

تأثير إضافة الأغذية الوظيفية (البروبيوتيك) في مدة حفظ اللبن الرائب

أحمد النداف⁽¹⁾ و سمير سليق⁽²⁾ و عمر زمار⁽³⁾

الملخص

أجريت الدراسة بهدف إطالة مدة صلاحية اللبن الرائب لمدة 42 يوماً بإضافة الأغذية الوظيفية (البروبيوتيك probiotics) المؤلفة من *Lactobacillus acidophilus LA-5* و *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* إلى الحليب المخصص لصناعة اللبن الرائب ودرست مدة صلاحية اللبن الناتج على درجتي حرارة 1 ± 4 °س و 1 ± 10 °س. حددت بعض الخصائص الميكروبية والكيميائية والحسية للبن الناتج خلال الأيام 0 و 7 و 14 و 21 و 28 و 35 و 42 من مدة التخزين. أشارت نتائج تحليل الخصائص الميكروبية أن القوة الحيوية للبائى استمرت مدة 7 أيام في عينة الشاهد في حين استمرت مدة 35 يوماً للعينة الحاوية على *Lactobacillus acidophilus LA-5* أو *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* عند التخزين على الدرجة 1 ± 4 °س. ولم يلاحظ اختلاف كبير بالنتائج لدى التخزين عند الدرجة 1 ± 10 °س. كما أن إضافة البروبيوتيك لم تؤثر في طعم اللبن الرائب ورائحته في العينة وفي مستويات الحموضة، كما انخفضت قيم الخصائص الحسية للبن خلال مدة التخزين. وقد تبين أنه يمكن استهلاك عينة الشاهد بشكل صالح للاستهلاك حتى 7 أيام من التخزين في حين استمرت مدة الاستهلاك حتى 35 يوماً من التخزين في العينات الحاوية على البروبيوتيك.

الكلمات المفتاحية: اللبن الرائب، الأغذية الوظيفية (البروبيوتيك)، الصلاحية، مدة التخزين.

(1) طالب دكتوراه، (2) أستاذ، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، ص. ب 30621، جامعة دمشق، (3) مدرس، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة البعث، سورية.

The effect of adding probiotics in shelf life of yoghurt

ALNaddaf, A.⁽¹⁾, S. Slik⁽²⁾ and A. Zamar⁽³⁾

Abstract

This study was conducted in order to prolong the period of validity of yoghurt by adding probiotics consisted of *Lactobacillus acidophilus LA-5* and *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* to milk allocated to yoghurt industry and studied the microbial, chemical and sensory characteristics of yoghurt during storage periods for 0, 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days at 4 ± 1 °C and 10 ± 1 °C. The results of microbial characteristics showed that the vital force of the first starter lasted for 7 days in the control samples while lasted for 35 days for the sample containing *Lactobacillus acidophilus LA-5* or *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* when stored at 4 ± 1 °C. Adding probiotics did not affect the taste, smell and pH of the yoghurt without change in the property values during storage periods. It was also found that the shelf – life of control samples can be prolonged and consumed safely up to 7 days of storage while it was prolonged for 35 days in yoghurt samples containing probiotics.

Key words: Yoghurt, Probiotics, Shelf-life, validity.

⁽¹⁾PhD student, ⁽²⁾ Professor. ⁽³⁾ Assistant Prof., Food Sci. Dept. Fac. Agr, Albaath Univ., Syria.

المقدمة

يُعد اللبن الرائب الغني بالمغذيات من أكثر منتجات الألبان المخمرة شيوعاً في العالم. ونسبت على مر السنين التأثيرات الصحية المفيدة للبن الرائب إلى المواد المغذية الموجودة فيه والبكتريا اللبنية *Streptococcus thermophilus - Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* فضلاً عن الأغذية الوظيفية probiotics في حال إضافته، ومع ذلك تضيفي البكتريا اللبنية الفوائد الصحية على اللبن عندما توجد بالتراكيز الموصى بها من 610 إلى 810 خلية/مل وقت الاستهلاك (Shah و Vasiljevic، 2008؛ Ross وزملاؤه، 2005).

تعود الشهرة الواسعة والاستهلاك الكبير للبن الرائب إلى القيمة الغذائية والتأثيرات العلاجية لبكتريا البادئ خلال التخمير. إذ يتمتع بتأثيرات وقائية وعلاجية ضد معظم الأمراض. ويتمتع بتأثيرات مضادة للجراثيم، ومضادة للسرطان، وخافضة للكوليسترول في الدم فضلاً عن التأثيرات العلاجية الأخرى.

تتخفف الجدوى التغذوية والقوة الحيوية عادةً للألبان في أثناء التخزين بالتبريد بسبب التغيرات المختلفة في ظروف بيئة التخزين، مثل انخفاض الرقم الهيدروجيني مع زيادة شدة الأوكسجين والأكسدة المحتملة، فضلاً عن تراكم بيروكسيد الهيدروجين (Sarkar، 2008؛ Dave و Shah، 1997؛ Donkor وزملاؤه، 2006؛ Lourens و Viljoen، 2001؛ Vasiljevic وزملاؤه، 2007).

يمثل تطوير استراتيجيات من شأنها تمديد بقاء البكتريا اللبنية في اللبن بفاعلية تحدياً واضحاً لمصنعي اللبن الرائب والباحثين على حد سواء. وُجدت عدة آليات لتحسين صلاحية البكتريا اللبنية في منتجات الألبان المخمرة باستخدام الوسائل التي تعتمد على الإضافات أو عن طريق تغيير شروط التصنيع التكنولوجية أو تغيير صفات بعض السلالات.

تعرف Probiotics بشكل شائع بأنها ميكروبات حية تمنح فوائد صحية للمستهلك، وتستعمل كثير من الأجناس والأنواع البكتيرية بشكل شائع في المنتجات التجارية. وتشمل أنواع *Lactobacillus* و *Bifidobacterium*. طورت وسوقت في أوروبا وأمريكا الشمالية والشرق الأقصى (Young وزملاؤه، 2002؛ Gilland وزملاؤه، 2002). ووتقت مواصفات *Lactobacillus spp* توثيقاً جيداً، ولكن الأدوار الممكنة للـ *bifidobacteria* التي تمتصُ قد قيمت بشكل أقل. إن أهمية *bifidobacteria* فيما يخص العملية الصحية لجهاز الهضم عند الإنسان تشجع استهلاك مثل هذه المنتجات (Gilland وزملاؤه، 2005؛ Chou و Weimer، 1999). وتتمثل فوائدها الصحية بتزويد الجسم ببروتينات وفيتامينات محسنة، الوقاية من الإمساك، نشاط مضاد للبكتريا، تعالج أضرار الكبد، نشاط مضاد للأورام، تحفيز

استجابة الجهاز المناعي، تخفيض مستويات كوليستيرول الدم، تحسين استقلابات قابلية هضم اللاكتوز (Sanders، 1993؛ Ishibashi و Shimamura، 1993).

إن اندماجها كإضافات غذائية في منتجات الحليب المخمر المختلفة يُعطي منتجاً ذا قيمة صحية عالية فضلاً عن ارتفاع ضخم لاستهلاك ما يدعى بمنتجات المفيدة صحياً في البلدان المتطورة (Mccann وزملاؤه 1996؛ Adhikari وزملاؤه، 2000).

من بين منتجات الألبان يعدُّ اللبن الناقل المثالي للإفادة من هذه البكتيريا (Probiotics) Hoover و Hughes (1991). ومن أجل أي من هذه المنتجات فإن بقاء probiotics حية خلال فترة تخزين المنتج وفي وقت استهلاكه يعطي فوائد صحية مهمة جداً (Sheu و Marshall، 1993؛ Mccann وزملاؤه، 1996؛ Adhikari وزملاؤه، 2000).

ثبت حديثاً أن الفوائد العلاجية للبن الرائب لا تتحقق إلا عند تناوله باستمرار مع الإبقاء على بكتيريا حمض اللبن حية فيه. كما استطاع Aly (2007) أن يحافظ على القوة الحيوية لبكتيريا البادئ مدة 35 يوماً عن طريق إضافة بكتيريا البروبيوتيك. فضلاً عن ذلك عُزلت بعض المضادات الحيوية التي تنتجها هذه البكتيريا عند نموها مؤدية إلى قتل البكتيريا المرضية والبكتيريا المسببة للفساد مثل الـ *Enterobacteria*.

فمثلاً تفرز بكتيريا الـ *Lactobacillus acidophilus* مضاداً حيوياً يدعى *Lactocidine* وبكتيريا الـ *Lac. bulgaricus* مضاداً حيوياً يدعى *bulgaricane*. وهذه المضادات الحيوية فعالة ضد عدد كبير من البكتيريا المرضية ممّا يسهم في القيمة العلاجية للبن الرائب. كما أن أنواع بكتيريا البروبيوتيك تنتج مضادات حيوية مثل البانكتريوسين تقضي على الخمائر والعفن دون أن تؤثر في بكتيريا البادئ (Carlsen، 2001).

أكد Minekus و Tenbrink (2004) أن البكتيريا النافعة تقاوم الأمراض وتطرد السموم وتقوي الجهاز المناعي، كما تمكن من الحفاظ على القوة الحيوية لبكتيريا البادئ مدة 35 يوماً عن طريق إضافة *Lactobacillus acidophilus* وهي نوع من أنواع بكتيريا البروبيوتيك التي يمكن إضافتها إلى اللبن الرائب، ومحببة للحموضة العالية ونافعة للإنسان وعملها المساعدة على عملية هضم البروتينات التي ينتج من خلالها حمض اللاكتيك وهيدروجين بيروكساييد وإنزيمات وفيتامينات (B) المركبة، وكذلك مواد مضادة للجراثيم في اللبن.

تعدُّ قدرة بكتيريا البروبيوتيك على تحمل الأوكسجين والأحماض والأملاح الصفراء من التحديات المرتبطة بإضافتها إلى الغذاء، وللتغلب عليها استعملت سلالات مقاومة للأوكسجين والحموضة، ومنهم من استعمل الأحماض الأمينية والبيبتيدات كملتقطات الأوكسجين مثل L-cysteine-HCL وحمض الاسكوربيك (Shah و Dave، 1997؛ Gobbetti وزملاؤه، 1998؛ Champagne وزملاؤه، 2005). ومنهم من استعمل Micro-

encapsulation التي تحتوي بداخلها على بكتريا البروبيوتيك (Rao وزملاؤه، 1999)، وكذلك استعملت بكتريا البادئ *Streptococcus thermophilus* التي تقوم باستهلاك الأكسجين وبذلك تعزز من نمو بكتريا البروبيوتيك (Okonogi وزملاؤه، 1994).

الأهداف

دراسة تأثير إضافة البروبيوتيك في مدة حفظ اللبن الرائب واختيار أفضل نوع منها للبن للمحافظة على القوة الحيوية والمواصفات الكيميائية والحسية له.

مواد البحث وطرقه

باستخدام حليب ذي نوعية جيدة لإنتاج اللبن وبالإستعانة ببادئ خاص بتصنيع اللبن المؤلف من (*Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*) من شركة هانسن (الدنمارك)، إذ حُضرت مزرعة الأم من البادئ التجاري باستخدام حليب خالي الدسم ذي نوعية جيدة وبمواصفات عالية. وذلك بوضع نحو 100 مل حليب الخالي الدسم في زجاجة ونغلقها جيداً. تبستر الزجاجة بمحتوياتها في الدرجة 90م° مدة 30 دقيقة، ثم تبرد لدرجة حرارة التحضين وهي 42-45م°.

ثم أُضيفَ إلى الحليب المبستر في الزجاجة كمية من البادئ التجاري بالنسبة الموصى بها من الشركة الصانعة، ووضعت زجاجة الحليب الملقحة في حاضنة في الدرجة 42-45 م° مدة 4 ساعات حتى يتخثر الحليب. بعد ذلك بردت إلى درجة حرارة الغرفة العادية مدة 30 دقيقة، ثم بعد ذلك نقلنا الزجاجة إلى البراد بدرجة 4 م° حتى اليوم التالي (يسمى الناتج بالمزرعة الأم).

وفي اليوم التالي نُقلَ جزء من المزرعة الأم بنسبة 3% إلى زجاجة حليب سعتها 100 مل حاوية على حليب خالي الدسم، معقمة ومبردة كالسابقة إلى درجة حرارة التحضين (يسمى هذا الناتج بالمزرعة الوسيط). استخدمت هذه المزرعة في تلقیح الحليب المعد للإنتاج بنسبة 3%.

نُشِطت بكتريا البروبيوتيك من شركة هانسن (الدنمارك) *Lactobacillus acidophilus* و *LA-5* و *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* من خلال مرحلتين اثنتين استخدم في الأولى حليب مجفف خالي الدسم المعاد تشكيله بنسبة 12% أُضيف إليه 0.05% من L-cysteine – HCL (من شركة Sigma أمريكيا) كملتقط للأكسجين ومصدر للنيتروجين و 1.2% (وزن/حجم) من مستخلص الخميرة و 2% (وزن/حجم) من سكر الغلوكوز، وسخن بحرارة 90س° لمدة نصف ساعة ثم برد إلى الدرجة 37س°، ويلي ذلك إضافة 1 غ من بكتريا البروبيوتيك إلى الحليب المعاد تشكيله، وحضن الحليب

في حاضنة لاهوائية عند الدرجة 37°س مدة 4 ساعات (Shah و Dave، 1997؛ Ong وزملاؤه، 2006؛ Ong وزملاؤه، 2007).

أما المرحلة الثانية فتُنقل كمية 1 مل من الحليب الملقح السابق إلى حليب مجفف خالي الدسم المعاد تشكيله بنسبة 12% أُضيف إليه 0.05% من L-cysteine - HCL و 1.2% (وزن/حجم) من مستخلص الخميرة و 2% (وزن/حجم) من سكر الغلوكوز ومعامل حرارياً ويحضن الحليب مرة أخرى في ظروف لاهوائية بدرجة حرارة 37°س مدة 4 ساعات، وبعد ذلك يحفظ مبرداً إلى حين الاستعمال الخلايا.

تصنيع اللبن: استُخدم حليب حددت خواصه الكيميائية بواسطة جهاز ملك سكان (صناعة ألمانيا) (الجدول 1).

الجدول (1) التركيب الكيميائي للحليب المستخدم في تحضير عينات اللبن.

التحليل	النتيجة
الدسم %	3.65%
المادة الصلبة الكلية %	13.04%
اللاكتوز %	4.90%
البروتين %	3.54%
pH	6.75
الحموضة القابلة للمعايرة %	0.17%

حيث يُستمر الحليب عند الدرجة 90°س مدة 20 دقيقة ويرد إلى درجة 44±1°س، ومن ثمّ لقع بمزرعة بادئ بنسبة 3%. وحُضرت العينات الآتية (الجدول 2).

الجدول (2) توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل.

الرقم	التوصيف
1	صُنِع اللبن دون إضافة بروبيوتيك كشاهد عند درجة تخزين 4°م
2	صُنِع اللبن دون إضافة بروبيوتيك كشاهد عند درجة تخزين 10°م
3	صُنِع اللبن مع إضافة <i>Lactobacillus acidophilus LA-5</i> عند درجة تخزين 4°م
4	صُنِع اللبن مع إضافة <i>Lactobacillus acidophilus LA-5</i> عند درجة تخزين 10°م
5	صُنِع اللبن مع إضافة <i>Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)</i> عند درجة تخزين 4°م
6	صُنِع اللبن مع إضافة <i>Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)</i> عند درجة تخزين 10°م
7	صُنِع اللبن مع إضافة <i>B.animalis subsp lactis (Bb12)+ L.acidophilus LA-5</i> عند درجة تخزين 4°م
8	صُنِع اللبن مع إضافة <i>B.animalis subsp lactis (Bb12)+L.acidophilus LA-5</i> عند درجة تخزين 10°م

في البداية حُضرت عينه الشاهد دون إضافة البروبيوتيك، وبعد ذلك حُضرت عينات اللبن المضاف إليها البروبيوتيك بنسبة 1% مع البادئ؛ وذلك في عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg. ثم حضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±0.1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجة الباءهء (pH) 4.6-4.7. وبعد التحضين بُردت

العينات جميعها إلى 4°س، ثم خزنت عينات اللبن (7،5،3،1) عند درجة حرارة 4°س و(8، 6، 4، 2) عند درجة تخزين 10°س وأجريت التجارب بتكرار مضاعف، ونفذت القياسات جميعها في اللبن خلال الأيام 0 و7 و14 و21 و28 و35 و42 يوماً.

التحليل الكيمائي للبن المصنع: قيس قيم الباهاء اللبن باستخدام مقياس pH الرقمي (UK،WTW pH-3510) بحسب AOAC (2000)، وذلك خلال مدد التخزين.

التحليل الميكروبيولوجي للبن المصنع:

تعداد بكتريا حمض اللبن وبكتريا البروبيوتيك:

حُضرت التخفيفات العشرية عن طريق مجانسة، وبشكل هادئ، العينة المراد دراستها، ومن أخذت بواسطة ملعقة خاصة معقمة 10 غ من العينة، ووضعت في دورق معقم يحوي 90 مل محلول التخفيف المعقم الذي يتألف من (تريبتون كازئين 0.5 Tryptic casein غ ، بيتون لحم 0.5 Peptone meat غ، ماء مقطر 1000 Distilled water مل). أُجريت المجانسة مدة 1 دقيقة ومن ثم استكملت بمحلول التخفيف ذاته حتى 100 غ للحصول على تخفيف قدره 10^{-1} وهو مايسمى بالمعلق الأم. ثم أضيف 1 مل من المعلق الأم وبواسطة ماصة معقمة إلى أنبوب يحوي 9 مل من محلول التخفيف السابق المعقم، مزج مدة 10 دقائق في محرك اهتزازي فحصلنا على تخفيف قدره 10^{-2} وتابعنا بالخطوات السابقة نفسها وحصلنا على التخفيفات العشرية المطلوبة.

تعداد بكتريا *Streptococcus thermophilus* باستخدام بيئة M17 من شركة Sigma أمريكا. أذيبت البيئة في الماء المقطر بواسطة التسخين والتحرك ثم تركت لتبرد قليلاً، وضبط الـ pH حتى تكون نحو 7.1 وعقمت على درجة 121°س مدة 20 دقيقة.

بعد أن أصبحت البيئة جاهزة ومُعقمة، وضعت في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً وسكبت فوقها نحو 15 مل من البيئة المسالة والمحافظ على حرارتها نحو 45-46°م، مزجت ثم تركت لتتجمد البيئة وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 45°م مدة 48 ساعة وتم ملاحظة المستعمرات المتشكلة وأجريت عملية العد لها.

تعداد بكتريا *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* باستخدام بيئة MRS (Sharpe، Rogosa، Man) أغار من شركة Sigma أمريكا. أذيبت البيئة في الماء بالتسخين والتحرك حتى الغليان، ثم ضبطنا الـ pH للبيئة بوساطة حمض الخل (الاسيتيك) Acetic acid حتى يصبح نحو 0.1 ± 5.4 ، ثم عقمنا بدرجة حرارة 121°س مدة 20 دقيقة. بعد ذلك وضعنا في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً، وسكبنا فوقها نحو 15 مل من البيئة المسالة والمحافظ على حرارتها نحو 45-46°س، مزجت ثم تركت لتتجمد البيئة وحضنت بدرجة حرارة 37°س مدة 72

ساعة وذلك بوضع الأطباق في جرة الظروف اللاهوائية أي إن التحضين أجري في ظروف لاهوائية وبعد انقضاء مدة التحضين اللازمة 3 أيام عُدَّت المستعمرات المتشكلة.

تعداد بكتريا *Lactobacillus acidophilus* LA-5 باستخدام بيئـة MRS (Man، Sharpe، Rogosa) أغار من شركة Sigma أمريكا. أُذبيت البيئـة في الماء بالتسخين والتحريك حتى الغليان مع إضافة 0.05% من L-cysteine- HCL، ثم ضبطت الـ pH للبيئـة بوساطة حمض الخل (الاسيتيك) Acetic acid حتى يصبح نحو 0.1 ± 5.4 ، ثم عقت بدرجـة حرارة 121°س مدة 20 دقيقة. وضع في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً وسكبنا فوقها نحو 15 مل من البيئـة المسالة والمحافظ على حرارتها نحو 45-46°س، مزجت ثم تركت لتتجمد البيئـة وحضنت بدرجـة حرارة 37°س مدة 72 ساعة، وذلك بوضع الأطباق في جرة الظروف اللاهوائية، أي إن التحضين أجري في ظروف لاهوائية وبعد انقضاء مدة التحضين اللازمة 3 أيام عُدَّت المستعمرات المتشكلة.

تعداد بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp lactis* (Bb12) باستخدام البيئـة المتصلبة Bifidus Selective Medium Agar (pH 6.8) (Hartemink وزملاؤه، 1996؛ Aguilar وزملاؤه، 2008). وأضيف إليها 116 مغ/ل من BSM supplement من شركة Sigma أمريكا، وهو عبارة عن خليط من المضادات الحيوية يمنع نمو الميكروبات الأخرى، ويكون لون المستعمرة على هذه البيئـة بنفسجياً، ولكن عندما تنخفض مركبات النيتروجين في الوسط يكون لون المستعمرة وردياً (بحسب تعليمات الشركة الصانعة Sigma) وتحضن الأطباق بدرجـة حرارة 37°س بظروف لاهوائية مدة 3 أيام.

تعداد الخمائر والفطور: باستخدام بيئـة Potato Dextrose Agar من شركة Biolife إيطاليا. أُذبيت البيئـة في الماء بالتسخين والتحريك حتى الغليان، ثم ضبطت الـ pH للبيئـة حتى يصبح نحو 5.5-6 ثم عقمنا بدرجـة حرارة 121°س مدة 15 دقيقة. بعد ذلك وضعت في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً، وسكبنا فوقها نحو 15 مل من البيئـة المسالة والمحافظ على حرارتها نحو 45-46°س، مزجت ثم تركت لتتجمد البيئـة وحضنت بدرجـة حرارة 25°س مدة 4 أيام، وبعد انقضاء مدة التحضين عُدَّت المستعمرات المتشكلة مع الأخذ بالحسبان الأطباق الحاوية بين 30-300 مستعمرة.

تحليل الخصائص الحسية:

قُيِّمت العينات حسياً عن طريق لجنة مؤلفة من 14 عضواً باستخدام مقياس التقييم الحسي من Hedonic Scale، إذ أعطيت كل صفة من الصفات الحسية درجـة من 1 إلى 9 (Lawless و Heymann، 1999). للخصائص جميعها (القوام، والرائحة، والطعم، والقبول كمنتج) وكانت اللجنة من غير المدخنين وعلى اطلاع تام بمنتجات مشتقات الحليب المنخمرة. الاستماع قراءة صوتية للكلمات القاموس - عرض القاموس المفصل.

أجري التحليل الإحصائي للبيانات باستخدام تحليل التباين (ANOVA) باستخدام برنامج SPSS 16 وحسبت قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D 0.05).

النتائج والمناقشة

1- نتائج تغير الـpH لعينات اللبن المحضر في أثناء مدد التخزين: يلاحظ من الجدول (3) أن أغلب العينات أوقفت التحضين عند قيمة pH قريبة من 4.61 ± 0.01 ، أي أن جميع العينات تخثرت وتحولت إلى لبن. بالنسبة إلى عينات الشاهد عند درجة تخزين 4°C و 10°C لم تصبح صالحة للاستهلاك بعد 7 أيام من التخزين مع ملاحظة رائحة الحموضة العالية وطعمها في العينات. في حين في العينات التي أضيف إليها البروبيوتيك *L.acidophilus LA-5* لوحظ انخفاض قيمة الـpH أقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على مواصفاتها مدة 35 يوماً. إذ لم تصبح العينتان صالحتين للاستهلاك عند 42 يوماً، فضلاً عن ملاحظة رائحة الحموضة العالية وطعمها في العينات. أما العينات التي تم إضافة البروبيوتيك *B.animalis subsp lactis (Bb12)* كان نسبة انخفاض الـpH بدرجة أقل من عينات الشاهد، واستطعنا عن طريق إضافة البروبيوتيك *B.animalis subsp lactis (Bb12)* عند الدرجة 4°C و 10°C الوصول إلى قيمة الـpH 4.49 ± 0.03 و 4.47 ± 0.027 على التوالي ولم تعد العينات صالحة للاستهلاك بعد 35 يوماً من التخزين.

الجدول (3) تغير الـpH عند درجة تخزين 4°C و 10°C لعينات اللبن الرائب المحضرة

		زمن التخزين (يوم) / pH						نوع المعاملة
42	35	28	21	14	7	0		
	-	-	-	0.02 ± 4.42^b	0.01 ± 4.58^a	0.02 ± 4.61^a	شاهد / 4°C	
0.02 ± 4.42^{bc}	0.02 ± 4.45^d	0.01 ± 4.47^d	0.01 ± 4.51^c	0.02 ± 4.57^b	0.02 ± 4.59^{ab}	0.01 ± 4.61^a	<i>L.acidophilus LA-5</i> / 4°C	
0.01 ± 4.41^b	0.03 ± 4.49^d	0.03 ± 4.51^d	0.02 ± 4.55^c	0.01 ± 4.58^{bc}	0.01 ± 4.60^{ab}	0.02 ± 4.62^a	<i>B.animalis subsp lactis</i> / 4°C	
0.01 ± 4.42^{bc}	0.03 ± 4.45^c	0.02 ± 4.53^{dc}	0.02 ± 4.56^{cd}	0.02 ± 4.58^{bc}	0.01 ± 4.60^{ab}	0.01 ± 4.62^a	<i>Bb(12) + LA-5</i> / 4°C	
	-	-	-	0.01 ± 4.41^c	0.02 ± 4.55^b	0.01 ± 4.61^a	شاهد / 10°C	
0.01 ± 4.41^b	0.02 ± 4.44^d	0.03 ± 4.46^d	0.01 ± 4.50^c	0.02 ± 4.54^{bc}	0.02 ± 4.56^b	0.01 ± 4.61^a	<i>L.acidophilus LA-5</i> / 10°C	
0.01 ± 4.40^a	0.02 ± 4.47^d	0.01 ± 4.50^c	0.01 ± 4.53^c	0.02 ± 4.55^{bc}	0.02 ± 4.58^{ab}	0.02 ± 4.61^a	<i>B.animalis subsp lactis</i> / 10°C	
0.01 ± 4.41^b	0.03 ± 4.44^d	0.01 ± 4.52^{cd}	0.01 ± 4.54^c	0.02 ± 4.55^{bc}	0.01 ± 4.58^b	0.02 ± 4.62^a	<i>+LA-5 Bb(12)</i> / 10°C	

تشير الاختلافات بين الأحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فرق معنوي ($p > 0.05$) بين العينات.

أما العينات التي تحوي *L.acidophilus LA-5*+*Bb12* فقد كان الانخفاض في قيمة الـpH أقل بكثير من عينات الشاهد، واستطاع *L.acidophilus LA-5* المحافظة على اللبن الرائب مدة 35 يوم حيث وصلت قيمة الـpH إلى 4.45 ± 0.03 و 4.44 ± 0.03 على التوالي. ولم تؤثر اختلاف درجة حرارة التخزين على قيمة الـpH وربما يفسر ذلك بأن بكتريا البادئ يكون نشاطها ضعيفا عند درجة حرارة 10°س وأقل وهذا يتوافق مع Bonczar وزملائه (2002).

2- نتائج التقييم الحسي: أُجري تقييم حسي لعينات اللبن الرائب المحضرة، وقُورنت بعينة الشاهد؛ وذلك خلال مدد التخزين 0 و 7 و 14 و 21 و 28 و 35 و 42 يوماً، والجدول (4) يوضح نتائج هذا التقييم وفق الدرجات الآتية: 9 (دلت على صفة جيد جداً)، 8 (جيد)، 7 (متوسط)، 6 (مقبول)، 5 (ضعيف)؛ وذلك بحسب ماورد في Lawless و Heymann (1999).

الجدول (4) نتائج التقييم الحسي للبن الرائب المحضر من دون إضافة البروبيوتيك ومع الإضافه

زمن التخزين 0					نوع المعاملة
المتوسط الحسابي	القبول كمنتج	الطعم	الرائحة	القوام	
9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	شاهد / 4°م
9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	4°م/ <i>L.acidophilus LA-5</i>
8.25 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	9.00 ^a	4°م/ <i>B.animalis subsp lactis (Bb12)</i>
7.25 ^d	6.00 ^d	7.00 ^c	7.00 ^c	9.00 ^a	4°م / <i>Bb(12) +LA-5</i>
9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	شاهد / 10°م
9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	9.00 ^a	10°م/ <i>L.acidophilus LA-5</i>
8.00 ^c	7.00 ^c	8.00 ^b	8.00 ^b	9.00 ^a	<i>B.animalis subsp lactis</i>) 10°م/ <i>(Bb12)</i>
7.25 ^d	6.00 ^d	7.00 ^c	7.00 ^c	9.00 ^a	10°م/ <i>Bb(12) +LA-5</i>
زمن التخزين 7 أيام					نوع المعاملة
المتوسط الحسابي	القبول كمنتج	الطعم	الرائحة	القوام	
8.25 ^a	8.00 ^a	8.00 ^a	8.00 ^a	9.00 ^a	شاهد / 4°م
9.00 ^c	9.00 ^c	9.00 ^c	9.00 ^c	9.00 ^a	4°م/ <i>L.acidophilus LA-5</i>
8.25 ^a	8.00 ^a	8.00 ^a	8.00 ^a	9.00 ^a	4°م/ <i>B.animalis subsp lactis (Bb12)</i>
7.25 ^d	6.00 ^d	7.00 ^b	7.00 ^b	9.00 ^a	4°م / <i>Bb(12) +LA-5</i>
7.50 ^b	7.00 ^b	7.00 ^b	7.00 ^b	9.00 ^a	شاهد / 10°م
9.00 ^c	9.00 ^c	9.00 ^c	9.00 ^c	9.00 ^a	10°م/ <i>L.acidophilus LA-5</i>
8.00 ^a	7.00 ^b	8.00 ^a	8.00 ^a	9.00 ^a	<i>B.animalis subsp lactis</i>) 10°م/ <i>(Bb12)</i>
7.25 ^d	6.00 ^d	7.00 ^b	7.00 ^b	9.00 ^a	10°م/ <i>Bb(12) +LA-5</i>

زمن التخزين 14 يوماً					نوع المعاملة
المتوسط الحسابي	القبول كمنتج	الطعم	الرائحة	القوام	
5.25 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	9.00 ^a	شاهد / 4م [°]
8.25 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	9.00 ^a	4م/L.acidophilus LA-5
8.25 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	9.00 ^a	4م/B.animalis subsp lactis (Bb12)
7.25 ^d	6.00 ^d	7.00 ^c	7.00 ^c	9.00 ^a	4م / Bb(12) +LA-5
5.25 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	9.00 ^a	شاهد / 10م [°]
8.25 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	8.00 ^b	9.00 ^a	10م/L.acidophilus LA-5
8.00 ^c	7.00 ^c	8.00 ^b	8.00 ^b	9.00 ^a	B.animalis subsp lactis) 10م/(Bb12
7.25 ^d	6.00 ^d	7.00 ^c	7.00 ^c	9.00 ^a	10م/Bb(12) +LA-5
زمن التخزين 21 يوماً					نوع المعاملة
المتوسط الحسابي	القبول كمنتج	الطعم	الرائحة	القوام	
8.25 ^a	8.00 ^a	8.00 ^a	8.00 ^a	9.00 ^a	4م/L.acidophilus LA-5
8.00 ^c	7.00 ^b	8.00 ^a	8.00 ^a	9.00 ^a	4م/B.animalis subsp lactis (Bb12)
7.25 ^d	6.00 ^c	7.00 ^b	7.00 ^b	9.00 ^a	4م / Bb(12) +LA-5
7.50 ^b	7.00 ^b	7.00 ^b	7.00 ^b	9.00 ^a	10م/L.acidophilus LA-5
7.50 ^b	7.00 ^b	7.00 ^b	7.00 ^b	9.00 ^a	B.animalis subsp lactis) 10م/(Bb12
7.25 ^d	6.00 ^c	7.00 ^b	7.00 ^b	9.00 ^a	10م/Bb(12) +LA-5
زمن التخزين 28 يوماً					نوع المعاملة
المتوسط الحسابي	القبول كمنتج	الطعم	الرائحة	القوام	
7.75 ^a	8.00 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	9.00 ^a	4م/L.acidophilus LA-5
7.50 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	9.00 ^a	4م/B.animalis subsp lactis (Bb12)
7.00 ^d	7.00 ^c	6.00 ^b	6.00 ^b	9.00 ^a	4م/Bb(12) +LA-5
7.50 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	9.00 ^a	10م/L.acidophilus LA-5
7.25 ^c	6.00 ^b	7.00 ^a	7.00 ^a	9.00 ^a	B.animalis subsp lactis) 10م/(Bb12
6.75 ^d	6.00 ^c	6.00 ^b	6.00 ^b	9.00 ^a	10م/Bb(12) +LA-5
زمن التخزين 35 يوماً					نوع المعاملة
المتوسط الحسابي	القبول كمنتج	الطعم	الرائحة	القوام	
7.75 ^a	8.00 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	9.00 ^a	4م/L.acidophilus LA-5
7.25 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	6.00 ^a	9.00 ^a	4م/B.animalis subsp lactis (Bb12)
6.75 ^d	6.00 ^c	6.00 ^b	6.00 ^b	9.00 ^a	4م/Bb(12) +LA-5
7.50 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	7.00 ^a	9.00 ^a	10م/L.acidophilus LA-5
7.00 ^c	6.00 ^b	6.00 ^a	7.00 ^a	9.00 ^a	B.animalis subsp lactis) 10م/(Bb12
6.75 ^d	6.00 ^c	6.00 ^b	6.00 ^b	9.00 ^a	10م/Bb(12) +LA-5

زمن التخزين 42 يوماً					نوع المعاملة
المتوسط الحسابي	القبول كمنتج	الطعم	الرائحة	القوام	
5.25 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	9.00 ^a	°4/L.acidophilus LA-5
5.25 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	9.00 ^a	°4/B.animalis subsp lactis (Bb12)
6.00 ^b	5.00 ^b	5.00 ^b	5.00 ^b	9.00 ^a	°4/Bb(12) +LA-5
5.25 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	9.00 ^a	°10/L.acidophilus LA-5
5.25 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	4.00 ^a	9.00 ^a	B.animalis subsp lactis) °10/(Bb12
5.75 ^c	4.00 ^a	5.00 ^b	5.00 ^b	9.00 ^a	°10/Bb(12) +LA-5

يشير الاختلاف في الأحرف ضمن العمود الواحد في الزمن المدروس إلى وجود فروق معنوي (p > 0.05).

يتضح من الجدول (4) بأن عينات الشاهد فضلاً عن العينات المضاف إليها البروبيوتيك بأنواع مختلفة كانت ذات قوام جيد جداً ولم تؤد إضافة البروبيوتيك إلى نتائج سلبية على القوام، بل حافظت على قوام جيد جداً طوال مدد التخزين، وكان هناك تأثير بسيط على رائحة اللبن عند إضافة البروبيوتيك وخاصة عند إضافة نوعي البروبيوتيك معاً، إلا أنها بقيت ضمن الحدود المقبولة. كما لم يكن هناك اختلاف كبير في درجات التقييم بين التخزين عند الدرجة 4°س والدرجة 10°س. ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد أعطت عينات الشاهد الدرجة 4 (ضعيف) بعد 14 يوم من التخزين، وحافظت باقي العينات المضاف لها البروبيوتيك على درجات تقييم أعلى 8 (جيد) للعينات التي أضيف إليها البروبيوتيك من النوع *L.acidophilus LA-5* أو *B.animalis subsp lactis (Bb12)* في حين كانت درجة التقييم 7 (متوسط) للعينات التي أضيف إليها البروبيوتيك من النوعين بالعينة نفسها *L.acidophilus LA-5* + *B.animalis subsp lactis (Bb12)* بعد 14 يوماً من التخزين. واستمرت العينات المضاف إليها البروبيوتيك محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوماً في حين لم تعد صالحة للإستهلاك عينات الشاهد في ذلك اليوم. كان هناك تأثير طفيف على طعم اللبن عند إضافة البروبيوتيك مقارنة بالشاهد وخاصة عند إضافة نوعي البروبيوتيك معاً، إلا أنها بقيت ضمن الحدود المقبولة. ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد أعطت عينات الشاهد الدرجة 4 بعد 14 يوماً من التخزين، وحافظت باقي العينات المضاف لها البروبيوتيك على درجات تقييم أعلى 8 للعينات التي أضيف إليها البروبيوتيك من النوع *L.acidophilus LA-5* أو *B.animalis subsp lactis (Bb12)* بينما كان درجة التقييم 7 للعينات التي أضيف إليها *L.acidophilus LA-5* + *B.animalis subsp lactis (Bb12)* بعد 14 يوم من التخزين. واستمرت العينات المضاف لها البروبيوتيك محافظة على درجات أعلى خلال مدة التخزين بعد 14 يوماً في حين كان طعم عينات الشاهد سيئاً.

استطاعت العينات المضاف لها البروبيوتيك المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 35 يوماً من التخزين بعدها أصبحت غير صالحة للإستهلاك.

نتائج التحليل الميكروبيولوجي: يلاحظ من الجدول (5) أن أغلب العينات كانت لها قوة حيوية $0.1 \pm 10^8 \times 2.3$ خلية/غرام نظراً لتساوي ظروف تحضيرها. وانخفضت القوة الحيوية في عينات الشاهد عند الدرجة 4°C و 10°C بعد 14 يوماً من التخزين فوصلت إلى $10^5 \times 5$ و $10^5 \times 4.1$ خلية/غرام، على التوالي. بينما في العينات التي أُضيف إليها البروبيوتيك *L.acidophilus LA-5* عند درجة تخزين 4°C و 10°C انخفضت فيها القوة الحيوية للبادئ بدرجة أقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مدة 35 يوماً حيث وصلت إلى ($10^6 \times 4.1$ و $10^6 \times 3.8$) خلية/غرام على التوالي. أمّا العينات التي تحوي *B.animalis subsp lactis (Bb12)* فقد كانت نسبة انخفاض القوة الحيوية بدرجة أقل من عينات الشاهد وصل إلى ($10^6 \times 3.7$ و $10^6 \times 2.5$) خلية/غ على التوالي بعد 35 يوماً من التخزين وكانت النتائج أقل من إضافة *L.acidophilus LA-5*.

الجدول (5) تعدد بكتريا البادئ (*Lactobacillus + Streptococcus thermophilus bulgaricus*) لعينات اللبن الرائب المحضرة خلال مدد التخزين خلية /غرام

زمن التخزين (يوم)						نوع المعاملة
35	28	21	14	7	0	
-	-	-	$10^5 \times 5$	$10^7 \times 2.2$	$10^8 \times 2.3$	شاهد / 4°C
$10^6 \times 4.1$	$10^6 \times 8.3$	$10^7 \times 3.7$	$10^7 \times 5.4$	$10^8 \times 1.4$	$10^8 \times 2.4$	<i>L.acidophilus LA-5</i> / 4°C
$10^6 \times 3.7$	$10^6 \times 7.4$	$10^7 \times 3.6$	$10^7 \times 4.8$	$10^8 \times 1.3$	$10^8 \times 2.4$	<i>B.animalis subsp lactis</i>) 4°C / (<i>Bb12</i>)
$10^6 \times 2.3$	$10^6 \times 6.6$	$10^7 \times 3.5$	$10^7 \times 3.6$	$10^8 \times 1.2$	$10^8 \times 2.3$	<i>Bb(12) + LA-5</i> / 4°C
-	-	-	$10^5 \times 4.1$	$10^7 \times 2.0$	$10^8 \times 2.4$	شاهد / 10°C
$10^6 \times 3.8$	$10^6 \times 6.4$	$10^7 \times 3.4$	$10^7 \times 4.3$	$10^8 \times 1.2$	$10^8 \times 2.2$	<i>L.acidophilus LA-5</i> / 10°C
$10^6 \times 2.5$	$10^6 \times 6.1$	$10^7 \times 3.2$	$10^7 \times 4.2$	$10^8 \times 1.1$	$10^8 \times 2.3$	<i>B.animalis subsp lactis</i>) 10°C / (<i>Bb12</i>)
$10^6 \times 2.1$	$10^6 \times 5.3$	$10^7 \times 3.1$	$10^7 \times 3.4$	$10^8 \times 1.0$	$10^8 \times 2.2$	<i>Bb(12) + LA-5</i> / 10°C

أمّا العينات التي تحوي *B.animalis subsp lactis (Bb12)+L.acidophilus LA-5* كان الانخفاض في القوة الحيوية أقل بكثير من عينات الشاهد، واستطاعت العينات التي أُضيف إليها البروبيوتيك *B.animalis subsp lactis (Bb12)+L.acidophilus LA-5* المحافظة على قوة حيوية للبن الرائب مدة 35 يوماً حيث وصلت إلى ($10^6 \times 2.3$) و ($10^6 \times 2.1$) خلية/غرام على التوالي بنتيجة أقل فيما لو أُضيف كل نوع على حدة. ما يشير بأن أنواع البروبيوتيك المضافة كانت كافية لتحسين جودة تخمر الحليب وكبح نمو الخمائر والعفن؛ وسمح باستمرار بقاء بكتريا البادئ مدداً أطول (الجدول 6).

الجدول (6) تعداد الخمائر والفتور لعينات اللبن المحضرة خلال فترات التخزين خلية/غرام

زمن التخزين (يوم)						نوع المعاملة
35	28	21	14	7	0	
-	-	-	$^{4}10 \times 6.8$	$^{4}10 \times 4.5$	$^{4}10 \times 3.8$	شاهد / $^{\circ}4$
NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	$^{\circ}4/L.acidophilus LA-5$
NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	$^{\circ}4/B.animalis subsp lactis (Bb12)$
NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	$^{\circ}4 / Bb(12) +LA-5$
-	-	-	$^{4}10 \times 7.6$	$^{4}10 \times 6.2$	$^{4}10 \times 4.3$	شاهد / $^{\circ}10$
NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	$^{\circ}10/L.acidophilus LA-5$
NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	$^{\circ}10/B.animalis subsp lactis (Bb12)$
NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	$^{\circ}10/Bb(12) +LA-5$

IL : تشير إلى عدم وجود أي خمائر أو فتور .

إذ تنتج بكتريا البروبيوتيك مضادات حيوية مثل الباكترينوسين تقضي على الخمائر والعفن دون أن تؤثر في بكتريا البادئ وهذا يتوافق مع Shah (1999) و Shibario وزملائه (2008) و Ouwehand وزملائه (1999) و Mattila-Sandholm وزملائه (2002).

الجدول (7) تعداد بكتريا البروبيوتيك *Lactobacillus acidophilus LA-5* لعينات اللبن الرائب المحضرة خلال مدد التخزين خلية/غرام

زمن التخزين (يوم)						نوع المعاملة
35	28	21	14	7	0	
-	-	-	-	-	-	شاهد / $^{\circ}4$
$^{6}10 \times 7.1$	$^{6}10 \times 8.2$	$^{7}10 \times 3.8$	$^{7}10 \times 5.4$	$^{8}10 \times 3.2$	$^{8}10 \times 3.5$	$^{4}10/L.acidophilus LA-5$
-	-	-	-	-	-	<i>B.animalis subsp lactis</i>) $^{4}10/(Bb12)$ س
$^{6}10 \times 6.8$	$^{6}10 \times 7.8$	$^{7}10 \times 2.9$	$^{7}10 \times 4.8$	$^{8}10 \times 2.9$	$^{8}10 \times 3.4$	$^{4}10 / Bb(12) +LA-5$ س
-	-	-	-	-	-	شاهد / $^{\circ}10$ س
$^{6}10 \times 6.9$	$^{6}10 \times 7.8$	$^{7}10 \times 3.1$	$^{7}10 \times 5.1$	$^{8}10 \times 3.0$	$^{8}10 \times 3.4$	$^{10}10/L.acidophilus LA-5$ س
-	-	-	-	-	-	<i>B.animalis subsp lactis</i>) $^{10}10/(Bb12)$ س
$^{6}10 \times 6.4$	$^{6}10 \times 7.3$	$^{7}10 \times 2.4$	$^{7}10 \times 4.5$	$^{8}10 \times 2.2$	$^{8}10 \times 3.4$	$^{10}10/Bb(12) +LA-5$ س

يلاحظ من الجدول (7) أن أغلب العينات كان لها تعداد بكتريا البروبيوتيك $0.1 \pm ^{8}10 \times 3.5$ خلية/غرام نظراً إلى تساوي ظروف تحضيرها وانخفاض تعدادها في العينات التي أُضيف إليها *L.acidophilus LA-5* عند درجة تخزين $^{\circ}4$ و $^{\circ}10$ س مع المحافظة على قوتها الحيوية مدة 35 يوماً ووصلت إلى $^{6}10 \times 7.1$ و $^{6}10 \times 6.9$ خلية/غرام على التوالي. أمّا العينات التي تحوي *L.acidophilus LA-5* (*B.animalis subsp lactis*) *Bb12* انخفض تعداد بكتريا النوع *L.acidophilus LA-5* أكثر مع محافظة العينات على قوة حيوية مدة 35 يوماً إذ وصلت إلى $^{6}10 \times 6.8$ و $^{6}10 \times 6.4$ خلية/غ على التوالي.

الجدول (8) نتائج تحليل تعداد بكتريا البروبيوتيك (*Bifidobacterium animalis subsp lactis* (Bb12) لعينات اللبن الرائب المحضره خلال فترات التخزين خلية/غ

زمن التخزين (يوم)						نوع المعاملة
35	28	21	14	7	0	
-	-	-	-	-	-	شاهد/ 4م°
-	-	-	-	-	-	4/ <i>L.acidophilus</i> LA-5 س°
⁶ 10×6.4	⁶ 10×7.0	⁶ 10×2.2	⁶ 10×4.4	⁸ 10×2.1	⁸ 10×3.5	4/ <i>B.animalis subsp lactis</i> (Bb12) س°
⁶ 10×6.2	⁶ 10×6.7	⁶ 10×2.1	⁶ 10×4.3	⁸ 10× 2.0	⁸ 10×3.4	4 / <i>Bb(12)</i> +LA-5 س°
-	-	-	-	-	-	شاهد/ 10س°
-	-	-	-	-	-	10/ <i>L.acidophilus</i> LA-5 س°
⁶ 10×6.3	⁶ 10×6.6	⁶ 10×1.8	⁶ 10×4.1	⁸ 10×2.0	⁸ 10×3.4	10/ <i>B.animalis subsp lactis</i> (Bb12) س°
⁶ 10×6.1	⁶ 10×6.5	⁶ 10×2.0	⁶ 10×3.5	⁸ 10×1.8	⁸ 10×3.4	10/ <i>Bb(12)</i> +LA-5 س°

يلاحظ من الجدول (8) أن أغلب العينات كانت لها تعداد بكتريا البروبيوتيك 0.1 ± 10^8 خلية/غرام نظراً لتساوي ظروف تحضير العينات. في العينات التي اضيف لها البروبيوتيك من النوع *B.animalis subsp lactis* (Bb12) عند درجة تخزين 4م° و 10م° انخفضت فيها تعداد البكتريا اثناء التخزين واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مدة 35 يوماً، إذ وصلت إلى $10^6 \times 6.4$ و $10^6 \times 6.3$ خلية/غرام على التوالي. أمّا العينات التي تحوي *B.animalis subsp lactis* + *L.acidophilus* LA-5 (Bb12) فقد كان الانخفاض في تعداد البكتريا لنوع *B.animalis subsp lactis* (Bb12) أكثر واستطاعت العينات المحافظة على قوة حيوية للنوع مدة 35 يوماً، إذ وصلت إلى $10^6 \times 6.2$ و $10^6 \times 6.1$ خلية/غرام على التوالي.

يمكن توضيح أن سلالة البروبيوتيك المستعملة والرقم الهيدروجيني pH ودرجة حرارة التخزين والمحتوى من الأوكسجين الذائب، ووجود بيروكسيد الهيدروجين وتركيز المواد الأيضية الناتجة (حمض اللبن والخل)، وتوافر المتطلبات الغذائية ومستوى التلقيح، وكذلك مستوى الرطوبة من العوامل المهمة التي تؤثر في حيوية بكتريا البروبيوتيك وأعدادها خلال مدة التخزين (Shah، 2000؛ Desmond وزملاؤه، 2000؛ Ananta وزملاؤه، 2005).

واستنتج بأن بادئ (بكتريا) البروبيوتيك له تأثير حافظ للبن مدة أطول مقارنة بالشاهد دون التغيير الكبير في طعم ورائحة اللبن الرائب لدى التخزين عند الدرجة 4م° والدرجة 10م°. كما استطاعت المحافظة على المواصفات الأخرى دون أن يتعرض للفساد لنفس المدة. واقترح إضافة بكتريا البروبيوتيك من الأنواع *Lactobacillus acidophilus* LA-5 و *Bifidobacterium animalis subsp lactis* (Bb12) للبن الرائب كونها اعطت نتائج إيجابية مع محافظتها على تقييم جيد في الطعم والرائحة فضلاً عن فوائدها المعروفة على الصحة العامة تؤكد هذه الدراسة فكرة استخدام بكتريا البروبيوتيك في إعداد الألبان كوسيلة لتأمين الحفظ وتمديد العمر الافتراضي لها مع الاحتفاظ بقيمته الحيوية والعلاجية، إضافة بكتريا البروبيوتيك قد أنتجت نوعاً جديداً من اللبن يحتفظ بنوعية مقبولة خلال مدة تخزين لا تقل عن 4 أسابيع.

المراجع References

- الخلايله، نزيه وأنطون طيفور. 2010. تصنيع الجبن المطبوخ وتدعيمه بالبيكتريا النافعه باستخدام الاجبان المحلية (البيضاء، القريش، القشقوان) كمواد أوليه، أطروحة دكتوراه، جامعة دمشق، 143.
- Adhikari, K. A., I. U. Mustapha and I. A. Grun. 2000. Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yoghurt during refrigerated storage. *Journal Dairy Science*, 2(83):1946-1951.
- Aguilar, G. S., H. Dawson., M. Restrepo., K. Andrews., B. Vinyard and F. Joseph. 2008. Detection of *Bifidobacterium animalis subsp Lactis (Bb12)* in hestestine after Feeding of Sow and Their piglets. *Applied and Environment Microbiology*,74(20):6338 – 6347.
- Aly, A. 2007. Characterization of a Bacteriocin-Like Inhibitory Substance Produced by *Lactobacillus* Isolated from Egyptian Home-Made Yogurt *Science Asia*, 33(12):313-319.
- Ananta, E., M. Volkert and D. Knorr. 2005. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus GG*. *Journal Dairy Science*, 1(22):399-40.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists Inc, 16th Edition, Virginia, USA, 2000.
- Bonczar, G., M. Wszolek and A. Siuta. 2002. The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from cow milk. *Food Chemical*, 1(79):85-91.
- Carlsen, B. 2001. The role of lactic bacteria in the prevention and the treatment of diseases. *The Nutrition Digest of Essential Nutrients*, 11(1):11-44.
- Champagne, C. P., N. J. Gardner and D. Roy. 2005. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Crit Rev. Food Science Nutrition*, 45(1):61-84.
- Chou, L.S and B. Weimer. 1999. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal Dairy Science*, 82(13):23-31.
- Dave, R. I., and N. P. Shah. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7(1):31-41.
- Desmond, C., R. P. Ross., E. Callaghan., G. Fitzgerald and C. Stanton. 2000. Survival of *Lactobacillus paracasei NFBC 338* in spray-dried powder containing gum acacia. *Journal Microbiological*, 93(11):1003-1011.
- Donkor, O. N., A. Henriksson., T. Vasiljevic and N. P. Shah. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16(10):1181-1189.
- Gilland, S. S., G. B. Reilly and S. H. Kim. 2002. Viability during storage of selected probiotic *lactobacilli and bifidobacteria* in a yoghurt-like product. *Journal Food Science*, 67(22):3091-3095.
- Gilland, E., R. Nilson and C. Maxwell. 2005. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol*, 5(3):49-50.
- Gobbetti, M. A., E. Corsetti., A. Smacchi., A., Zocchetti and M. D. Angelis. 1998. Production of yoghurt by incorporation of *Bifidobacteria*. *Journal Dairy Science*, 81(1):37 – 47.

- Hartemink, R., B. J. Kok., G. H. Weekn and F. M. Rombouts.1996. Raffinose *Bifidobacterium* agar, new selective medium for *bifidobacteria*. Journal of Microbiology Methods, 27(1):33-43.
- Hughes, D. B and D.G. Hoover. 1991. *Bifidobacteria*: their potential for use in American dairy products. Food Technology, 45(11):74-83.
- Ishibashi, N and S. Shimamura. 1993. Bifidobacteria: Research and Development in Japan. Food Technology, 1(34):126-135.
- Lawless, H. T and H. Heymann. 1999. The sensory evaluation of food principle and practice. International food Journal, 17(2):11-13.
- Lourens-Hattingh, A and B. C. Viljoen. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal, 11(1):1-7.
- Mattila-Sandholm, T., P. Myllärinen., R. Crittenden., R. Fondén and M. Saarela. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. International Dairy Journal, 12(1):173-182.
- Mccann, T., T. Egan and G. H. Weber. 1996. Assay procedures for commercial probiotic cultures. Journal Food Protect, 59(33): 41-45.
- Okonogi, S., J. Ono., T. Kudo., A. Hiramastu and S. Teraguchi. 1994. *Streptococcus thermophilus* strain a high oxygen consuming ability used for protecting microorganisms anaerobic. Japanese patent Journal, 1(4):5208-5288.
- Ong, L., A. Henriksson and N. P. Shah. 2006. Development of probiotic yoghurt containing *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* and *Bifidobacterium spp.* and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. International Dairy Journal, 16(5):446-456.
- Ong, L., A. Henriksson and N. P. Shah. 2007. Chemical analysis and sensory evaluation of yoghurt produced with *Lb. acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* and *Bifidobacterium sp.* International Dairy Journal, 17(4):937-945.
- Ouwehand, A. C., P. V. Kirjavainen., C. Shortt and S. Salminen. 1999. Probiotics: mechanisms and established effects. International Dairy Journal, 9(6):43-52.
- Rao, A.V., N. Shiwnarain and I. Maharaj. 1999. Survival microencapsulated *Bifidobacterium pseudolongum* in simulated gastric and intestinal juices. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal, 22(7):345-349.
- Ross, R. P., C. Desmond., G. F. Fitzgerald and C. Stanton. 2005. Overcoming the technology hurdles in the development of probiotic foods. Journal of Applied Microbiology, 98(6):1410-1417.
- Sanders, M.E.1993. Effect of Consumption of lactic cultures on human health. Adv. Food. Nutrition, 37(5):67-130.
- Sarkar, S. 2008. Effect of probiotics on biotechnological characteristics of yoghurt - a review. British Food Journal, 7(11):717-740.
- Shah, N. P. 1999. Probiotic Bacteria: Antimicrobial and antimutagenic properties probiotic. Journal of Dairy Science, 6(3):268-271.
- Shah, N. P. 2000. Probiotic bacteria Selective enumeration and survival in dairy food. Journal of Dairy Science, 83(1):894-907.

- Sheu, Y. and R. T. Marshall. 1993. Micro entrapment of *lactobacilli* in calcium alginate gels. *Journal Food Science*, 54(1):557-561.
- Shibario, S., M. Upadhaya and P.Toivonen. 2008. Yoghurt and shelf life time extending. *Journal of Hort Science Biotechnology*, 73(1): 862-866.
- Tenbrink, B and M. Minekus. 2004. Antimicrobial activity of *lactobacilli*: preliminary characterization and optimization of production of acidocin B., a novel bacteriocin produced by *L. acidophilus* M46. *Journal Appl. Bacteriol*, 77(9):140-148.
- Vasiljevic, T., T. Kealyand and V. K. Mishra. 2007. Effect of β -glucan addition to a probiotic containing yogurt. *Journal of Food Science*, 7(72):405-411.
- Vasiljevic, T and N. P. Shah. 2008. Probiotics from Metchnik off to bioactives. *International Dairy Journal*, 18(2):714-728.
- Young, P. S. M., M. E. Sanders., G. L. Kitts., R. Cano and T. S. Tong. 2002. Species-specific identification of commercial probiotic strains. *Journal Dairy Science*, 85(8):1039-1051.

Received	2013/01/29	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2013/06/16	قبول البحث للنشر