــابة بالامراض غير الســـارية التي تحدث قبل ســـن 70 ســـنة في البلدان المنخفضـــة والمتوسطة الدخل، وتتسبب أمراض القلب والاوعية الدموية في 37% منها (WHO, 2014).

وتمثل العادات الغذائية والحالة الصحية والبيئية والاجتماعية السبب الاهم في اغلب امراض التهاب القولون التقرحي والقولون العصـبي وكذلك السـمنة وامراض القلب وارتفاع الكولسـترول والامراض المصـاحبة له (Avrelija and Walter, 2010). ففي الولايات المتحدة الامريكية يعاني 81.1 مليون امريكي (37% من السكان) من امراض القلب والاوعية الدموية التي يعد الكولسترول المســبب الاول لها، اذ يعاني 16% من الامريكيون من ارتفاع الكولســترول بالدم يموت 800000 شــخص منهم ســنويا (and Thomas Kathleen, 2010).

وفي المدة ما بين عام 2009–2012 كان 100 مليون شخص بالغ (53% من السكان) تتراوح اعمارهم اكبر من 20 سنة في امريكا بمستوى كولسترول اكثر من 200 ملغ/ديسيلتر، و31 مليون شخص يتعدى مستوى الكولسترول لديهم 240 ملغ/ديسيلتر، اما ما بين عامي2011–2012 فكان 8%من الاطفال الذي نتتراوح اعمارهم بين 8–17 سنة بمستويات كولسترول الكلي اكثر من 200 ملغ/ديسيلتر نتيجة لنمط الغذاء والعادات الغذائية غير الصحية (Sylvia and Thomas, 2015).

وقد تطور علم التغذية البشرية تطورا واسعا وسريعا خلال العقد الاخير من القرن الماضي مرافقا بذلك التطور والتقدم العلمي الحاصل في مجال الاغذية الوظيفية او العلاجية ولها دور فعال في مجال صحة الانسان اذ تتعدى كونها مجرد مواد غذائية يحتاج اليها الجسم ليقوم بمزاولة نشاطاته المختلفة واثبتت قدرتها في الحد من خطر الامراض المزمنة وتعزيز الحالة الصحية خصوصا عند اضافة المعززات الحيوية اليها. قدمت الدراسات الاخيرة مصطلح التزامن الحيوي Synbiotics الذي يربط بين المعززات الحيوية Probiotics والمحفز الاولي Prebiotics، والتزامن الحيوي يعني التآزر بين الاحياء المجهرية وعناصر الغذاء غير القابلة للهظم في الجهاز الهضمي اذ اثبتت الدراسات ان التزامن الحيوي اكثر فائدة للمستهلك من المعززات الحيوية والمحفزات الاولية كلً على حدة (Biplab and Narayan 2014). ومع بداية القرن العشرين دخلت المعززات الحيوية في المجال العلاجي، اذ ان استعمال الاحياء المجهرية لاعطاء اثار صحية الهدف الاساس للمعززات الحيوية التي تعد احد اكبر قطاعات الاغذية الوظيفية في السوق العالمية، اذ بلغت مبيعات المعززات الحيوية في الولايات المتحدة الامريكية 588 مليون دولار سنة 2015 ووفقا لمنظمة الصحة العالمية (WHO) المعززات الحيوية: هي الكائنات الحية الدقيقة الحية التي عندما تستهلك باعداد كافية يمكن ان تعطي فوائد صحية للمستهلك ولها تاثير ايجابي على الجهاز الهضمي ويمكن توفيرها من خلال الاطعمة والمشروبات والمكملات الغذائي (Matt, 2015). ويعد جنسي البكتريا *Lactobacillus* و*Bifidobacterium* وخميرة *S. boulardii* الاوسع استعمالا معززات حيوية للانسان لعلاج طيف واسع ومتنوع من الحالات الصحية (Natallia *et al.*, 2015).

- **جنس *Bifidobacterium*:**

اكتشفت هذه البكتريا اول مرة من قبل Tissier عام 1900 اذ عزلها من براز الاطفال ذوي الرضاعة الطبيعية، تستوطن هذه البكتريا القناة الهضمية وتشكل الجزء الأكبر من الاحياء المجهرية المكونة لفلورا الامعاء في الانسان Intestinalmicroflora (Prasad *et al.*, 1998)، ذكرت العديد من الدراسات اهمية بكتريا *Bifidus actiregularis* في مجال الصحة اذ انها تعد الرائد الاول في تحسين النوعية البكتيرية في النبيت المعوي وتحسين الهظم وامكانيتها لتخفيض الكولسترول (Singhi and Kumar, 2016).

- **جنس *Lactobacillus*:**

يوجد جنس *Lactobacillus* حيثما يتوفر مصدر غني بالكربوهيدرات لذا فأن هذا النوع من البكتريا يكون قريبا من الحيوانات الأرضية والبحرية وكذلك مع بيئاتها (النبات، المواد من أصل نباتي والأسمدة) ومنتجاتها من الأغذية (الألبان المختمرة والأجبان) وهذه البكتريا تكون مستعمرات في جسم المضيف (إنسان و حيوان) في التجويف الداخلي للغشاء المخاطي، الامعاء، المهبل، وتوجد بكتريا *Lactobacillus* بأعداد كبيرة في القناة المعوية منذ الولادة، أما في الجسم الصحيح فتوجد بشكل طبيعي في التجويف الداخلي بحدود 10^3 – 10^7 و. م . م/ غم وفي اللفائفي 10^3 – 10^7 و. م . م/ غم وفي القولون 10^4 – 10^8 و. م . م/ غم وتعد هذه البكتريا هي السائدة في المهبل (Forsum *et al*, 2005)، وجد كل من Shornikova *et al*, (1997) و Vinderola *et al*, (2000) أن لها دورا في إعادة توازن فلورا الامعاء للاطفال بعد حالات الاسهال الحاد Acutediarrhea، او المعالجة بالمضادات الحيوية وتستطيع تثبيط طيف واسع من الأحياء المرضية ولاسيما المسببة للاسهال، ولها المقدرة على تخفيض الكولسترول والكلوكوز في الدم ومعالجة حالات ارتفاع ضغط الدم وتحسين مقدرة المضيف على تحمل اللاكتوز وتنشيط الاستجابة المناعية في الجسم.

- **جنس *Saccharomyces*:**

مستعمرات هذا الجنس تنمو سريعا وتظهر خلال ثلاث ايام وهي مسطحة لزجة دائرية او بيضوية ذات قوام كريمي ناصع او باهت، لايمتلك هذا الجنس المقدرة على استعمال النترات وتتباين قدرة الانواع في هذا الجنس على تخمر السكريات (McGovern, 2004)، ذكر Psomas *et al*. (2003) ان *S. boulardii* تمتلك المقدرة على ازالة الكولسترول بعد 24 و48 ساعة من النمو بدرجة حرارة 37°م، وذكر ان هذه الازالة لاتكون بتمثيل الكولسترول وانما اندماجه الى الجدار الخلوي.

وقد هدفت الدراسة الى ما يلي:

1- تأثير المعززات الحيوية في خفض T.C وT.G وLDL وVLDL وزيادة HDL في الاوســـاط MRS-Plasma و-PDA Plasma.

2- اختيار المعزز الحيوي الاكفأ في خفض T.C وT.G وLDL وVLDL وزيادة HDL في الاوســـاط MRS-Plasma و PDA-Plasma.

3- تصـــنيع منتوج حاوي على المعزز الحيوي Probiotic الذي اظهر كفاءة في تحســـين نســـب دهون الدم والمحفز الحيوي prebiotic المتمثل في اللوز لتصنيع منتوج زبدة اللوز المعززة حيويا.

4. دراسة المدة الخزنية لمنتوج زبدة اللوز المعززة حيويا.

المواد وطرائق العمل:

1. الاوساط الزرعية المستعملة:

1.1. وسط de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) السائل:

حضـــر هذا الوســـط طبقا لتعليمات شـــركة Himedia الهندية المجهزة واســـتعمل الوســـط لتنشـــيط وتنمية بكتريا *Bifidus actiregularis* و *Lb.rhmanosus* و *Lb. returii* و *Lb. casei* طوال مدة البحث.

2.1. وسط السائل بطاطا– دكستروز Potato Dextrose broth (PDB) السائل:

حضـــر الوســـط طبقاً لتعليمات شـــركة (Oxiod) الانجليزية المجهزة وذلك بإذابة 37.4 غم من بطاطا–دكســـتروز الصـــلب في 1000 مل من الماء المقطر ثم سخن ثم عقم المزيج بالمؤصدة. واتعمل في تحضير الوسط السائل المحور PDA-Plasma.

3.1. وسط MRS-Plasma السائل المحور:

حضـــر هذا الوســـط المحور من قبلنا باذابة 1:1 حجم/حجم بلازما الدم البشـــري مع وســـط MRS-broth المعقم المذكور في الفقرة 1.1. ، واستعمل الوسط في تقدير كفاية بكتريا الاختبارية في قياس دهون الدم.

4.1. وسط PDA-Plasma السائل المحور:

حظر الوسط باذابة 1:1 حجم/حجم من بلازما الدم البشري مع وسط PDA-broth المعقم والمذكور في الفقرة 2.1. واستعمل في تقدير كفاية خميرة *Saccharomyces boulardii* في تقليل دهون الدم (الزيادي، 2014).

2 . الاحياء المجهرية المختبرة:

1.2. المعززات الحيوية البكتيرية:

اســـتعملت عدة ســـلالات من اجناس بكتريا *Lactobacillus* المجففة والمجهزة على شـــكل كبســـولات من (شـــركـــــــــة Hollywood North الأميـــــركية لإنتاج المعززات الحيويـــــة) وهي سلالة من جنس *Lb.rhmanosus Lb. returii* المحضرة بشكل مزارع بكتيرية نقية مجففة وعزلة من بكتريا *Lb.casei* حصل عليها من مختبرات كلية الزراعة جامعة بغداد محفوظة بالحليب الفرز مع 10% كليســـرول على درجة حرارة –18°م (الراوي، 2005)، وتم تنشـــيطها. وتم التأكد من نقاوتها بمشـــاهدة المســـتمرات تحت المجهر الضوئي وبعد تصبيغها بصبغة غرام. واستعملت سلالة من بكتريا *Bifidus actiregularis* المجففة والمجهزة على شكل كبسولات من (شركة Hollywood North الأميركية لإنتاج المعززات الحيوية) بشكل مزارع بكتيرية نقية مجفدة. وتم التأكد من نقاوتها بمشاهدة المستمرات تحت المجهر الضوئي وبعد تصبيغها بصبغة غرام.

2.2. خميرة *S. boulardii*:

استعملت خميرة *S. boulardii* المجففة والمجهزة على شكل كبسولات من شركة (شركة Biocodex الامريكية) المحضرة بشـــكل مزارع نقية في الوســـط PDA-Broth الســـائل. وتم التأكد من نقاوتها بمشـــاهدة المســـتمرات تحت المجهر الضـــوئي وبعد تصبيغها بصبغة غرام.

3. **تقدير دهون الدم:**

1.3. تقدير الكولسترول الكلي في بلازما الدم والاوساط المحورة:

لقحت العزلات على الوسط MRS-Plasma السائل المحور وحضنت على درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة بمعزل عن الهواء وضعت الاوساط بعد الحضن في جهاز النبذ المركزي 12000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، قدر الكولسترول حسب الطريقة التي اوردها Kim *et al.* (2008) لتقدير كفاية بكتريا الاختبارية في تقليل دهون الدم وكما في المعادلة ادناه:

$$\text{الكوليسترول (mg\100dl)} = \frac{\text{قراءة امتصاصية الانموذج}}{\text{قراءة امتصاصية المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

وضعت 10 مايكروليتر لكل مل من المحلول القياسي وبلازما الدم في انبوبة اختبار جافة ومعقمة كلاً على حده، ثم اضيف لها لكل منهما 1 مل من كاشف الكولسترول، ووضع 1 مل من كاشف الكولسترول في انبوبة اختيار اخرى (انبوبة السيطرة)، مزجت الانابيب جيداً، بعدها حضنت لمدة 5 دقائق في درجة حرارة 37 ° م. قرأت امتصاصية النماذج والمحلول القياسي على موجة طولها 500 نانوميتر لانموذج السيطرة.

2.3. تقدير T.G:

اتبعت الطريقة الواردة في Zhu *et al,* (2000) في تقدير مستوى الكليسريدات الثلاثية بوساطة طريقة لونية إنزيمية Enzymatic colorimetric method وباستعمال العدة (ETGA- 200) المجهزة من شركة (BioAssay Systems–الولايات المتحدة الأميركية) تم تقدير الكليسريدات الثلاثية في الوسط من المعادلة ادناه:

$$\text{الكليسريدات الثلاثية (mg\100dl)} = \frac{\text{قراءة امتصاصية الانموذج}}{\text{قراءة امتصاصية المحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$

تم تقدير النسبة المئوية لتخفيض مستوى الكليسريدات الثلاثية في بلازما الدم الاوساط المحورة باستعمال المعادلة ادناه:

$$\%\ \text{تخفيض الكليسريدات الثلاثية} = \frac{\text{تركيز الكليسريدات الثلاثية في الوسط قبل الحضن– تركيز الكليسريدات الثلاثية المتبقي بعد الحضن}}{\text{تركيز الكليسريدات الثلاثية في الوسط قبل الحضن}} \times 100$$

3.3. تقدير LDL:

تم تقدير LDL في بلازما الدم وفي الوسط MRS-Plasma السائل المحور للمعززات الحيوية البكتيرية الحية والميتة وفي الوسط PDA-Plasma السائل المحور للخميرة *Saccharomyces boulardii* الحية والميتة بأستعمال المعادلة التي ذكرها Ali *et al,* (2011) وكما في المعادلة ادناه:

[LDL-Cholesterol] = [HDL-Cholesterol] – [Total-Cholesterol]-[Triglyceride/5]

وتم تقدير النسبة المئوية لتخفيض مستوى LDL في بلازما الدم والاوساط المحورة بأستخدام المعادلة ادناه:

$$\%\ \text{تخفيض LDL} = \frac{\text{تركيز LDLفي الوسط قبل الحضن– تركيز LDLالمتبقي بعد الحضن}}{\text{تركيز LDL في الوسط قبل الحضن}} \times 100$$

4.3. تقدير VLDL:

تم تقدير VLDL في بلازما الدم وفي الوسط MRS-Plasma السائل المحور الملقح بالمعززات الحيوية البكتيرية الحية بأستعمال المعادلة التي ذكرها Ali *et al,* (2011):

[VLDL-Cholesterol] = [Triglyceride/5]

قدرت النسبة المئوية لتخفيض مستوى VLDL في بلازما الدم والاوساط المحورة باستعمال المعادلة ادناه:

$$\%\ \text{تخفيض VLDL} = \frac{\text{تركيز VLDLفي الوسط قبل الحضن– تركيز VLDLالمتبقي بعد الحضن}}{\text{تركيز VLDL في الوسط قبل الحضن}} \times 100$$

5.3. تقدير HDL:

اتبعت الطريقة الواردة في Young, (2000) في تقدير مستوى استعملت HDL عدة التشخيص رقم (EHDL-100) المجهزة من شركة (BioAssay Systems–الولايات المتحدة الاميركية) في تقدير مستوى HDL، قرأت امتصاصية النماذج والمحلول القياسي على طول موجي مقداره 500 نانوميتر حيال انموذج السيطرة.

$$\text{HDL}\square(\text{mg}\backslash 100\text{dl}) = \frac{\text{قراءة امتصاصية الانموذج}}{\text{قراءة امتصاصية المحلول القياسي}} \times 200 \times \text{عامل تخفيف الانموذج}$$

تم تقدير النسبة المئوية لزيادة مستوى HDL في بلازما الدم الاوساط المحورة بأستخدام المعادلة ادناه:

$$\%\text{ زيادة HDL} = \frac{\text{تركيز HDL في الوسط قبل الحضن} - \text{تركيز HDL المتبقي بعد الحضن}}{\text{تركيز HDL في الوسط قبل الحضن}} \times 100$$

النتائج والمناقشة:

تخفيض دهون الدم

1. T.Ch:

يبين الجدول (1) النسبة المئوية لتخفيض الكولسترول للخلايا الحية للبكتريا *Lb. casei*، *Lb. returii*، *Lb. rhmanosus* و*Bifidus actiregularis* على معاملة السيطرة 1 وللخميرة *Saccharomyces boulardii* على معاملة السيطرة 2 ، واظهرت النتائج تفاوتا في مقدرة الخلايا على استهلاك وتخفيض الكولسترول تبعا للعزلة ومدة الحضن، وجدت النتائج انخفاضا في مستوى تركيز الكولسترول لجميع معاملات الخلايا الحية مقارنة مع معاملة السيطرة، واظهرت بكتريا *Lb. casei* افضلية في مقدرتها على تخفيض الكولسترول خلال مدة الحضن 24 ساعة، اذ بلغت نسبة التخفيض27.93 %، مقارنة مع بكتريا *Lb.rhmanosus*، *Lb.returii* اذ بلغت نسبة تخفيضها للكولسترول 17.65، 13.23 % وعلى التوالي، بينما اظهرت بكتريا *Bifidus actiregularis* اقل نسبة لتخفيض الكولسترول وبلغت 5.88%، واظهرت خميرة *S. boulardii* تخفيضا في مستوى تركيز الكولسترول اذ بلغت نسبة التخفيض 5.97 % مقارنة مع معاملة السيطرة 2 بعد مدة حضن 24 ساعة وعلى درجة حرارة حضن 37°م.

الجدول (1) مقدار الكولسترول المتبقي للخلايا الحية على الاوساط السائلة المحورة

ت	مدة الحضن/ساعة / العزلات	الخلايا الحية			
		24		48	
		الكولسترول المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض	الكولسترول المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض
1	***Bifidus actiregularis***	**69.56**	**4.35**	**66.30**	**7.61**
2	***Lb.rhmanosus***	**60.86**	**13.05**	**57.60**	**16.31**
3	***Lb.returii***	**64.13**	**9.78**	**59.78**	**14.13**
4	***Lb.casei***	**53.62**	**20.65**	**51.08**	**22.83**
5	**Control 1**	**73.91**	**0**	**73.91**	**0**
6	***S. boulardii***	**68.47**	**4.35**	**67.39**	**5.43**
7	**Control 2**	**72.82**	**0**	**72.82**	**0**

وعند اطالة الحضن الى 48 ساعة اظهرت النتائج افضلية في تخفيض الكولسترول، اذ اظهرت بكتريا *Lb. casei* افضلية في مقدرتها على تخفيض الكولسترول، اذ بلغت نسبة التخفيض 30.88 % وعلى التوالي، مقارنة مع بكتريا *Lb.rhmanosus*، *Lb.returii* و *Bifidus actiregularis* اذ بلغت نسبة تخفيضها للكولسترول 22.06، 19.11 و10.29 % وعلى التوالي، واظهرت خميرة *S. boulardii* اقل نسبة تخفيض في مستوى تركيز الكولسترول اذ بلغت نسبة التخفيض 7.45 % مقارنة مع معاملة السيطرة 2 بعد مدة حضن 48 ساعة وعلى درجة حرارة حضن 37°م وكما موضح في الجدول ادناه.

واشار Shin *et al*. (2010) و Xie *et al*. (2011) الى ان بكتريا *L. plantarum* Lp91 وبكتريا *L. plantarum* 9-A-41 بأمكانها تخفيض الكولسترول الكلي و LDL في مصل الدم عند الفئران. اشار Kourelis *et al*. (2010) الى ان تركيز الكولسترول في الاشكال المختلفة للكولسترول المستعملة في الفحوص المختبرية قد تؤثر في قابلية استهلاك *S. boulardii* للكولسترول واضاف ان قابلية *S. boulardii* على خفض الكولسترول جلية في الدراسات البحثية في الانظمة الحية. كما وجد الزيادي (2014) افضلية العزلتين *Saccharomyces boulardii R3* و *Saccharomyces boulardii R7* في خفض الكولسترول في الوسط السائل المحور YPD-Plasma في مدة حضن 48 ساعة وعلى درجة حرارة 37 °م، اذ بلغت نسبة التخفيض 56.54 و53.90% وعلى التوالي، واظهرت بكتريا *Lb. reuteri LR* المعزولة من براز الاطفال مقدرتها على تخفيض كل من الكولسترول الكلي وLDL والكليسريدات الثلاثية (Singh *et al*, 2015).

2. T.G:

يوضح الجدول (2) النسبة المئوية لمستوى تركيز T.G في الاوساط السائلة المحورة الملقحة بالعزلات المنتخبة، واظهرت النتائج تفاوتا في مقدرة العزلات على خفض تركيز T.G تبعا للعزلة وعيوشيتها ومدة الحضن مقارنة بمعاملتا السيطرة.

اظهرت بكتريا *Lb. casei* افضلية في خفض T.G اذ بلغت نسبة التخفيض 28.16 % على التوالي مقارنة مع بكتريا *Lb. rhmanosus*، *Lb. returii* التي بلغت نسبة تخفيضها لل T.G 18.30، 14.07 % وعلى التوالي فيما حصلت بكتريا *Bifidus actiregularis* على اقل نسبة لتخفيض T.G بلغت 5.63 % مقارنة مع معالملة السيطرة 1، وتمكنت خميرة *S. boulardii* من تخفيض T.G الى 5.71 % مقارنة مع معاملة السيطرة 2 في مدة الحضن 24 ساعة وعلى درجة حرارة 37 ، وعند اطالة مدة الحضن من 24 الى 48 ساعة اظهرت النائج افضلية في تخفيض الكليسريدات الثلاثية، اذ اظهرت بكتريا *Lb. casei* افضلية في التخفيض اذ بلغت نسبة التخفيض 30.99 % فيما حصلت بكتريا *Bifidus actiregularis* اقل نسبة تخفيض اذ بلغت 9.86 % مقارنة مع معاملة السيطرة 1، كما واظهرت خميرة *S. boulardii* تخفيضا T.G عند اطالة مدة الحضن الى 48 ساعة اذ بلغت نسبة التخفيض 7.13 % مقارنة مع معاملة السيطرة 2، كما مبين في الجدول (2) ادناه.

الجدول (2) مقدار الكليسريدات الثلاثية المتبقية للخلايا الحية في الاوساط المحورة

ت		الخلايا الحية			
	مدة الحضن/ساعة / العزلات	24		48	
		T.G المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض	T.G المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض
1	***Bifidus actiregularis***	70.52	4.21	76.36	7.37
2	***Lb.rhmanosus***	61.05	13.68	57.89	16.84
3	***Lb.returii***	30.99	10.52	60.00	14.73
4	***Lb.casei***	53.68	21.05	51.57	23.16
5	**Control 1**	74.73	0	74.73	0
6	***S. boulardii***	69.47	4.21	68.42	5.26
7	**Control 2**	73.68	0	73.68	0

3. LDL:

يظهر االجدول (3) النسبة المئوية لتخفيض مستوى LDL للعزلات الحية والميتة للبكتريا على معاملة السيطرة 1 والخميرة الحية والميتة على معاملة السيطرة 2، اذ اظهرت النتائج تفاوتا في مقدرة العزلات على تخفيض مستوى تركيز LDL في الاوساط السائلة المحورة تبعا للعزلة ومدة الحضن.

اظهرت بكتريا *Lb. casei* افضلية في خفض مستوى LDL اذ بلغت نسبة التخفيض 85.74 % على التوالي فيما بلغت نسبة خفض LDL لكل من بكتريا *Lb.rhmanosus*، *Lb.returii*، *Bifidus actiregularis* 56.88، 41.24، 14.90 % على التوالي مقارنة مع معاملة السيطرة 1 خلال مدة الحضن 24 ساعة وفي درجة حرارة 37˚م، اظهرت خميرة *S. boulardii* مقدرتها على خفض LDL معنويا اذ بلغت نسبته 19.92 % مقارنة بمعاملة السيطرة 2 خلال مدة الحضن 24 ساعة وفي درجة حرارة 37˚م.

واظهرت النتائج افضلية في خفض مستوى LDL عند اطالة مدة الحضن الى 48 ساعة، اذ تفوقت بكتريا *Lb. casei* وبلغت نسبة التخفيض 97.27 % مقارنة مع *Lb.rhmanosus*، *Lb.returii* اذ بلغت نسبة التخفيض 77.27 و57.74% وعلى التوالي، فيما اظهرت بكتريا *Bifidus actiregularis* اقل نسبة تخفيض وبلغت 24.77 % مقارنة بمعاملة السيطرة 1 خلال مدة الحضن 24 ساعة وفي درجة حرارة 37˚م، وبلغت نسبة التخفيض للخميرة *S. boulardii* 27.94 % مقارنة بمعاملة السيطرة 2 خلال مدة الحضن 24 ساعة وفي درجة حرارة 37˚م، وكما موضح في الجدول ادناه.

الجدول (3) مقدار LDL للخلايا الحيةعلى الاوساط السائلة المحورة

ت	الخلايا الحية			
	مدة الحضن/ساعة / العزلات	24		48	
		LDL المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض	LDL المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض
1	***Bifidus actiregularis***	14.11	0.83	13.74	1.20
2	***Lb.rhmanosus***	12.21	2.73	11.57	3.37
3	***Lb.returii***	12.84	2.10	12.00	2.94
4	***Lb.casei***	10.73	4.21	10.31	4.63
5	**Control 1**	14.94	0	14.94	0
6	***S. boulardii***	13.89	0.84	13.68	1.05
7	**Control 2**	14.73	0	14.73	0

4. VLDL:

يبين الجدول (4) النسبة *المئوية* لتخفيض VLDL للعزلات البكتيرية الحية والميتة في معاملة السيطرة 1 وعزلة الخميرة في معاملة السيطرة 2، اذ اظهرت النتائج مقدرة العزلات على تخفيض مستوى VLDL اعتمادا على نوع العزلة ومدة الحضن.

واظهرت النتائج تفوق بكتريا *Lb. casei* في خفض مستوى تركيزه الى 28.17 % على التوالي، فيما بلغت نسبة التخفيض لبكتريا *Lb. rhmanosus*، *Lb. returii* 18.27، 14.05 % وعلى التوالي، كما واظهرت بكتريا *Bifidus actiregularis* اقل نسبة تخفيض وبلغت 5.55 % مقارنة مع معاملة السيطرة 1 خلال مدة الحضن 24 ساعة وعلى درجة حرارة 37˚م، اظهرت خميرة *S. boulardii* تخفيضا في النسبة المئوية VLDL اذ بلغت نسبة التخفيض 5.70 % مقارنة مع معاملة السيطرة 2 خلال مدة الحضن 24 ساعة وعلى درجة حرارة 37˚،

واظهرت النتائج افضلية في خفض VLDL عند اطالة مدة الحضن الى 48 ساعة، اذ تفوقت بكتريا *Lb. casei* في تخفيض VLDL وبلغت النسبة المئوية 30.99 % وعلى التوالي مقارنة ببكتريا *Lb. rhmanosus* و*Lb. returii* اذ بلغت نسبة

التخفيض 29.58، 22.55 و19.67 % وعلى التوالي، واظهرت بكتريا *Bifidus actiregularis* اقل نسبة نخفيض وبلغت 8.03 % مقارنة مع معاملة السيطرة 1 خلال مدة الحضن 24 ساعة وعلى درجة حرارة 37˚م، فيما كانت نسبة التخفيض للخميرة *S. boulardii* 7.12% مقارنة مع معاملة السيطرة 2، والجدول (4) ادناة يوضح ذلك.

الجدول (4) مقدار VLDL للخلايا الحية على الاوساط السائلة المحورة

ت	مدة الحضن/ساعة / العزلات	24		48	
		VLDL المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض	VLDL المتبقي ملي مول/مل	مقدار التخفيض
1	***Bifidus actiregularis***	14.11	0.83	13.74	1.20
2	***Lb.rhmanosus***	12.21	2.73	11.57	3.37
4	***Lb.returii***	12.84	2.10	12.00	2.94
6	***Lb.casei***	10.73	4.21	10.31	4.63
7	**Control 1**	14.94	0	14.49	0
8	***S. boulardii***	13.89	0.84	13.68	1.05
9	**Control 2**	14.73	0	14.73	0

.5 HDL:

يبين الجدول (5) النسبة المئوية لتأثير الخلايا الحية والخلايا الميتة للبكتريا على معاملة السيطرة 1 وللخميرة على معاملة السيطرة 2 على HDL، اظهرت النتائج تفاوتا في مقدرة الخلايا على رفع مستوى HDL في الاوساط السائلة المحورة تبعا للعزلة ومدة الحضن.

الجدول (5) مقدار HDL للخلايا الحية على الاوساط السائلة المحورة

ت	مدة الحضن/ساعة / العزلات	الخلايا الحية			
		24		48	
		HDL المتبقي ملي مول/مل	مقدار الزيادة	HDL المتبقي ملي مول/مل	مقدار الزيادة
1	***Bifidus actiregularis***	27.63	1.39	28.18	2.21
2	***Lb.rhmanosus***	34.26	8.92	38.68	12.71
3	***Lb.returii***	31.50	5.53	33.71	7.74
4	***Lb.casei***	38.13	12.16	40.34	14.37
5	**Control 1**	25.97	0	25.97	0
6	***S. boulardii***	28.73	3.31	30.39	4.97
7	**Control 2**	25.42	0	25.42	0

اظهرت النتائج مقدرة الخلايا الحية على زيادة مستوى HDL خلال مدة الحضن 24 ساعة في درجة حرارة 37˚م، اذ تفوقت بكتريا *Lb. casei* في زيادة مستوى HDL وبلغت نسبته 40.43 37.26 %، مقارنة بالعزلات البكترية *Lb. rhmanosus*، *Lb. returii* و*Lb. plantarum* اذ بلغت نسبة الزيادة 31.92، 21.29 و14.90 % وعلى التوالي، اظهرت بكتريا *actiregularis Bifidus* اقل نسبة زيادة في مستوى تركيز HDL اذ بلغت 5.35% مقارنة بمعاملة السيطرة 1، كما واظهرت خميرة *S. boulardii* مقدرتها على زيادة مستوى HDL الى 19.55 % خلال مدة الحضن 24 ساعة في درجة حرارة 37˚م مقارنة مع معاملة السيطرة 2.

اظهرت النتائج افضلية في زيادة مستوى HDL عند اطالة مدة الحضن من 24 الى 48 ساعة على درجة حرارة 37 °م، اذ اظهرت بكتريا *Lb. casei* افضلية في زيادة نسبة HDL اذ بلغت النسبة 55.33 % مقارنة ببكتريا *Lb. rhmanosus* و *Lb. returii* اذ بلغت نسبة التخفيض 48.94 و29.80 % وعلى التوالي، فيما اظهرت بكتريا *Bifidus actiregularis* اقل نسبة في مستوى تركيز HDL اذ بلغت 8.50 %، مقارنة مع معاملة السيطرة 1، كما وبلغت نسبة زيادة HDL لخميرة *S. boulardii* اذ بلغت 19.55 % مقارنة مع معاملة السيطرة 2، وكما مبين في الجدول (5) .

المصادر :

الراوي، خاشع محمد ؛ خلف الله، عبد العزيز محمد، (2000). تصميم وتحليل التجارب الزراعية، دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل العراق.

الزيادي، رحيم عناد خضير. (2014). عزل وتشخيص وتطفير *Saccharomyces boulardii* وتقييم بعض صفاتها العلاجية. اطروحة دكتوراه مقدمة الى– قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية– كلية الزراعة– جامعة بغداد.

Ahn YT, Kim GB, Lim KS, Baek YT and Kim HU, Deconjugation of Bile Salts by Lactobacillus acidophilus Isolates. International Dairy Journal 2003;13: 303-311.

Ali, A.A. ; Metwally, A.M.M. ; Mahmoud, A.H. & Attia, H.F. (2011). Effect of Feeding Probiotics on Rats' Immunity and Health Conditions during Pregnancy. F. & Nutr. Sci. 2:96-104.

Avrelija Cencic and Walter Chingwaru. (2010). The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. Nutrients, 2, 611-625; doi:10.3390/nu2060611.

Biplab Bandyopadhyay and Narayan C. Mandal. (2014). Probiotics, Prebiotics and Synbiotics - In Health Improvement by Modulating,Gut Microbiota: The Concept Revisited. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* (2014) 3(3): 410-420

Forsum, U. ; Holst, E. ; Larsson, P.G. ; Vasquez, A. ; Jakobsson, T. & Mattsby-Baltzer, I. (2005). Bacterial Vaginosis – A Microbiological and Immunological Enigma. Mini Review. APMIS. 113: 81–90.

Khan, A.; Gallo, R.M.; Renukaradhya, G.J.; Du, W.; Gervay-Hague, J. and Brutkiewicz. R.R.(2009). Statins Impair CD1d-Mediated Antigen Presentation through the Inhibition of Prenylation Masood. J. Immunol. 182: 4744 – 4750.

Kieling, G.; Schneider, J.; Jahreis, G. Long-term consumption of fermented dairy products over 6 months increases HDL cholesterol. Eur. J. Clin. Nutr. 2002, 56, 843-849.

Kim, Y.; Whang, J.; Whang, K.; Sejong, O.; KIM S. (2008) Characterization of The Cholesterol-Reducing Activity in A Cell-Free Supernatant of Lactobacillus acidophilus ATCC 43121. Biosci.Biotechnol Biochem; 72(6):1483-90.

Kimoto, H.; Ohmomo, S.; Okamoto, T. Cholesterol Removal from Media by Lactococci. J. Dairy Sci. 2002, 85, 3182-3188.

Kumar,A. and Vandana (2013)Probiotics: Nature's medicine. Int J NutrPharmacolNeurol Dis [serial online] 2013 [cited 2016 Jan 30];3:219-28.

Mann, G.V.; Spoerry, A. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. Am. J. Clin. Nutr. 1974, 27, 464-469.

Matt Silverman.(2015). Dollar sales of probiotic supplements in the United States in 2015, by channel (in million U.S. dollars). http://www.statista.com/statistics/493536/dollar-sales-of-probiotic-supplement-in-the-us-by-channel.

McGovern, P.E.(2004).Fermented Beverages of pre- and proto-historic China. Proc Natl Acad Sci USA 101:17593–17598.

McGovern, P.E.(2004).Fermented Beverages of pre- and proto-historic China. Proc Natl Acad Sci USA 101:17593–17598.

Natallia V.Varankovich, MichaelT.Nickerson and DarrenR.Korber. (2015). Probiotic-based strategies for therapeutic and prophylactic use against multiple gastrointestinal diseases. Frontiers in Microbiology. doi: 10.3389/fmicb.2015.00685.

Prasad, J. ; Gill, H. ; Smart, J. & Gopal, P.K. (1998). Selection and characterization of Lactobacillus and Bifidobacterium strains for use as probiotics. International Dairy Journal. 8:993-1002.
Prasad, J. ; Gill, H. ; Smart, J. & Gopal, P.K. (1998). Selection and characterization of Lactobacillus and Bifidobacterium strains for use as probiotics. International Dairy Journal. 8:993-1002.
Psomas, E.I.; Fletouris, D.J.; Litopoulou-Tzanetaki, E. and Tzanetakis, N.(2003). Assimilation of Cholesterol by Yeast Strains Isolated from Infant Feces and Feta Cheese. J Dairy Sci. Nov;86(11).:3416-22 .

Shornikova, A.V. ; Casas, I.A. ; Mykkanen, H. ; Salo, E. & Vesikari, T. (1997). Bacteriotherapy with Lactobacillus reuteri in rotavirus gastroenteritis. Pediatr. Infect. Dis. J. 16:1103-7.

Singh, Malik RK, Katkamwar SG, Kaur G. (2015). Hypocholesterolemic effects of Lactobacillus reuteri LR6 in rats fed on high-cholesterol diet. Int J Food Sci Nutr. 2015 Feb;66(1):71-5. doi: 10.3109/09637486.2014.953450. Epub 2014 Sep 29.

Singhi SC, Kumar S (2016). "Probiotics in critically ill children.". *F1000Res* (Review). 5. doi:10.12688/f1000research.7630.1. PMC 4813632. PMID 27081478.

Sylvia M. Burwell and Thomas J. Vilsac. (2015). 2015-2020 Dietary Guidelines for Americans. DietaryGuidelines.gov.

Sylvia M. Burwell and Thomas J. Vilsac. (2015). 2015-2020 Dietary Guidelines for Americans. DietaryGuidelines.gov.

Thomas J. Vilsack and Kathleen Sebelius. (2010). www.dietaryguidelines.gov.

Vinderola, C.G. ; Bailo, N. & Reinheimer, J.A. (2000). Survival of probiotic microflora in a Argentinian yoghurts during refrigerated storage. Food Research International. 33:97-102.

WHO, (2014). World Health Statistics. http://www.who.int/gho/indicator_registry/en/, accessed 22 March 2014.

Young, D.S. (2000). Effects of drugs on clinical laboratory tests, 5th ed. AACC Press.

Zhu, Y. ; Jong, M.C. ; Frazer, K.A. ; Gong, E. ; Krauss, R.M. & Cheng, J. (2000). Genomic interval engineering of mice identifies a novel modulator of triglyceride production. Dario Boffelli, & Edward M. Rubin. PNAS, 97(3):1137–1142.