التأثير المضاد لبكتيريا الزبادي التقليدي والداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو تجاه بكتريا السالمونيلا

مطلق بن محمد العتيبي[1]

الملخص العربى

تم إجراء البحث على ثلاثة أنواع من الزبادي المختلفة في نوع البادئ المستخدم حيث لقحت جميع عينات الزبادي باستخدام بكتيريا السالمونيلا (*Salomnella typhimurium*) وذلك لدراسة تأثير تلك الأنواع من بادئات الزبادي على الأعداد الحية من بكتيريا السالمونيلا أثناء فترات التخزين لمدة ١٥ يوم على درجة ٤±١°م. وقد تم تقدير الـ (pH) والأحماض العضوية (اللاكتيك والخليك) في جميع عينات الزبادي.

وقد وجد أن قيم الـ (pH) قد سجلت انخفاضاً في عينات الزبادي التقليدي يليها عينات الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو (Bb-12) ثم (Bb-46). كما أظهرت النتائج احتواء عينات كلا النوعين من الزبادي الداعم للحيوية بكتيريا البيفيدو على نسبة أكبر من حامض الخليك مقارنة بعينة الزبادي التقليدي. وعلى العكس من ذلك فقد احتوت عينة الزبادي التقليدي على كمية أكبر من حامض اللاكتيك مقارنة بعينات الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو. وعند اختبار مدي التأثير المثبط لبكتيريا الزبادى فى المترشح الناتج من كل أنواع الزبادي باستخدام طريقة الانتشار من خلال القرص الورقي وجد أن بكتيريا الزبادي التقليدي له تأثير مثبط أكبر (قطر منطقة التثبيط ٢٧ مم) من الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-46 وBb-12 (قطر منطقة التثبيط ٢٢ و٢٣ مم على التوالي) تجاه بكتيريا السالمونيلا.

وعند أجراء تلويث عينات الزبادي ببكتيريا السلمونيلا بتركيز ١٧٥٠و ٣٥٠٠خلية لكل جرام زبادي فقد أظهرت النتائج أن أعداد بكتيريا السالمونيلا تنخفض في جميع المعاملات أثناء مدة التخزين. وأظهرت النتائج أيضا بأن بكتريا السالمونيلا قد تم تثبيطها في عينة الزبادي التقليدي بشكل كبير حيث تم تثبيط نمو كل بكتيريا السالمونيلا بعد ٥ و٧ أيام من التخزين لكل من الزبادي العادي التقليدي بجرعة ١٧٥٠و٣٥٠٠خلية لكل جرام زبادي على التوالي. أما في عينات الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو (Bb-12) و (Bb-46) والملوثة بتركيز ٣٥٠٠ خلية لكل جرام فقد ظل هناك أعداد من بكتيريا السلمونيلا بعد ١٥يوم من التخزين، بينما في عينات الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو (Bb-12) و(Bb-46) والملوث بجرعة (تركيز) ١٧٥٠خلية لكل جرام فقد وجد بأن بكتريا السالمونيلا قد تم تثبيطها بعد ١٠ و١٥يوم من التخزين على التوالي. هذا وخلصت نتائج التجارب الى أن الزبادي التقليدي وكذلك الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو (Bb-12) و(Bb-46) لهم جميعاً تأثيرا مثبطا تجاه بكتيريا السالمونيلا. وعند مقارنة هذه الأنواع من الزبادي ببعضها فقد وجد بأن الزبادي التقليدي له تأثير مثبط أقوى تجاه بكتيريا السالمونيلا يليه الزبادي الداعم للحيوية المحتوي على بكتيريا البيفيدو Bb-12 ثم Bb-456 وذلك لأن هذه الأنواع من البادئات تمتاز بانخفاض الأس الهيدروجيني (pH) لها وكذلك إفرازها لكميات من الأحماض العضوية ذات الفعل المثبط للبكتيريا التي قد تلوث هذه المنتجات.

المقدمة المشكلة البحثية

تعتبر الألبان المختمرة من أهم المنتجات اللبنية التي يرغبها قطاع كبير من المستهلكين، ويعتبر الزبادي من أهم الألبان المختمره التي تصنع باستخدام بادئات من بكتيريا حامض اللاكتيك *Streptococcus thermophilus &Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. وفي السنوات الأخيرة زاد الاهتمام بإدخال أنواع من البكتيريا تسمى بالبكتيريا الداعمة للحيوية(Probiotic bacteria)للالبان المختمرة وغيرها من الأغذية وتعتبر هذة البكتيريا صديقة للإنسان ويقع العديد من أنواع هذه البكتيريا ضمن أجناس *Lactobacillus &Bifidobacterium*. وتعرف هذه البكتيريا على أنها مجموعة من الأحياء الدقيقة في صورة حية تحدث عند

قسم علوم الغذاء والتغذية – كلية العلوم الزراعية والأغذية

جامعة الملك فيصل– الهفوف–المملكة العربية السعودية

mutlag1@hotmail.com

استلام البحث في ١٢أغسطس والموافقة على النشر في ٢٦ سبتمبر٢٠٠٨

استهلاكها بكمية كافية تأثيرات صحية مفيدة للمستهلك (FAO/WHO, 2001). وتتضمن فوائدها مجابهة العدوى البكتيرية المعوية، كما أنها تخفض من كولستيرول الدم بالاضافة الى أن لها نشاط مضاد تجاه انزيمات التسرطن. كما وجد بأن هذه الأنواع من البكتريا تحسن النشاط المناعى وكذلك هضم سكر اللاكتوز (للأشخاص اللذين يعانون من نقص إنزيم اللاكتيز) وتزيد من كفاءة الهضم وامتصاص العناصر المعدنية(Kailaspathy & Chin, 2000 and Schrezenmeir & de Vrese, 2001). ونظراً لكون بكتيريا الدعم الحيوى وخصوصاجنس بكتيريا *Bifidobacterium* تنتج بعض المركبات المضادة للبكتيريا لذلك فإنها تقي الجسم من العديد من الأمراض التي تسببها أنواع من البكتيريا الممرضة أمثال *Salmonella, Shigella, Pseudomonas Helicobacter* (Sgouras *et al.*, 2004 and Servin, 2004). وقد وجد أن أعداد بكتريا البيفيدو تقل في منتج الزبادي نتيجة لانخفاض رقم الأس الهيدروجيني إلى (٤,٢-٤,٦) وأيضا للفعل المثبط للأحماض العضوية مثل حامض اللاكتيك و الخليك(Lankaputhra *et al.*, 1996 and El-Nemr & Moustafa, 2007).

وقد أكدت بعض نتائج الابحاث بأن أنظمة التأثير المضاد للبكتيريا بفعل بكتيريا البيفيدو تعزى إلى خفضها لرقم الأس الهيدروجيني (pH) عن طريق إنتاجها للأحماض العضوية والفعل المثبط لهذه الأحماض وأيضا تنافسها على المغذيات في الوسط ، ومن ناحية أخرى تحفيزها لجهاز المناعة ضد هذه البكتيريا علاوة على إنتاجها لمركبات مضادة للبكتيريا تعرف "بالبكتيريوسين" (Ballongue, 1998; De Vuyst *et al.*, 2004 and Fuller, 1989). والأحماض العضوية وعلى الأخص حامض اللاكتيك و الخليك لهما قدرة قوية على تثبيط البكتيريا السالبة لصبغة جرام. وقد أشار بعض الباحثين إلى أن التأثير المضاد للبكتيريا بفعل بكتيريا البيفيدو يعزى إلى هذه الأحماض العضوية فقط (Fooks & Gibson, 2002, 2003 and Ibrahim &Bezkorovainy, 1993).

يعد الزبادي التقليدي منخفض الـ (pH) بحدود(٣,٨ الى ٤,٠)أكثر أماناً نظراً لكون الميكروبات الممرضة لاتستطيع النمو أو العيش تحت مثل هذه الظروف(Gohil *et al.*, 1996) ولكن عندما ترتفع قيم الـ (pH) للزبادي فان مستوى الحماية يصبح منخفضاً وبتالي فان الميكروبات الممرضة مثل(*Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp.) يمكن نموها عندما تكون قيم الـ (pH) أعلى من ٤,٣ (ICMSF, 1996). لذلك فان احتمالية نمو الميكروبات الممرضة في الزبادي الداعم للحيوية على (pH) أعلى من ٤,٤ يعتبر كبيرا.

لذا فان الهدف من هذه الدراسة هو تصنيع ثلاثة أنواع من الزبادي كل منها يحتوى على نوع مختلف من البادئ. ويلقح كل نوع من عينات الزبادي بجرعة منخفظة وأخرى عالية من سلالة السالمونيلا كنوع من الميكروبات الممرضة التي قد تنتقل من اشخاص مصابون ويسببون تلوث لعينات الزبادي اثناء التداول والأستهلاك. كما سيتم دراسة تأثير رقم الأس الهيدروجيني و الأحماض العضوية في هذه المنتجات على سلوك بكتيريا السالمونيلا خلال فترات التخزين على ٤±١°م.

الطريقة البحثية

البادئات وبكتيريا السالمونيلا:

يتكون بادئ الزبادي التقليدي من بكتيريا *Streptococcus thermophilus* & *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (YC-380) بينما يتكون بادئ الزبادئ الداعم للحيوية الأول من بكتريا *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) في حين النوع الثاني يتكون من بكتريا *Bifidobacterium longum* (Bb-46) وجميع تلك البادئات من شركة Chr. Hansen Laboratories (Copenhagen, Denmark)، أما بكتيريا السالمونيلا *Salmonella typhimurium* فقد تم الحصول عليها من مختبر الصحة العام بالدمام(إدارة المختبرات بوزارة الصحة بالدمام، المملكة العربية السعودية).

البيئات والكيماويات:

استخدمت بيئة Xylose Lysine Desoxycholate Agar (XLD; Oxoid 469)كبيئة مناسبة لعد بكتيريا السلمونيلا ، بينما تم الحصول على الاحماض العضوية القياسية عالية النقاوة من شركة (Fluka, UK).

طريقة إعداد بكتيريا السالمونيلا و تلقيح عينات الزبادي بها:

تم أخذ مستعمرة نقية من بكتيريا السالمونيلا من على سطح طبق منمى عليه هذه البكتيريا وعمل معلق منها في أنبوبة بها محلول ملحي٠,٨٥% وتم ضبط التركيز لإعداد بكتيريا السلمونيلا بواسطة جهاز قياس الطيف(Spectrophotometer) اعتماداً على أن القراءة ٠,٥ ± ٠,٠١تعني ٣-٤ ×١٠ ^٨خلية لكل مل من بكتيريا السالمونيلا(Lahtinen, *et al.*, 2007) ثم تم عمل تخفيفات لتكون الأعداد ١×١٠ ^٦. ولحساب تركيز جرعة التلوث المطلوب احداثها بعينات الزبادي فانه يؤخذ(١,٧٢ مل) من المعلق السابق ويضاف لعينة الزبادي(٥٠٠ جم) ليعطي٣٥٠٠خلية لكل جرام من الزبادي (التلوث بالجرعة العالية) بينما يؤخذ(٠,٨٦ مل) من نفس المعلق السابق ويضاف لعينة الزبادي(٥٠٠جم)ليعطي١٧٥خلية لكل جرام من الزبادي(التلوث بالجرعة المنخفضة).

تصنيع الزبادي:

تم الحصول على الحليب البقري المبستر من شركة العثمان للانتاج والتصنيع الزراعي(الاحساء، المملكة العربية السعودية). بعد ذلك تمت معاملة الحليب حرارياً على درجة ٨٥°م لمدة ٥ دقائق ثم التبريد الى ٤٣°م وتقسيمة إلى ثلاثة أقسام، تم في القسم الأول اضافه بادئ (*Streptococcus thermophilus* & *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* YC-380) ويعتبر عينة مرجعية وهو ما يعرف بالزبادي التقليدي. بينما في القسم الثاني أضيف بادئ البيفيدو *Bifidobacterium lactis* (Bb-12) أما القسم الثالث فقد أضيف إليه بادئ البيفيدو *Bifidobacterium longum* (Bb-46) وكلا المعاملتين الأخيرتين يطلق عليهما الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو (Probiotic yoghurt). بعد ذلك تم تعبئة كل قسم من الأقسام السابقة في عبوات بلاستيكية معقمة مصنعة من البروبلين سعة كل منها(٥٠٠ جم) ثم نقلت إلى الحضان على درجة حرارة بحدود٤٠°م وتركت حتى وصول الـ (pH) للخثره إلى (٤,٣).

بعد ذلك قسمت عبوات كل معاملة من المعاملات الثلاث السابقة إلى قسمين حيث تم تلويث كل عبوة من عبوات القسم الأول بالجرعة المنخفضة في حين جميع عبوات القسم الثاني تم تلويثها بالجرعة العالية بعد ذلك تم تخزين جميع العبوات في الثلاجة لحين إجراء التحاليل.

التحاليل الطبيعية والكيميائية:

تم تقدير الأس الهيدروجيني في عينات الزبادي بواسطة Digital pH Meter Oakton Model No. 35619. أما الأحماض العضوية(حامض اللاكتيك والخليك) فقد تم تقديرها بجهاز الكروماتجرافي السائل تحت الضغط المرتفع (HPLC) تبعاً لطريقة Adhikari *et al.* (2000)

طريقة عمل النشاط المضاد لبكتيريا السلمونيلا (طريقة الانتشار من خلال القرص الورقي):

تم إضافة١مل من معلق بكتيريا السالمونيلا على بيئة الأجار المغذي اللينة ومن ثم خلطت وفرشت على سطح طبق بتري محتوي على بيئة XLD agar وتركت لمدة ٥ دقائق. تم عمل طرد مركزي لعينات الزبادي التقليدي والداعم للحيوية، ثم جمع المترشح باستخدام المرشح البكتيري ذو سعة ثقوب٠,٢ ميكروميتر للتخلص من أي بكتيريا قد توجد في المترشح ثم تم سحب١٠ ميكروميتر من الناتج ووضعت على قرص من ورق الترشيح قطره ٩ ملليمتر موضوع على سطح الطبق البتري السابق ثم حضنت على ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة وتم قياس المنطقة الرائقة حول القرص.

النتائج ومناقشتها

تقدير الأس الهيدروجيني والأحماض العضوية:

جدول رقم(١) يوضح قيم الـ (pH) وكذلك الأحماض العضوية لعينات الزبادي التقيلدي و الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو وذلك بعد التصنيع مباشرة. وقد أظهرت النتائج بأن عينات الزبادي التقليدي قد سجلت قيماً أقل لرقم الـ (pH) يليها الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12 ثم Bb-46. ومن جهة أخرى احتوى الزبادي التقليدى على أكبر كمية من حامض اللاكتيك (٦٦٥,٢ مليجرام/١٠٠جم)، بينما كان محتواه من حامض الخليك أقل من الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12 & Bb-46 اللذان سجلا محتوى قليل نسبياً من حامض اللاكتيك مقارنة بالزبادي العادي. و قد أوضحت النتائج بأن

الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12 أحتوى على كمية أعلى من حامض اللاكتيك و الخليك(١٧,٩ و ٦٤٥,٣ مليجرام/١٠٠جم على التوالي) مقارنة بالزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-46 (١٥,٦ و ٦٠٣,٦ مليجرام/١٠٠جم على التوالي). وقد وجد بأن هذه النتائج متوافقة مع النتائج الذي تحصل عليها (Adhikari *et al.*, 2000; and Saleh *et al.*, 2004) حيث أوضحوا بأن الزبادي التقليدي يحتوي على كمية أكبر من حامض اللاكتيك وأقل من حامض الخليك إذا ما قورن بالزبادي المدعم للحيوية المصنع من بكتيريا البيفيدو.

جدول١. تقدير الـ(pH) والأحماض العضوية للزبادي التقليدي والداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو بعد التصنيع مباشر

المعاملات	pH	الأحماض العضوية (مليجرام/١٠٠جرام)	
		حامض اللاكتيك	حامض الخليك
الزبادي التقليدي	٤,٣٩	٦٦٥,٢	٩,٩
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12	٤,٥١	٦٤٥,٣	١٧,٩
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-46	٤,٥٤	٦٠٣,٦	١٥,٦

النشاط المضاد لبكتيريا السلمونيلا للمترشح الناتج من الزبادي التقليدي و الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو:

الجدول رقم(٢) يوضح دائرة تثبيط المترشح الناتج من الزبادي التقليدي و الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو ضد بكتيريا السالمونيلا. و قد اظهرت النتائج بأن الزبادي التقليدي كان له أكبر تثبيط (قطر منطقة التثبيط٢٧ ملليمتر) مقارنة بالزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو سواء كان Bb-12 أو Bb-46 اللذان أظهرا تقارباً في نشاطهما المثبط لبكتيريا السالمونيلا (قطر منطقة التثبيط ٢٣ و٢٢ ملليمتر على التوالي)، وربما يكون هذا التأثير راجع إلى أن بكتيريا

جدول٢. تأثير المترشح الناتج من الزبادي التقليدي والزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو تجاه بكتيريا السالمونيلا

المعاملات	قطر منطقة التثبيط (ملليمتر)*
الزبادي التقليدي	٢٧
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12	٢٣
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-46	٢٢

الزبادي التقليدي تفرز كمية أكبر من حامض اللاكتيك وأيضا لها أس هيدروجيني أقل من الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو (Arici *et al.*, 2004).

تأثير الزبادي التقليدي و الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو على أعداد بكتيريا السالمونيلا الملقحة بجرعة٣٥٠٠خلية/جرام زبادي:

يبين الجدول رقم(٣) تأثير الزبادي التقليدي والداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو على أعداد بكتيريا السالمونيلا الملقحة بجرعة ٣٥٠٠خلية/جرام زبادي. وقد أظهرت النتائج المتحصل عليها في الجدول المشار اليه سابقاً بأن أعداد بكتيريا السالمونيلا قد انخفضت بشكل عام في كل المعاملات بعد التخزين لمدة ٢٤ ساعة واستمر هذا الانخفاض إلي نهاية فترة التخزين. وقد سجل الزبادي التقليدي أكبر انخفاض في أعداد بكتيريا السلمونيلا بما يعادل ٣٦%، بينما الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12 وBb-46 فقد سجلا انخفاض مقداره ٢٤%و٢٠%على التوالي. وعند تتبع أعداد بكتيريا السالمونيلا أثناء التخزين نجد أنه بعد١٠ أيام لم يكون هناك أي أعداد لها في الزبادي العادي بينما استمر تواجدها في الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12 و Bb-46(٥٠ و٢٠٣ خلية مكونة مستعمرة/جرام على التوالي) إلى نهاية فترة التخزين.

جدول٣. عداد بكتيريا السالمونيلا في عينات الزبادي الملقحة بجرعة٣٥٠٠خلية/جرام زبادي أثناء التخزين على درجة حرارة ٤±١°م

المعاملات	أعداد بكتيريا السالمونيلا (خلية مكونة للمستعمرة/جرام زبادي)				
	٢٤ ساعة	٣ أيام	٥ أيام	٧ أيام	١٠ أيام	١٥ لأيام
الزبادي التقليدي	٢٢٣٥	١٢٩٣	٥٤٠	٤٣	–	–
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12	٢٦٥٠	٢١٠٠	١٢٠٠	٨٠٣	٣٧٣	٥٠
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-46	٢٨٠٠	٢٥٠٩	١٤٥٠	٩٤٣	٤٣٥	٢٠٣

تأثير الزبادي التقليدي و الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو علـى أعداد بكتيريا السالمونيلا الملقحة بجرعة١٧٥٠خلية/جرام زبادي:

جدول رقم(٤) يعرض تأثير الزبادي التقليدي والداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو على أعداد بكتيريا السالمونيلا الملقحة بجرعة ١٧٥٠خلية/جرام زبادي. من النتائج نلاحظ أن أعداد بكتيريا السالمونيلا قد انخفضت في جميع المعاملات بعد٢٤ ساعة وطوال فترة التخزين. كان تأثير الزبادي التقليدى هو أقوى تجاه بكتيريا السالمونيلا بعد ٢٤ ساعة وخلال فترة التخزين، فقد سجل انخفاض مقداره ٥٧% و٦٩% و٩٠% و١٠٠%بعد فترة تخزين قدرها ٢٤ساعة و٣ و٥ و٧ أيام، مما يدل على أن تواجد السالمونيلا قد انتهى تواجدها بعد ٧ أيام من التخزين. أما الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12 فتم تثبيط بكتيريا السالمونيلا بعد ١٠أيام من التخزين، في حين تم التخلص من بكتيريا السالمونيلا في الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-46 بعد ١٥يوم من التخزين. وعند مقارنة نوعي الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو ببعضهما نجد أن بكتيريا12-Bb لها نشاط مثبط لبكتيريا السالمونيلا أكبر من Bb-46.

ويرجع التأثير المثبط للزبادي التقليدي و الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو إلى انخفاض الأس الهيدروجيني وإنتاج الأحماض العضوية التي لها تأثير بكتيري قاتل (Fooks & Gibson, 2002; 2003 and Ibrahim & Bezkorovainy, 1993). وهذا ما نلاحظه من خلال جدول رقم(١) حيث سجل الزبادي التقليدي أقل أس هيدروجيني و أعلى كمية من حامض اللاكتيك المفرزه بينما بكتيريا البيفيدو أفرزت كمية أكبر من حامض الخليك، وهذه النتائج متوافقة مع Al-Haddad (2003) التي وجدت أن هناك علاقة بين التأثير المضاد للزبادي التقليدي والداعم للحيوية تجاه بكتيريا السالمونيلا من جهة والأس الهيدروجيني من جهة أخرى. كما ارجع بعض الباحثين أمثال Aroutcheva *et al.* (2001) التأثير المثبط لبكتيريا حامض اللاكتيك إلى إنتاج فوق أكسيد الهيدروجين(H_2O_2). وقد أكدت التجارب المعملية التي أجراها Makras & Vuyst (2006) بأن التأثير المثبط لبكتيريا البيفيدو يرجع إلى إنتاجها للاحماض العضوية. بينما أوضح كلاً من Fuller (1989) and Ballongue (1998) بأن أنظمة التأثير المضاد للبكتيريا بفعل بكتيريا البيفيدو تعزى إلى خفضها للرقم الأس الهيدروجيني(pH) عن طريق أنتاجها للأحماض العضوية خاصة اللاكتيك و الخليك حيث لهما قدرة قوية على تثبيط البكتيريا السالبة لصبغة جرام ومن ناحية أخرى تحفيزها لجهاز المناعة ضد هذه البكتيريا علاوة على إنتاجها لمركبات مضادة للبكتيريا تعرف بالبكتيريوسين. وقد قام Saleh & El-Sayed (2004) باستخلاص أنواع من البكتريوسين من بكتيريا *Bifidobacterium lactis* Bb-12 & *Bifidobacterium longum* Bb-46 ووجدوا لها تأثير مثبط ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Bacillus ceureus Escherichia coli.*

هذا وقد أوضح Kheadr *t al.*, (2002) بأن عينات الزبادي المحتوية *B. bifidum 20456* لها القدرة على تثبط كل من الأجناس الممرضة *P. aeroginosa* و*Staph. aureus* و *E. coli* و *B. subtilis*، كما أن عينات الزبادي المضاف اليها *B. bifidum* BB12 و*B. longum* لها القدرة على تثبيط كل من *Staph. aureus* و*B. subtilis* بينما العينات المضاف اليها *B. infants* فقد

جدول٤. أعداد بكتيريا السالمونيلا في عينات الزبادي الملقحة بجرعة١٧٥٠خلية/جرام زبادي أثناء التخزين علي درجة حرارة ٤±١°م

المعاملات	أعداد بكتيريا السالمونيلا (خلية مكونة للمستعمرة/جرام زبادي)					
	٢٤ ساعة	٣ أيام	٥ أيام	٧ أيام	١٠ أيام	١٥ لأيام
الزبادي التقليدي	٧٥٩	٥٣٥	١٧٥	–	–	–
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-12	١٠٠٣	٨٧٠	٤٥٠	١٣١	–	–
الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو Bb-46	١٢٠٠	١٠٢٨	٥٣٤	٢١١	٧٠	–

ثبطت فقط *Staph. aureus*. هذا وقد أظهرت كل الأنواع عدم وجود فعل مثبط تجاه كل من *S. typhimurium* و*B. cereus* و *C. albicans*.ومن جهة أخرى ذكر Yildirim & Johnson (1998) بأن البكتيريوسين المنتج من بكتيريا *Bifidobacterium bifidum* لها تأثير مثبط ضد بكتيريا *Bacillus cereus* وفي نفس الوقت ليس لها تأثير على بكتيريا *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* & *E. coli*.

مما سبق خلصت نتائج هذا البحث الى أن الزبادي التقليدي و الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو جميعهم لهم أرقام منخفضة من الأس الهيدروجين، ولكن الزبادي التقليدى له أس هيدروجيني أقل، هذا في حين أن الزبادي التقليدي يحتوي على كمية أقل من حامض الخليك وكمية أكبر من حامض اللاكتيك مقارنة بالزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو. وهذا جعل الزبادي التقليدي له تأثير مثبط تجاه بكتيريا السالمونيلا بالمقارنة بالزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو. وتم اكتشاف ذلك باستخدام طريقة الانتشار خلال القرص الورقي وأيضا عن طريق وضع بكتيريا السالمونيلا مع بكتيريا الزبادي التقليدى والداعمة للحيوية ببكتيريا البيفيدو وذلك في منتج الزبادي. وعند مقارنة نوعين الزبادي الداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو ببعضهما نجد أن الزبادي الداعم للحيوية المصنع ببكتيريا البيفيدو Bb-12 لها تأثير أقوي على تثبيط بكتيريا السالمونيلا. ومن هذا يمكن القول بأن الزبادي التقليدي والداعم للحيوية ببكتيريا البيفيدو لهم جميعاً تأثير مثبط ضد بكتيريا السالمونيلا.

المراجع

Adhikari, K.; Mustapha, A. and Grun, I. U. (2000). Viability of micro-encapsulated bifidobacteria in set yogurt during refrigerated storage. Journal of Dairy Science. 83: 1946-1951.

AL-Haddad, K. S. (2003). Survival of salmonellae in bio-yoghurt. International Journal of Dairy Technology. 56: 199–202

Arici, M.; Bilgin, B.; Sagdic, O. and Ozdemir, C. (2004). Some characteristics of Lactobacillus isolates from infant faeces. Food Microbiology. 21: 19–24.

Aroutcheva, A.; Gariti, D.; Simon M.; Shott, S.; Faro, J. and Simoes, J. A. (2001). Defense factors of vaginal lactobacilli. Am Journal Obstet Gynecol. 185: 375–379.

Ballongue, J. (1998). Bifidobacteria and probiotic action. In S. Salminen, and A. von Wright (Eds.), Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. (2nd ed) (pp. 519–587). New York, NY, USA: Marcel Dekker, Inc.

De Vuyst, L., Avonts, L. and Makras, L. (2004). Probiotics, prebiotics and gut health. In C. Remacle, & B. Reusens (Eds.), Functional foods, ageing and degenerative disease (1st ed) (pp. 416–482). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd.

El-Nemr, T. M. and Mostafa, H. E. (2007). Influence of Jerusalem artichoke inuline addition as a prebiotic on bifidobacteria survival in Egyptian flavored fermented "Rayeb" milk drink. Deutsche Lebensmittel Rundschau , 103, Jahrgang, heft2.

FAO/WHO (2001). Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report, Cordoba.

Fooks, L. J. and Gibson, G. R. (2002). In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. FEMS Microbiology Ecology. 39: 67–75.

Fooks, L. J. and Gibson, G. R. (2003). Mixed culture fermentation studies on the effects of symbiotic on the human intestinal pathogens *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli*. Anaerobe. 9: 231–242.

Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology, 66, 365–378.

Gohil, V. S.; Ahmed, M. A.; Davies, R. and Robinson, R. K. (1996). Growth and survival of *Listeria monocytogenes* in tow traditional food from the United Arab Emirates. Food Microbiology. 13: 159-164.

Ibrahim, S. and Bezkorovainy, A. (1993). Inhibition of *Escherichia coli* by bifidobacteria. Journal of Food Protection. 56: 713–715.

International Commission of Microbiological Specifications for Food (ICMSF) (1996) Salmonella. In Microorganisms in Food, pp 217-264. London: Blackie Academic and Professional.

Kailaspathy K. and Chin J. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with

reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Immunol Cell Biol. 78: 80-83.

Kheadr, E. E.; Abd-El-Rahman, M. A. and El-Nemr, T. M (2002). Survivability and antimicrobial capacity of Bifidobacteria and yoghurt bacteria during refrigerated storage of yoghurt made from lactose-hydrolysed milk. Alex. Journal of Agriculture Research., 47 (2): 81-91

Lahtinen, S. J.; Jalonen, L.; Ouwehand, A. O. and Salminen, S. J. (2007). Specific *Bifidobacterium* strains isolated from elderly subjects inhibit growth of *Staphylococcus aurous*. International Journal of Food Microbiology. 117: 125–128.

Lankaputhra W. E. V.; Shah, N. P. and Britz, M. L. (1996). Survival of bifidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. Milchwissenschaft. 51: 65-70.

Makras, L. and De Vuys, L. (2006). The in vitro inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acids. International Dairy Journal. 16: 1049–1057

Saleh, F. A. and El-Sayed, E. M. (2004). Isolation and characterization of bacteriocins produced by *Bifidobacterium lactis* Bb-12 and *Bifidobacterium longum* Bb-46. The 9th Egyptian Conference for Dairy Science & Technology. pp 323-332.

Saleh, F. A.; Sahar, M. K. and Ibrahim, N. A. (2004). Viability and metabolic activity of microencapsulated bifidobacteria in plain and strawberry stirred yoghurt. Egyptian Journal of Agriculture Research. 82: (3), 161-175.

Schrezenmeir J. and de Vrese M. (2001). Probiotics, prebiotics, and symbiotic to approaching a definition. American Journal of Clinical Nutrition. 73 (Suppl): 361S-4S.

Servin, A. L. (2004). Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. FEMS Microbiology Reviews. 28: 405–440.

Sgouras, D.; Maragkoudakis, P.; Petraki, K.; Martinez-Gonzalez, B.; Eriotou, E.; Michopoulos, S.; Kalantzopoulos, G.; Tsakalidou, E. and Mentis, A. (2004). In vitro and in vivo inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* strain Shirota. Applied and Environmental Microbiology. 70: 518–526.

Yildirim, Z. and Johnson, M. G. (1998). Characterization and antimicrobial spectrum of bifidocin B, a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. J. Food Protection. 61: 47-51.

ABSTRACT

Effect of Traditional Cultures of Yoghurt Starter and the Probiotic Starter Cultures of Bifidobacterium on the Pathogenic Bacterium *Salmonella*

Al-Otaibi, Mutlag M.

The study was conducted on three samples of yoghurt, the first produced by traditional starter cultures (*Streptococcus* and *Lactobacillus*), the second by *Bifidobacterium* Bb-12, and the third by *Bifidobacterium* Bb-46. Each sample was divided into two parts and each part inoculated with *Salmonella* at 1750 and 350 cells per gram and stored at 4 ± 1°C for 15 days to determine the effect on the viability of this pathogen. The pH of the samples, as well as their contents of lactic and acetic acids and the counts of *Salmonella* were determined. The pH of the yoghurt produced by the traditional cultures was found to be the lowest, followed by that of the yoghurt produced by *Bifidobacterium* Bb-12, and then the one produced by *Bifidobacterium* Bb-46. The yoghurt produced by *Bifidobacterium* contained more acetic acid, while the one produced by traditional cultures contained more lactic acid. Disk diffusion tests using permeate from yoghurt samples as antibiotic reveled that the traditional culture was more inhibitory to *Salmonella* (clear zone diameter of 27 cm) than Bb-46 and Bb-12 (clear zones diameters of 22 and 23, respectively). The counts of *Salmonella* decreased in all samples during storage, with more inhibition found in the traditional cultures. Complete inhibition of all *Salmonella* cells occurred within 5 days in traditional yoghurt samples inoculated with 1750 cells per gram and within 7 days in samples inoculated with 3500 cells per gram. *Salmonella* in Bb-12 and Bb-46 samples inoculated with 1750 cells per gram was completely inhibited within 10 and 15 days of storage, respectively, while the samples inoculated with 3500 cells per gram contained some viable *Salmonella* cells after the 15 days storage period. The study showed that both types of yoghurt, traditional or probiotic, were inhibitory to *Salmonella.* Traditional yoghurt had higher inhibitory effect, followed by the Bb-12 and then the Bb-46 yoghurts. The inhibitory effects of these yoghurts result from their low pH and their high contents of the antimicrobial organic acids.