دراسة في اللبن والباديء المنتج في معمل البان الموصل وبعض العوامل المؤثرة فيهما:دراسة ميدانيه

محمود اسعد عائد حامد صالح محمد حكمت علي صادق

الخلاصة

درست اسباب ضعف باديء اللبن (starter) واللبن (يوغرت yoghurt)المنتج في ألبان الموصل، تم الحصول على العينات من المعمل المذكور ولمدة سنة كاملة، اذ درس تاثير النسبة بين نوعي البكتيريا(العصويه) *Lactobacillus bulgaricus* و(الكرويه) *Streptococcus thermophilus* وتاثير ذلك في مدة التخثر والحموضة الكلية وتاثير نسبة المواد الصلبة غير الدهنية في أعداد كلاً من نوعي البكتيريا.أعطت نسبة 1:1 افضل مدة تخثر وأفضل منتوج حيث بلغت 3 ساعات و15دقيقة وحموضة كلية 0.83% وكان افضل تركيز للمواد الصلبة غير الدهنية 16% و 14% واعداد نوعي البكتيريا *L.bulgaricus* (83×10^6)و*S .thermophilus*(11×10^6)خلية مكونة للمستعمره / مل (cfu/ml) على التوالي. ولدى دراسة تأثير بعض المواد الكيميائية والمضادات الحياتية في باديء بكتيريا اللبن كانت بكتيريا *S.thermophilus* اكثر حساسية من بكتيريا *L.bulgaricus* للتراكيز المستخدمة من كلوريد الصوديوم NaCl وازرق المثلين methylene blue والمضادات الحياتية (البنسلين penicillin والتتراسايكلين tetracycline).

المقدمة

يعد اللبن (اليوغرتyoghurt) مصدراً غذائياً جيدا ومهماً للانسان وتعتمد صفاته على صفات الباديء والحليب المستخدمين في الصناعة وان الباديء المستخدم في صناعته عبارة عن مزرعه بكتيرية نقية من نوعين من البكتريا احداهما عصويه *L. bulgaricus* والأخرى كروية *S. thermophilus* و(Sellars 1970,Babel) .توجد حالة من التكافل synergism بين هذين النوعين من البكتريا اذ أن البكتريا الكروية *S. thermophilus* تحتاج إلى مصدر كاربوني ومصدر نتروجيني لغرض نموها وكلاهما متوفران في الحليب اذ انه يحتوي على سكر اللاكتوز والأحماض الأمينية والببتيدات . أما البكتريا العصويه*L. bulgaricus* فلها القدره على تحليل البروتين الى ببتيدات وأحماض امينية

وهذه النواتج مهمة لفعالية بكتريا *S. thermophilus* التي تقوم بدورها بإنتاج غاز ثاني اوكسيد الكاربون CO_2 وحامض الفورميك وكلاهما يحفز البكتريا العصوية . أن البكتريا الكروية سريعة النمو وتنتج حامض اللاكتيك وبذا ينخفض الأس الهيدروجيني ليلائم نمو البكتريا العصوية (Mitchellو Sandine،1984) و(Rajagopal وSandine،1990) .عند الوصول الى نقطة التعادل الكهربائي للشحنات يتحول سكر اللاكتوز الى حامض اللاكتيك فيتخثر الحليب .

يتأثر بادئ اللبن بالمثبطات الطبيعية والمضادات الحياتية والمواد الملوثة والمعقمة (Tamime وRobinson،1985) .تعد بكتيريا Streptococcus و Lactobacillus من الأحياءالحساسة جداً للبكتريوفاج (Tamime,1977) وعند حصول هذا النوع من

تاريخ استلام البحث:27-12-2005

التلوث يفشل الباديء في انتاج اللبن. مما يجدر ذكره ان درجة الحرارة المثلى للفاج(bacteriophage) الذي يهاجم بكتيريا الباديء هي ما بين 39 و43 مْ ولغرض تثبيط نشاط الفاج يستخدم التسخين على 85 مْ (Tamime و Deeth ,1980)و(Deeth ,1984). ان افضل نسبة بين نوعي بكتريا باديء اللبن هي 1:1 ومن اجل المحافظة على التوازن بينهما يمكن تنمية كل نوع على انفراد ومزجهما بنسب متساوية كما يجب عدم ترك الباديء مدة طويلة قبل استخدامه في الصناعة لان ذلك يؤدي الى ارتفاع الحموضة كثيراً وقتل اعداد كبيرة من البكتيريا (Robinson,1990) ، كذلك تمت إضافة تراكيز مختلفة من كلوريد الصوديوم وازرق المثلين وبعض المضادات الحيوية في الوسط الغذائي والمنماة فيه بكتيريا اللبن (اليوغرت) لاهمية هذه المواد في تشخيص كفاءة الباديء ومعرفته في الإنتاج. وتم حساب النسبة المئوية لحساسية هذة المواد التي عادة ما تستخدم في حفظ كثير من المواد الغذائية وكمواد مانعة لنمو أحياء مجهرية غير مرغوب فيها . مما سبق يمكن البحث عن اسباب ضعف البادئ وعدم أمكانية الحصول على لبن ذي مواصفات جيدة وكانت تلك مشكله تستوجب حلا سريعا لأن بقاءها سيؤدي الى هدر اقتصادي كبير في قطاع تصنيع الالبان .

مواد العمل وطرائقه

استخدمت مزارع باديء مختلطه مجفدة تتكون من :

Lactobacillus bulgaricus) = *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*

و

Streptococcus thermophilus)=*Streptococcus salivarius ssp.thermophilus*

والمستخدمة في معمل البان الموصل (حيث نشطت في حليب فرز)، وعينات من اللبن المنتج في المعمل المذكور لمدة سنة كاملة اسبوعيا وحضرت اوساط غذائية لتنميتها (اجار رجوزاMRS) وزرعت بكتيريا الباديء في الاوساط الغذائية ، وقدرت أعدادها كما ورد في Diliello(1982)وذلك بأخذ 10 مل من عينة اللبن الى 90 مل من محلول تخفيف فسيولوجي وأجريت سلسله من التخفيفات المتتالية ثم أخذ 1مل من التخفيفات وزرعت في طبق بتري معقم وتم صب الوسط الغذائي MRS المعقم فيها وحضنت على 37 مْ لمدة 3 ايام وتم حساب عدد المستعمرات وضرب معدل عدد المستعمرات في مقلوب التخفيف للحصول على العدد الكلي للبكتريا.ثم قدرت المواد الصلبة غير الدهنية والمواد الصلبة الكلية والدهن والحموضة حسب AOAC(1980).تم عزل الجنسين كلا على حده وتمت تنمية كلا منهما على انفراد في حليب ذي نسب مختلفة من المواد الصلبة غير الدهنية 16,14,12,10, (18 و20%) لمعرفة التراكيز التي يحصل عندها أعلى نمو من الخلايا من كل من النوعين للوصول إلى الحموضة المطلوبة فى المنتج اللبني ضمن فترة زمنية محددة . كما درس تاثير النسبة بين كل نوع بكتيري في الباديء في مدة التخثر وحموضة المنتوج، وايضاً درس تاثير الحساسية للمواد الكيميائية بالاعتماد على الطريقة التي اقترحها Brennan وآخرون (1986) لغرض دراسة اختبار حساسية الخلايا البكتيرية للتراكيز المختلفة من كلوريد الصوديوم (5,4,3%) وازرق المثلين (0.1,0.05,0.01 %) وكذلك الحساسية للمضادات الحياتية (البنسلين والتتراسايكلين) بتراكيز 0.1 و0.5% باستخدام اختبار انتشار المضاد الحياتي وبقياس قطر المنطقة الشفافة حول المستعمرة البكتيرية (Bishop و White،1984).

النتائج والمناقشة

يتضح من جدول(1)سيادة البكتيريا العصوية (*L.bulgaricus*) على البكتيريا الكروية (*S.thermophilus*) وبنسب متفاوتة لمكررين لعينتين لكل من البادئ المختلط واللبن المنتج في معمل البان الموصل وهذا يعني عدم التوازن وعدم الحصول على الحموضة المطلوبة في فترة التحضين ولذلك تصبح مدة التخثر طويلة والخثره غير متماسكة وعدم قبول المنتوج من قبل المستهلك ، ومن ثم صعوبة تسويقه او عدم امكانيته .

جدول (1)

أعداد بكتيريا باديء اللبن والنسبة بين البكتيريا العصوية والكروية (خلية مكونه للمستعمره /مل) في اللبن المنتج في معمل البان الموصل*

العينة	عد البكتيريا العصوية	عد البكتيريا الكروية	النسبة بين العصوية والكروية
الباديء	10×25^{4} 10×78^{4}	10×1.5^{4} 10×53^{4}	1:17 1:1.5
اللبن	10×22^{4} 10×8.8^{4}	10×3.2^{4} 10×1.5^{4}	1:7 1:6

* مكررين لكل من البادئ واللبن

حيث يفترض ان تكون النسبة 1:1(عبد الله ,1988)، ومن المعروف ان البكتريا الكروية اقل انتاجا لحامض اللاكتيك ،اذ تم تخثر الحليب بواسطة البكتريا الكروية خلال فترة 18-22 ساعة وهذه تعادل ضعف المدة التي تحتاج اليها البكتريا العصوية لتخثر الحليب(8-10 ساعات) كما اشار Robinson(1990). وعند اضافة هذين النوعين بصورة مختلطة وبنسب متساوية تتم عملية التخثر خلال 3-4 ساعات.وعند استخدام تراكيز مختلفة للمواد الصلبة غير الدهنية لوحظ ان اكثر نمو للبكتريا العصوية كان في تركيز 16% و 14%للبكتريا الكروية وكما هو موضح في جدول (2) وهذه تتفق و ما وجده Fox(1987) وPatel وChakraborty (1985). لقد أشار El-Shibiny وآخرون (1977) الى أن أفضل نسبه للمواد الصلبة الدهنية في اللبن تتراوح مابين 16.6-22.5 % وقد ايدت كامل(1999) هذه النتيجه،اذ لوحظ أن زيادة المواد الصلبة غير الدهنية تعمل على الإسراع في تكوين الحموضه إلى حد 20% ثم تبدأ بالانخفاض وان الحموضة النهائية للمنتوج توقفت تقريباً عندما وصلت نسبة المواد الصلبة اللادهنية في الوسط إلى 35%.

جدول (2)تأثير المواد الصلبة غير الدهنية في أعداد بكتيريا الباديء (خلية مكونه للسبورات/مل)

المواد الصلبة اللادهنية %	إعداد البكتريا العصوية 42مْ ،4 ساعات	إعداد البكتريا الكروية 42مْ 4ساعات
10	10×60^{6}	10×6^{6}
12	10×54^{6}	10×9^{6}
14	10×80^{6}	10×11^{6}
16	10×83^{6}	10×8^{6}
18	10×63^{6}	10×7^{6}
20	10×66^{6}	10×5^{6}

من جدول (3) يلاحظ اهمية التوازن في العدد الكلى بين بكتريا الباديء وعملية التخثر وكانت افضل نسبة 1:1 وهذة تتفق , ما ذكره Lewis(1986) و عبدالله (1988) اذ أعطت حموضة 0.83% في مدة 3 ساعات و15 دقيقة وكلما تباينت هذه النسبة بين المايكروبين اصبحت المدة الزمنية اللازمة للتخثر اطول حتى وصلت إلى 6 ساعات و 30 دقيقة.

جدول (3) التوازن في العدد بين بكتيريا باديء اللبن وتأثيره في زمن التخثر عند التحضين على 42 مْ.

البكتريا العصوية/البكتريا الكروية	مدة التخثر		الحموضة (% كحامض لاكتيك)
	دقيقة	ساعة	
1:1	15	3	0.83
2:1	45	3	0.82
3:1	10	4	0.81
4:1	15	4	0.78
5:1	صفر	6	0.77
10:1	30	6	0.74
1:2	30	3	0.80
1:3	10	4	0.90
1:4	صفر	4	0.91
5:1	15	5	0.93
1:10	صفر	6	0.96

الجدول (4) يبين ان بكتريا اللبن *S.thermophilus* اكثر حساسية من بكتريا *L.bulgaricus* للتراكيز المستخدمة من كلوريد الصوديوم وازرق المثلين . وهذه النتائج اتفقت و ما ذكره Lee وآخرون (1977) بان زيادة حساسية بكتريا *Staphylococcus aureus*

لكلوريد الصوديوم يدل على تحطم الغشاء السايتوبلازمي ، وهذا ما أكده Castro وآخرون (1997) حول زيادة حساسية بكتريا *L.bulgaricus* المجفدة ، لملح الطعام بتركيز 8%مما أدى الى ضرر الغشاء السايتوبلازمي وتمزقه ثم موت الخلايا البكتيريه، وكذلك كانت بكتريا *S.thermophilus* أعلى حساسية لازرق المثلين من بكتريا *L.bulgaricus* .لقد بين Reinbold و Reddy(1974) ان البكتريا العصوية تقاوم المضادات الحيوية اكثر من البكتريا الكروية ، وكلاهما أكثر حساسيه للمضادات الحيوية من الأنواع الأخرى من الأحياء مثل Leuconostocو Staphylococcus .

جدول (4)تاثير كلوريد الصوديوم وازرق المثلين في حساسية بكتريا باديء اللبن

المادة الكيميائية	%التراكيز المستخدمة	العدد الكلي للخلايا بعد المعاملة (خلية/مل)		%الحساسية	
		بكتريا كروية	بكتريا عصوية	بكتريا كروية	بكتريا عصوية
كلوريد الصوديوم	3	95	97	5	3
	4	91	94	9	6
	5	82	84	8	14
ازرق المثلين	0.01	85	98	13	2
	0.05	79	90	18	9.6
	0.1	63	74	**35.1**	26

لقد أفاد كل من Jurdi و Asmar (1981) بأن بكتريا بادئ اللبن حساسة لمستوى 0.003 مايكروغرام من البنسلين لكل مللتر و0.05 مايكروغرام لكل مللتر من التتراسايكلين (مأخوذة عن قصير،2004) .

ومن جدول (5) يلاحظ تاثير المضادات الحيوية (البنسلين والتتراسايكلين) في بكتريا البادئ،اذ كان تاثيرهما اقل في بكتريا *S.thermophilus* منه في بكتريا *L.bulgaricus* للتراكيز كافة ، وهذا يتعلق بطبقة السكريات العديدة الدهنية (Lipopolysaccharide) والى مركب الفوسفاتدايل كليسيرول التي تحمي طبقة الببتيدات في الجدار الخلوي ضد الفعل المحلل لانزيم اللايسوزايم (lysozyme) لطبقة البروتين الدهنية بالغشاء وضد عوامل الشد السطحي وزيادة الحساسية لملح الطعام وازرق المثلين (Bowman وآخرون، 1974) . كما وجد Oleary(1977) علاقة بين الفوسفوليبيدات والأحماض الدهنية في جدار الخلايا ومقاومتها للمضادات الحياتية.

جدول (5) تأثير بعض المضادات الحيوية في نمو بكتريا باديء اللبن

نوع البكتريا	تركيز المضادالحيوي المستخدم (%)	(المضادات الحياتية) قطر المنطقة الخالية من النمو مقاسة بالملم	
		البنسلين	التتراسايكلين
S.thermophilus	0.1	0.3	صفر
	0.5	صفر	0.2
L.bulgaricus	0.1	0.5	1.2
	0.5	0.2	0.5

من هذه الدراسة نستنتج انه بالإمكان الحصول على منتوج جيد وله مواصفات عالية ضمن امكانيات المصنع الحالية ونقترح اخذ عينات من البادىء والمنتوج بشكل دوري للتاكد من النسبة بين نوعي بكتريا البادىء وعدم وجود تلوث بالفاج أو احياء دقيقة غير مرغوب فيها مع استخدام دورات متعاقبة من سلالات البادئ المتوفرة في المصنع على ان لا يعاد استخدام البادىء نفسه يومياً مع تجديد البادىء في مدد متعاقبة كذلك على ان لاتقل نسبة المواد الصلبة في الحليب عن 12% كحد أدنى لغرض الحصول على منتوج ذي مواصفات جيدة.

المصادر

- **عبد الله ، خزعل شعبان** (1988). العوامل المؤثرة على نشاط بادىء اللبن في مصنع البان الموصل ، رسالة ماجيستير ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل.
- **قصير،مها اسماعيل** (2004). تحوير طريقه للكشف عن بقايا المضادات الحيويه فى الحليب الخام والمجفف باستخدام بادئ اللبن ودليل لوني ،رسالة ماجستير،كلية الزراعه والغابات ، جامعة الموصل.
- **كامل،عاليه شفيق** (1999).تأثير التبريد والبستره والتجميد والتركيز فى صفات اللبن وحفظه،رسالة ماجستير ،كلية الزراعه والغابات ، جامعة الموصل.

-Association of Official Analytical Chemists (1980).Official methods of anlysis 13ed.Washington DC.

-Bishop, J.R. and C. H. White(1984). Antibiotic residue detection in milk. a review : **J.Food** protection. 47: 647-652

-Brennan , M , B, Waismail, M .C.Johnson and B. Ray (1986) . Cellulardamage in dried *Lactobacillus acidophilus* . J. Food Protection.49:53

-Bowman, H. G, K. Nordstrom, and S . Norwark (1974).resistance in *E. coli.* Annals New Academy of Sciences. Penicillin

-Castro , H. P., P. M. Teixera, and R.Kiby (1997).Evidence of membrancedamage in *Lactobacillus bulgaricus* following freeze drying .J. Applied Microbiology,82:87-94

- **Deeth, H. C** (1984). Yoghurt and cultured products. The Australian J.fDairyTech. 39:111-113.

-Diliello, L. R. (1982). Methods in food and dairy microbiology. AVI Pub. Co. Inc, west port Connecticut.

-El-Shibiny, S. ; I .Chita and S.M.Abdou (1977). The use of skim milk Powder in the manufacture of yoghurt .Egyptian J. Dairy Sci. 5:109-115

- **Fox, P. F**. (1987) Cheese :Chemistry, Physics and Microbiology .

- **Elsevier Applied Science Pub. Ltd.England. Jurdi, D. A. and J.A. Asmar** (1981) .Use of simple fermentation test to detect antibiotic residues in milk. J. Food protection. 44: 674-676

-Lee, S. K, P. H. Calcott, and R. A. Macleod (1977). Relationship of cytochrome content to the sensitivity of bacteria to NaCl on freezing and thawing. Canada, J. Microbiology, 23: 413-419.

-Lewis, J. E.(1986). Cheese starter development and application of the Lewis system. Elsevier Applied Science Publishers.

-Mitchell, L. and W. E. Sandine(1984) .Associative growth and differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* :a review . J. Food protection 47: 45-48

-Oleary , W. M. (1977) . Studies of the utilization of C^{14} labeled octadencanoic acid by *Lactobacillus arabinosa*. J. of Bacteriology. 77:367-373.

-Rajagopal , S . N.and W. E. Sandine (1990) . Associative growth and Proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in skim milk . J. Dairy Sci. 73: 894-899

-**Reinbold , G. W. and M. S. Reddy** (1974) .Sensitivity or resistance of dairy starter and associated microorganisms to selected antibiotics. Journal of milk food technology 37: 517-521

-**Patel, R. S.and B. K. Chakraborty** (1985). Activity of yoghurt culture in different milk solid not fat systems. Egy. J. Dairy Sci., 13:177-183.

-**Robinson, R. K.** (1990).Dairy microbiology. Elesevier Applied SciencePublishers,Ltd England , vol.2 p.31-190 and P.576 Sellars products. Hansens Labiology Inc. Wisconsin.

-**Tamime, A. Y.** (1977). The behaviour of different starter cultures during the manufacture of yoghurt from hydrolysed milk. Dairy Industries International, 42:7-11.

-**Tamime, A. Y. and H. C. Deeth** (1980) . Yoghurt technology and biochemistry .a review, J. Food Protection, 43:939.

-**Tamime, A. Y. and R. K. Robinson** (1985). Yoghurt science and technology.pergam press. England

SOME PROPERTIES OF YOGHURT AND STARTER IN MOSUL DAIRY FACTORY

Mahmoud A. Ayed **H.S.Mohammed** **H.A.Sadik**

ABSTRACT

The aim of this study was to identify the reasons of yoghurt starter weakness to produce a good quality yoghurt which may cause an economic loss to the dairy industry .Samples of yoghurt and its starter were collected from mosul dairy factory for a period of one year .This study involved the ratio between starter microorganisms *Lactobacillus bulgaricus*(*Lactobacillus delbrueckii ssp.bulgaricus*)and *Streptococcus thermophilus*(*Streptococcus salivarius ssp.thermophilus*) and their effect on the starter activity.The optimum ratio was found to be 1:1 on basis of 3 hours coagulation period and 0.83% titratable acidity.Also the effect of different concentrations of solid not fat (SNF) on total count of starter bacteria and the effect of some chemicals and antibiotics were investigated . Results revealed that the best percentage of SNF for bacterial growth was 16% to give 83×10^6 cfu/ml .of *L.bulgaricus* and 14% to give 11×10^6 cfu/ml .of *S.thermophilus*. *S.thermophilus* was more sensitive than *L.bulgaricus* against blue , penicillin and tetracycline. concentrations of NaCl,methylene