مجلة
الإسكندرية
للتبادل العلمي

مجلد ٣٤ | يناير – مارس | ٢٠١٣

تأثير الزبادي الداعم للحيوية كمضاد لبعض أنواع البكتيريا الممرضة

مطلق محمد العتيبي[1]

الملخص العربى

تم دراسة منتجات الزبادي التقليدي وكذلك المحتوي على البكتيريا الداعمة للحيوية التجاري المتواجدة في أسواق مدينة الأحساء بالمملكة العربية السعودية كمضاد لبكتيريا (*E. coli*) *Escherichia coli* وبكتيريا *Salmonella*. في هذا البحث تم استخدام ثلاث أنواع من الزبادي الداعم للحيوية بالبكتيريا السالفة الذكر وكذلك من خلال تلقيح الزبادي التقليدي كعينة مرجعية (Control) حيث تم استخدام طريقة الانتشار لتقدير النشاط التثبطي لهذه المنتجات.

ومن النتائج المتحصل عليها وجد أن الزبادي التقليدي والداعم للحيوية الأول سجلا أقل قيم في الأس الهيدروجيني. من ناحية أخرى أحتوى الزبادي التقليدي على أكبر كمية من حامض اللاكتيك وأقل كمية من حامض الخليك بصورة معنوية ($P\leq0.05$) مقارنة بباقي العينات. في حين أظهر الزبادي الأول والثالث زيادة معنوية في كمية حامض الخليك مقارنه بالعينات الأخرى.

وعند دراسة تأثير المترشح الناتج عن المنتجات قيد الدراسة تبين أن أكبر نشاط معنوي مضاد لبكتيريا *E. coli* يعزى إلي المنتج الثاني والمنتج العينة المرجعية. في حين أن المنتج الأول سجل زيادة معنوية للتثبيط ضد بكتيريا *Salmonella* (قطر منطقة التثبيط ١٧,٥ ملليمتر) يليه المنتج العينة المرجعية، بينما سجل المنتج الثالث أقل قدرة تثبيط.

وعند تلقيح أنواع الزبادي المختلفة ببكتيريا الإشيريشيا كولاي *E. coli* وتقدير أعدادها طول مدة التخزين (١٥ يوم) نجد أن أعداد بكتيريا *E. coli* يحدث لها انخفاض معنوي تدريجيا بتقدم مدة التخزين بالنسبة لكل العينات وهذا الانخفاض تبعة اختفاء للبكتيريا تماماً بعد ١٠ أيام في المنتج العينة المرجعية مسجلاً بذلك أقوي نشاط مضاد لهذه البكتيريا بصورة معنوية مقارنة بباقي المنتجات، وتبعه في ذلك المنتج الأول والذي اختفت فيه البكتيريا بعد ١٥ يوم من زمن التخزين.

وعند تلقيح أنواع الزبادي المختلفة ببكتيريا *Salmonella* وتتبع أعدادها أثناء التخزين وجد أن المنتج الداعم للحيوية الأول يليه المنتج المرجعي أعطى أقوي تأثير مضاد لبكتيريا *Salmonella*. وعلى العكس فقد أعطى المنتج الداعم للحيوية الثالث يليه الثاني أقل انخفاض في أعداد بكتيريا *Salmonella* حيث كان الانخفاض غير معنويا إلى اليوم العاشر واليوم الخامس من التخزين على الترتيب. وباستمرار التخزين ظهر الانخفاض المعنوي في أعداد بكتيريا *Salmonella* بعد ١٠، ١٥ يوم في المنتج الثالث والثاني على التوالي.

وفي ظل هذا الانخفاض المعنوي مازال أعداد بكتيريا *Salmonella* المتواجدة إلي نهاية مدة التخزين بأعداد ٤,٤٥، ٥,٥٨ دورة لوغاريتمية/ مل زبادي. وعند مقارنة المنتجات في تأثيرها على بكتيريا *Salmonella* أثناء فترات التخزين نجد أن المنتج الأول يليه المنتج العينة المرجعية هما اللذان أعطيا أكبر تأثير بصورة معنوية بالمقارنة بباقي العينات وذلك طوال فترة التخزين والذي لم يتم العثور على أي أعداد حية لبكتيريا *Salmonella* بعد ١٠أيام و١٥ يوم من فترة التخزين على الترتيب. ومن النتائج السابقة يتبين أن الزبادي التقليدي والداعم للحيوية لهما تأثير مثبط ضد بكتيريا *E. coli* و *Salmonella* بدرجات متفاوتة ترجع إلى مدى احتواء تلك المنتجات على الأحماض العضوية وقيم الأس الهيدروجيني.

[1] قسم علوم الغذاء والتغذية– كلية العلوم الزراعية والأغذية
جامعة الملك فيصل– المملكة العربية السعودية
استلام البحث في ١ يناير ٢٠١٣، الموافقة على النشر في ٣١ يناير ٢٠١٣

المقدمـــة

انتشرت في الآونة الأخيرة في أسواق المملكة العربية السعودية أنواع من الألبان المتخمرة الداعمة للحيوية Probiotic fermented milk وهي عبارة عن ألبان متخمرة تحتوي على بكتيريا تعرف بالبكتيريا الداعمة للحيوية probiotic bacteria وهي تضمن مجموعة كبيرة من البكتيريا أغلبها يندرج تحت جنسي *Lactobacillus & Bifidobacterium*. وتعرف هذه البكتيريا على أنها عبارة عن مجموعة من الأحياء الدقيقة في صورة حية وعند تناولها بكمية كافية فان لها تأثيرات صحية مفيدة للمستهلك (FAO/WHO, 2001). ومن التأثيرات الصحية المهمة لهذه البكتيريا هي نشاطها المضاد للبكتيريا المسببة للأمراض أو المسببة للفساد الغذائي. فقد أوضح (Ouwehand and Vesterlud, 2004) أن المركبات المسئولة عن النشاط المضاد للبكتيريا الناتجة من بكتيريا حمض اللاكتيك وبكتيريا البيفيدو تتضمن الأحماض العضوية وفوق أكسيد الهيدروجين وثاني أكسيد الكربون وثنائي الاسيتيل والبكتيريوسين والمركبات المضادة للبكتيريا المنخفضة الوزن الجزيئي. كما وجد الباحثون أن بكتيريا البيفيدو التي تم عزلها من الأشخاص البالغين أظهرت قدرة عالية على وقف نمو بكتيريا *Staphylococcus aureus* (Lahtinen, *et al.*, 2007). وتم إنتاج البكتيريوسين المضاد للبكتيريا من بكتيريا البيفيدو المعزولة من براز الأطفال حيث وجد أن له نشاط مضاد لبكتيريا اللستيريا *Listeria monocytogenes* (Toure *et al.*, 2003). وأيضا قام Saleh and El-Sayed (2004) بتحضير بكتيروسين من بكتيريا البيفيدو وكان له أثر مضاد لبكتيريا *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. وحديثا قام كثير من العلماء باستخلاص البكتيريوسين من بكتيريا البيفيدو وأيضا من بكتيريا الاسيدوفليس وأثبت أن له تأثير مضاد واسع ضد البكتيريا المرضة (Mkrtchyana *et al.*, 2010 and Ahmad *et al.*, 2009 and Ahmad *et al.*, 2010). كما أوضح Lee *et al.*, (2003) أن تسع عزلات من بكتيريا البيفيدو وبكتيريا الأسيدوفلس كان لها تأثير واضح على منع الأمراض التي قد يسببها حدوث الإصابة ببكتيريا *Clostridium difficile*. ويعتقد بعض العلماء مثل Fooks and Gibson, (2002,2003), Luc and De Vuyst (2006). أن التأثير المضاد للبكتيريا الذي تسببه بكتيريا البيفيدو ضد بعض البكتيريا السالبة لصبغة جرام يرجع بالدرجة الأولى للأحماض العضوية التي تفرزها هذه البكتيريا مثل حامض اللاكتيك وحامض الخليك وإنخفاض رقم الاس الهيدروجيني. وفي نفس السياق أثبت Abd El-Gawad *et. al.*, (2007) أن اللبن المتخمر بواسطة سلالتين من بكتيريا البيفيدو له تأثير مضاد ضد بكتيريا *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* وأعزى ذلك التأثير إلي الأحماض العضوية المنتجة.

والدراسات التي تناولت التأثير المضاد للبكتيريا المرضة للمنتجات المحتوية على البكتيريا الداعمة للحيوية وخصوصا التجارية والمنتشرة الأن في الأسواق تعتبر قليلة جداً (Noriega *et. al.*, 2003 and Al-Haddad, 2003). ومن ناحية أخرى فإن مدى الدراسات التي تناولت ارتباط التأثير المضاد للبكتيريا بنواتج التمثيل الأيضي لبكتيريا الدعم الحيوي مثل الأحماض العضوية (حامض اللاكتيك والخليك) قليلة جدا. لذلك كان الهدف من هذا البحث هو دراسة تأثير الزبادي التجاري المحتوي على البكتيريا الداعمة للحيوية التجاري ضد البكتيريا المرضة مثل بكتيريا *Escherichia coli* و *Salmonella* مقارنة بالزبادي العادي وأيضا الزبادي التجاري مع دراسة الأحماض العضوية التي تحتويها هذه الأنواع من الزبادي ومدى تأثيرها على الأعداد الحية لهذه البكتيريا المرضة.

الطرق والخامات:

١–الزبادي الداعم للحيوية التجاري

تم الحصول على ثلاث منتجات لبن متخمر تجارية تحتوي على البكتيريا الداعمة للحيوية من ثلاث شركات مختلفة من السوق المحلي بمدينة الأحساء وكذلك منتج لبن متخمر واحد مصنع باستخدام بادئ الزبادي العادي الذي تم استخدامها في الدراسة كعينة مرجعية (control)،وذلك كما هو موضح في الجدول رقم (١).

٢– بكتيريا السالمونيلا وبكتيريا القولون

تم الحصول على بكتيريا الإشيرشيا كولاي *E. coli* بعزلها من الأغذية في المعمل، أما بكتيريا *Salmonella* فقد تم الحصول عليها من مختبر الصحة العامة التابع لإدارة المختبرات بوزارة الصحة.

جدول رقم ١. المنتجات التي تم استخدامها في هذه الدراسة

المنتجات	التوضيح
المرجعي	زبادي تقليدي مصنع من مزرعة بكتيريا حامض اللاكتيك *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
الأول	لبن متخمر (١٠٠%حليب بقري، يحتوي على بكتيريا *Bifidobacterim & Lactobacillus acidophilus*)
الثاني	لبن متخمر (حليب بقري، يحتوي على مزرعة البكتريا الداعمة للحيوية)
الثالث	لبن متخمر (حليب طازج ٥٠%، حليب مسترجع ٥٠%، يحتوي على بكتيريا البيفيدو Bifidobacterim

٣- البيئات والكيماويات

استخدمت بيئة Violet Red Bile Agar (VRBA) لعد بكتيريا *E. coli*، أما لعد بكتيريا *Salmonella* فقد تم استخدام بيئة Xylose Lysine Desoxycholate Agar (XLD; Oxoid 469). تم الحصول علي الأحماض العضوية القياسية عالية النقاوة من شركة Fluka كأحماض قياسية لجهاز الـ HPLC

٤- طريقة إعداد بكتيريا القولون وبكتيريا السالمونيلا لإحداث التلوث في الزبادي

تم إنماء بكتيريا *E. coli* على بيئة VRBA وبكتيريا *Salmonella* على بيئة XLD لمدة ٤٨ ساعة ثم تم أخذ مستعمرات نقية من البكتيريا النامية علي سطح الطبق البتري وعمل معلق من كل بكتيريا على حدا في أنبوبة اختبار بها محلول ملحي ٨٥.٠% وتم ضبط التركيز لإعداد البكتيريا بواسطة جهاز قياس الطيف (Spectrophotometer) اعتمادا علي أن القراءة ٠,٥±٠,٠١ تعني ٣-٤ ×١٠^{٨} خلية لكل ملي من بكتيريا *Salmonella* (Lahtinen, *et al.*, 2007) بعد ذلك تم إضافة ١ مل من المعلق السابق علي ١٨٠ جم من كل نوع من أنواع الزبادي السابق لتعطي حسابيا ١,٦×١٠^{٦} خلية لكل جرام من الزبادي وبعد ذلك تم تخزين كل هذه المعاملات في الثلاجة وتم التحليل بعد ٢٤ ساعة وكذلك بعد ٥، ١٠، ١٥ يوم من التخزين.

٥- تقدير الأس الهيدروجيني pH

تم تقدير الأس الهيدروجيني باستخدام جهاز قياس رقم الأس الهيدروجيني (pH meter Oakton 35619-10) علي درجة حرارة الغرفة.

٦- تقدير الأحماض العضوية في الزبادي.

تم تقدير الأحماض العضوية (حامض اللاكتيك وحامض الخليك) في الزبادي تبعا لطريقة Adhikari *et al.*, (2000) باستخدام جهاز الكروماتجرافي السائل عال الكفاءة HPLC كما يلي: وزن ١٠ جم من عينة الزبادي تخلط مع ١٠ مل من محلول حامض الكبريتيك ٠,٠١ عياري وأجراء التقليب بالمقلب المغناطيسي لمدة ساعة بعد ذلك نجري للمخلوط طرد مركزي علي ١٠٠٠٠ لفة في الدقيقة لمدة ٢٥ دقيقة ثم نحصل علي الطبقة العلوية الرائقة ثم يتم ترشحها بالمرشح الدقيق سعة ثقوبه ٠,٢ ميكروميتر ويجمع ١-٣ مل في أنبوبة صغير ثم تحقن في جهاز الـ HPLC ماركة Hewllet Packared موديل ١٠٥٠ مزود بحاقن تلقائي وكاشف بالأشعة الفوق بنفسجية مثبت علي طول موجي قدرة ٢١٠ نانوميتر وعمود فصل (Alltach 150×4.6 mm, 5µm) علي درجة حرارة ٣٥°م والطور المتحرك عبارة عن حامض كبريتيك ٠,٠١ عياري. تم استخدام أحماض عضوية قياسية (حامض اللاكتيك وحامض الخليك). ومن خلال وقت الظهور والمسحة تحت المنحني تم حساب تركيز كل حامض على حده.

٧- طريقة عمل النشاط المضاد للبكتيريا (طريقة الانتشار من خلال القرص الورقي)

تم إضافة ١ مل من معلق بكتيريا *E. coli* وبكتيريا *Salmonella* كلا على حدة علي بيئة الأجار المغذي في أنبوبة اختبار وتخلط جيدا ثم تفرش علي سطح الطبق البتري المحتوي علي بيئة VRPA وبيئة XLD agar على الترتيب وتترك لمدة ٥ دقائق. ومن جهة أخرى تم القيام بعمل طرد مركزي لعينات الزبادي قيد الدراسة ثم جمع المترشح باستخدام المرشح البكتيري ذو سعة ثقوب ٠,٢ ميكروميتر تحت ظروف تعقيم للتخلص من أي بكتيريا قد

توجد في المترشح ثم اؤخذ ١٠ ميكروميتر الناتج ووضع على قرص من ورق الترشيح قطره ٥ ملليمتر موضوع عل سطح الطبق البتري السابق ثم حضن على درجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة وتم قياس المنطقة الرائقة حول القرص.

النتائج والمناقشة

١–تقدير الأس الهيدروجيني والأحماض العضوية

الجدول رقم (٢) يوضح الأس الهيدروجيني والأحماض العضوية في منتجات الزبادي قيد الدراسة. ويلاحظ من خلال الأرقام المتحصل عليها أن الزبادي التقليدي والداعم للحيوية الأول سجلا أقل قيم في الأس الهيدروجيني مقارنة بباقي أنواع الزبادي الأخرى الثاني والثالث، بينما سجل الزبادي الثاني الداعم للحيوية أكبر أس هيدروجيني.من ناحية أخري أحتوى الزبادي التقليدي على أكبر كمية من حامض اللاكتيك وأقل كمية من حامض الخليك بصورة معنوية($P\leq0.05$) مقارنة بباقي العينات. في حين أظهرت الزبادي الأول والثالث زيادة معنوية في كمية حامض الخليك عن العينات الأخرى. وقد يرجع انخفاض رقم الـ pH في العينة المرجعية والعينة الأولي إلى زيادة كمية حامض اللاكتيك وحامض الخليك في هذه العينات على التوالي. وهذه النتائج متوافقة مع ما ورد في أبحاث Adhikari, (2000 and 2003) وكذلك Saleh *et al.*, (2004) وأيضاً Al-Otaibi (2008).

٢. النشاط المضاد للبكتيريا للمترشح الناتج من منتجات الزبادي التجاري

تأثير المترشح الناتج من الزبادي الداعم للحيوية التجاري ضد بكتيريا *E. coli* وبكتيريا *Salmonella* معروض نتائجها في جدول رقم (٣). من النتائج المتحصل عليها نجد أن أكبر نشاط معنوي مضاد لبكتيريا *E. coli* يعزى إلي المنتج الثاني والمنتج العينة المرجعية، بينما سجل المنتج الثالث أقل تأثير بالمقارنة بالمنتجات الأخرى. وقد يرجع التأثير الأكبر للمنتج العينة المرجعية (الزبادي التقليدي) لاحتوائه على كمية كبيرة من حامض اللاكتيك عن باقي المنتجات وله أقل قيمة من الأس الهيدروجيني (جدول رقم: ٢).

ومن جهة أخرى سجل المنتج الأول زيادة معنوية لقطر التثبيط ضد بكتيريا *Salmonella* (قطر منطقة التثبيط١٧,٥ ملليمتر) يليه المنتج العينة المرجعية بينما سجل المنتج الثالث أقل تثبيط. وهذا التأثير قد يرجع إلي احتواء المنتج الأول على أكبر كمية حامض الخليك وأقل قيمة للأس الهيدروجيني. وعند مقارنة تأثير كل منتج على نوعي البكتيريا الممرضة، فنجد أن المنتج القياسي و الأول لهما تأثير على بكتيريا *Salmonella* أكبر من تأثيرهما على بكتيريا *E. coli* بزيادة معنوية. في حين أن المنتج الثاني كان له تأثير أقوي على بكتيريا *E. coli* عن بكتيريا *Salmonella*. أما المنتج الثالث فسجل أقل تأثير على كلا النوعين من البكتيريا الممرضة بدون فرق معنوي بينهما. وقد يرجع التأثير المثبط للراشح على احتوائه على حامض اللاكتيك الذي له تأثير قاتل للخلايا عن طريق تخلله لجدر خلايا البكتيريا (Gohil, *et al.*, 1996). وقد يرجع التأثير المثبط أيضا لوجود بكتيريا البيفيدو التي لها فعل مثبط لما تفرزه من مركبات مثل فوق أكسيد الهيدروجين والبكتريوسين (Lahtinen *et al.*, 2007).

والنتائج المتحصل عليها تتوافق مع نتائج كل من Bevilacqua *et al.*, (2003); Makras *et al.*, (2006) and Lahtinen *et al.*, 2007 حيث أوضحوا أن البكتيريا الداعمة للحيوية لها تأثير مثبط ضد البكتيريا الممرضة أمثال *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* and *E .coli*.

الأعداد الحية لبكتيريا *E. coli* في الزبادي الداعم للحيوية التجاري أثناء التخزين علي درجة حرارة ٤±١°م معروض نتائجها في شكل رقم(١) وبشكل عام ، لوحظ أن أعداد بكتيريا *E. coli* انخفضت معنوياً تدريجيا بتقدم زمن التخزين بالنسبة لكل العينات، هذا الانخفاض تبعة اختفاء لهذه البكتيريا تماما بعد ١٠ أيام في المنتج المرجعي مسجلا بذلك أقوي نشاط مضاد لهذه البكتيريا بصورة معنوية مقارنة بباقي المنتجات. وتبعه في ذلك المنتج الأول والذي اختفت فيه البكتيريا بعد ١٥ يوم من زمن التخزين، أما المنتجان الثاني والثالث فظلت أعداد بكتيريا *E. coli* متواجدة حتى اليوم الخامس عشر من التخزين على الرغم من أن أعداد البكتيريا في المنتج الثالث كانت أقل منها في المنتج الثاني بمعنوية.

جدول٢. الأس الهيدروجيني والأحماض العضوية للزبادي الداعم للحيوية التجاري بعد التصنيع مباشر

المنتجات	الأس الهيدروجيني pH	الأحماض العضوية (مليجرام/١٠٠جرام)	
		حامض اللاكتيك	حامض الخليك
المرجعي	4.46±0.01[c]	1203.1±36.7[a]	49.0±1.4[c]
الأول	4.46±0.01[c]	806.6±26.1[b]	68.5±1.2[a]
الثاني	4.82±0.02[a]	597.9±11.7[c]	57.2±3.2[b]
الثالث	4.52±0.01[b]	899.4±83.7[b]	65.2±2.0[a]

[a,b,c,d] القيم التي تحمل الأحرف المتشابهة الصغيرة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية ($P \leq 0.05$).

جدول ٣. تثبيط بكتيريا *E.coli* وبكتريا *Salmonella* بواسطة المترشح الناتج من الزبادي الداعم للحيوية التجاري باستخدام طريقة الانتشار من خلال القرص

المنتجات	قطر منطقة التثبيط (ملليمتر)* (المتوسط ± الانحراف المعياري)	
	Escherichia coli	*Salmonella*
المرجعي	[B]14.5±0.7[a]	[A]15.5±0.7[b]
الأول	[B]11.5±0.7[b]	[A]17.5±0.7[a]
الثاني	[A]14.5±0.7[a]	[B]12.5±0.7[c]
الثالث	[A]10.0±0.0[b]	[A]10.0±0. 0[d]

* قطر منطقة التثبيط متضمنة قطر القرص الورقي ٥ ملليمتر

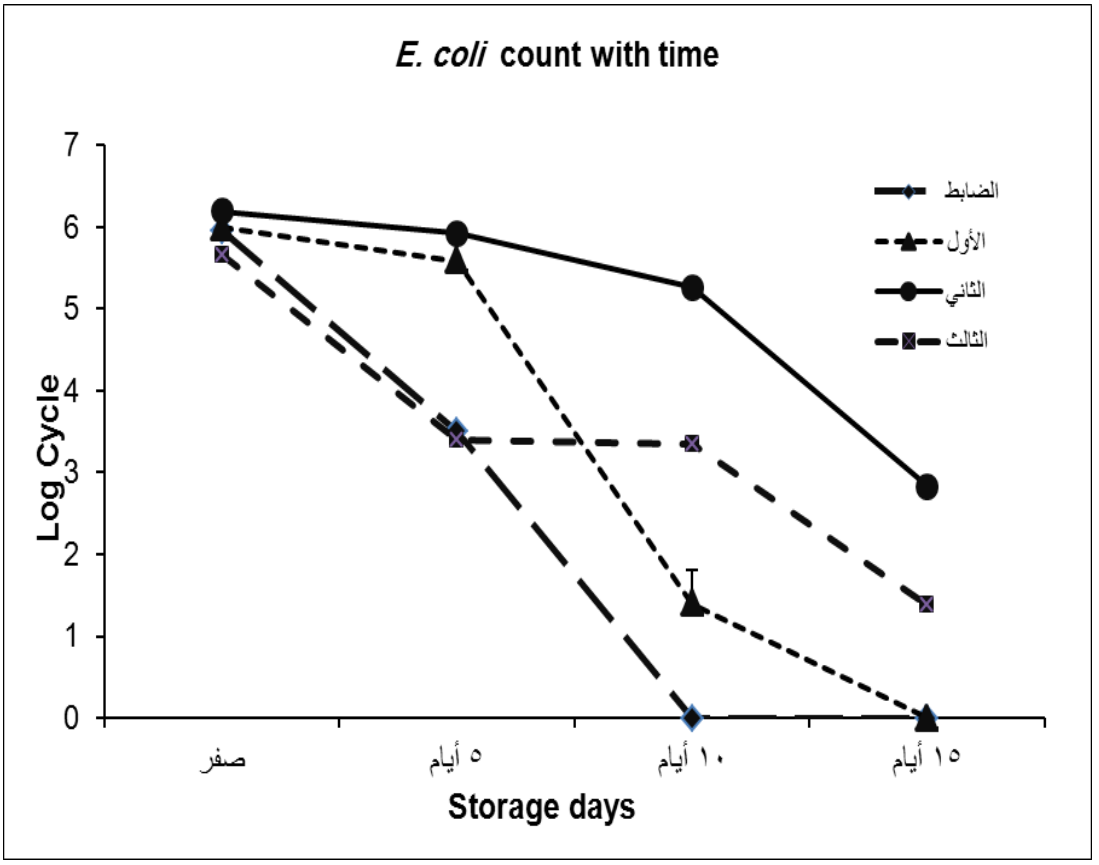
[a,b,c,d] القيم التي تحمل الأحرف المتشابهة الصغيرة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية ($P \leq 0.05$)

[A,B] القيم التي تحمل الأحرف المتشابهة الكبيرة في الصف الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية ($P \leq 0.05$)

وعند مراقبة أعداد بكتيريا *E. coli* في المنتج القياسي والثالث بعد ٥ أيام من التخزين، نلاحظ انخفاض معنوي في العدد مقارنتا بباقي المنتجات. بينما أظهر المنتج الثاني أقل تأثيرا على بكتيريا *E. coli* طوال فترات التخزين حيث بقيت الأعداد ٢,٨٣ دورة لوغارتمية في نهاية مدة التخزين. وهذه النتائج متوافقة مع نتائج Massa, et al., (1997) حيث وجدت أن الأعداد الحية من بكتيريا *E. coli* إنخفضت من ٣,٥٢ إلي ٢,٧٢ وأيضا من ٣,٤٩ إلي ٢,٧٣ دورة لوغاريتمية وذلك بعد ٧ أيام من وقت التخزين على درجة حرارة٤°م في الزبادي التقليدي والزبادي المحتوي على بكتيريا البيفيدو على التوالي، أي أن تأثير الزبادي العادي أكبر من تأثير الزبادي الداعم للحيوية. كما وجد Evrendilek, (2007) أن بكتيريا *E. coli* إنخفضت بصورة معنوية عند تواجدها في الزبادي التقليدي على درجة حرارة ٤°م بالمقارنة بتواجدها على درجة حرارة ٢٢°م.

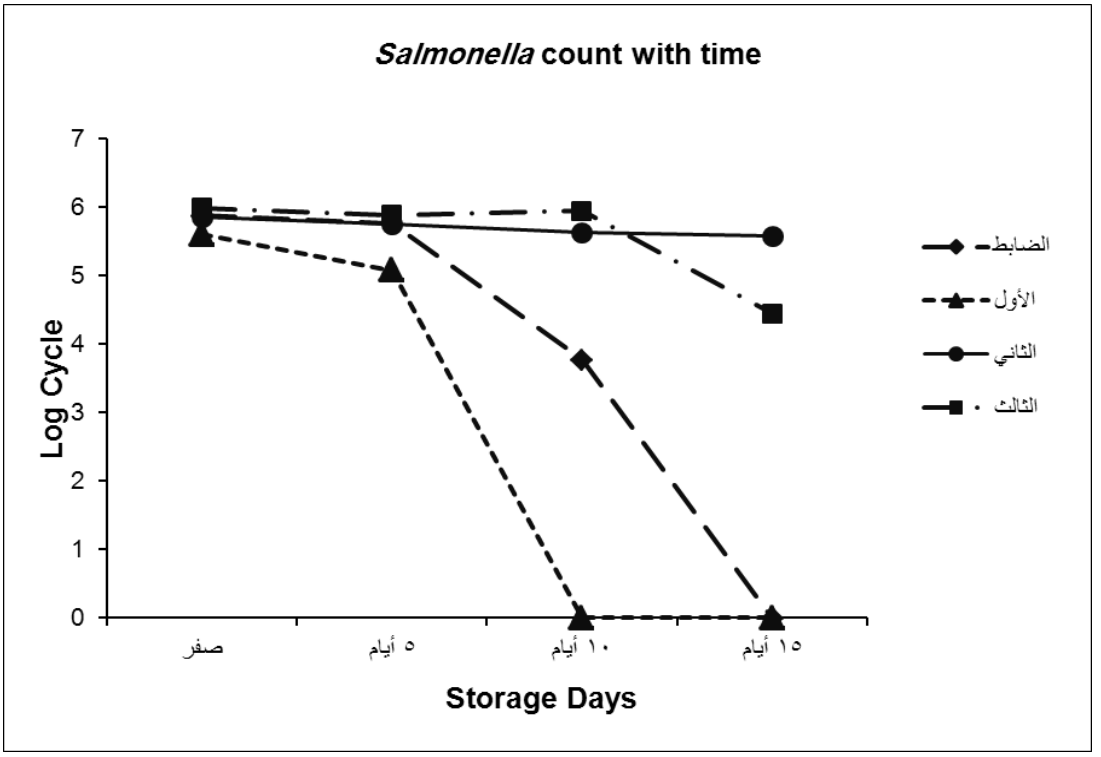
نتائج تأثير الزبادي التقليدي والزبادي الداعم للحيوية التجاري على الأعداد الحية لبكتيريا *Salmonella* أثناء التخزين على درجة ٤°م معروض في شكل رقم (٢). من نتائج التحليل الإحصائي يتبن أن أعداد بكتيريا *Salmonella* تنخفض تدريجيا بصورة معنوية بتقدم مدة التخزين في جميع المعاملات مع وجود فروق معنوية بين المعاملات في درجة الانخفاض تلك. فقد سجل المنتج الداعم للحيوية الأول يليه المنتج المرجعي أقوي تأثير للقضاء على بكتيريا *Salmonella*. وعلى العكس فقد أعطى المنتج الداعم للحيوية الثالث يليه الثاني أقل انخفاض في أعداد بكتيريا *Salmonella* حيث كان الانخفاض غير معنويا إلى اليوم العاشر واليوم الخامس من التخزين على الترتيب. وباستمرار التخزين ظهر الانخفاض المعنوي في أعداد بكتيريا *Salmonella* بعد ١٥، ١٠ في المنتج الثالث والثاني على التوالي. وفي ظل هذا الانخفاض المعنوي مازالت أعداد بكتيريا *Salmonella* متواجدة إلي نهاية مدة التخزين بأعداد ٤,٤٥، ٥,٥٨ دورة لوغاريتمية/ مل زبادي. وعند مقارنة المنتجات في تأثيرها على بكتيريا *Salmonella* أثناء فترات التخزين نجد أن المنتج الأول يليه المنتج المرجعي هما اللذان أعطيا أكبر تأثير بصورة معنوية بالمقارنة بباقي العينات وذلك طوال فترة التخزين والذي لم يتم العثور على أي أعداد حية لبكتيريا *Salmonella* بعد ١٠ أيام و١٥ يوم من فترة التخزين على الترتيب. وقد يرجع التأثير الفعال للمنتج الأول

إلي أنه سجل أقل قيمة للأس الهيدروجيني وأكبر محتوي من حامض الخليك، فقد ذكر Makras and Vuyst (2006) أن تأثير بكتيريا البيفيدو المثبط للبكتيريا السالبة لصبغة جرام يرجع بالدرجة الأولي إلي إنتاجه للأحماض العضوية. ومن ناحية أخري قد يرجع التأثير المثبط إلي وجود سلالة من بكتيريا البيفيدو ربما تكون لها القدرة على إنتاج بكتيريوسين له تأثير مثبط لبكتيريا *Salmonella*. فقد ذكر Saleh and El-Sayed (2004)، Lahtinen *et al.*, (2007) ، Ahmad *et. al.*, (2010) and Mkrtchyana *et. al.*, (2010). أن بكتيريا البيفيدو تنتج بكتيريوسين له القدرة على تثبيط نمو البكتيريا السالبة لصبغة جرام. وهذا النتائج متوافق مع Mothershaw and Jaffer (2004)، حيث وجدوا تأثير مثبط للزبادي ضد بكتيريا *Salmonella* وكان التأثير كبير عند خلط الزبادي مع عصير البرتقال. كما أثبت Alm (1983) أن الزبادي يحتوي على مركبات لها أثر مثبط على بكتيريا *Salmonella* ويزداد هذا الأثر المثبط عند خلط الزبادي بمشابهات العصارة المعدية. كذلك توصل Al-Otaibi (2008) إلى أن الزبادي التقليدي والزبادي المحتوي علي بكتيريا البيفيدو لهما تأثير مثبط ضد بكتيريا *Salmonella* وعزي ذلك لإنتاج الأحماض العضوية مثل حامض اللاكتيك وحامض الخليك. وكذلك اتفقت النتائج مع (Al-Haddad, 2003) الذي ارجع التأثير المثبط للزبادي التقليدي والزبادي الداعم للحيوية ضد بكتيريا *Salmonella* إلي انخفاض قيمة الأس الهيروجيني.



شكل ١.أعداد بكتيريا الإيشيريشيا كولاي *E. coli* في الزبادي الداعم للحيوية التجاري أثناء التخزين على درجة حرارة ٤±١°م*

*: لوغاريتم ١٠ وحدة مكونة للمستعمرة/مل زبادي (المتوسط ± الانحراف المعياري)



شكل ٢. أعداد بكتيريا السلمونيلا *Salmonella* في الزبادي الداعم للحيوية التجاري أثناء التخزين علي درجة حرارة ٤±١°م*

*: لوغاريتم ١٠ وحدة مكونة للمستعمرة/مل زبادي (المتوسط ± الانحراف المعياري)

المـــراجـــع

Abd El-Gawad, I. A.; El-Sayed, E. M.; Hafez, S. A.; El-Zeini, H. M. and Saleh, F. A. (2007). Antibacterial activity of probiotic yoghurt and soy-yoghurt against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. 10th European Nutrition Conference 10th - 13th July, Paris, France.

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

Adhikari, K.; Mustapha, A. and Grun, I. U. (2003). Survival and metabolic activity of microencapsulated *bifidobacterium longum* in stirred yoghurt. Food microbiology and safety, (68), 1: 275-280.

Ahmad, C.; Natascha, C.; Haiqin, C. Jianxin, Z.; Tang Jian, T.; Hao, Z. and Wei, C. (2010). Bifidin I – A new bacteriocin produced by *Bifidobacterium infantis* BCRC 14602: Purification and partial amino acid sequence. Food Control, 21: 746–753.

Ahmad, C.; Natascha, C.; Haiqin, C. Jianxin, Z.; Tang Jian, T.; Hao, Z. and Wei, C. (2009). Antimicrobial activity and partial characterization of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) produced by *Bifidobacterium infantis* BCRC 14602. Food Control, 20: 553–559.

Al-Haddad, K. S. (2003). Survival of salmonellae in bio-yoghurt. International Journal of Dairy Technology, 56(4):199-202.

Alm, L. (1983). Survival rate of *Salmonella* and *Shigella* in fermented milk products with and without added human gastric juice: an in vitro study. Progress Food and Nutrition Science, 7(3-4):19-28.

Al-Otaibi, M. M. (2008). Effect of traditional culturers on yoghurt starter and the probiotic starter cultures of Bifidobacteria on the pathogenic bacterium Salmonella. Alexandria Science Exchange Journal, 3: 183-190.

Bevilacqua, L.; Ovidi, M.; Elena Di Mattia, E.; Luigi Daniele Trovatelli, D. and Francesco Canganella, F. (2003). Screening of *Bifidobacterium* strains isolated from human faeces for antagonistic activities against potentially bacterial pathogens. Microbiology Research, 158:179-185.

Evrendilek, G. A. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in yoghurt drink, plain yoghurt and salted (tuzlu) yogurt: Effects of storage time, temperature, background flora and product characteristics. International Journal of Dairy Technology 60(2): 118-122.

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.

Massa, S.; Altieri, C.; Quaranta, V. And De Pace, R. (1997). Survival of *Escherichia coil* O157:H7 in yoghurt during preparation and storage at 4 degrees C. Letter Applied Microbiology, May; 24(5):347-350.

Mkrtchyana, H.; Gibbonsb, S.; Heidelbergerb, S.; Zlohb, M. and Limakia, H. K. (2010). Purification, characterisation and identification of acidocin LCHV, antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain Narine. International Journal of Antimicrobial Agents, 35: 255–260.

Mothershaw, A. S. and Jaffer, T. (2004). Antimicrobial Activity of Foods with Different Physio-Chemical Characteristics. International Journal of Food Properties. 7(3) 629–638.

Noriega, L.; Gueimonde, M.; Alonso, L. and Reyes-Gavilan, C. G. (2003). Inhibition of *Bacillus cereus* growth in carbonated fermented bifidus milk. Food Microbiology, 20, 519–526.

Ouwehand, A. C. and Vesterlund, S. (2004). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In: Salminen, S., VonWright, A., Ouwehand, A. (Eds.), Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 375–395.

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 International Egyptian Conference for Dairy Science and Technology, 323-332.

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

Toure, R., Kheadr, E., Lacroix, C., Moroni, O. and Fliss, I. (2003). Production of antibacterial substances by bifidobacterial isolates from infant stool active against Listeria monocytogenes. *J Appl Microbiol* 95, 1058-1069.

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 synbiotics on the human intestinal pathogens *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli*. Anaerobe, 9, 231–242.

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

Hussein, S. A. and Kebary, M. K. (1999). Improving viability of bifidobacteria by microentrapment and their effect on some pathogenic bacteria in stirred yoghurt. Acta Alimentaria, 28(2):113-131.

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

Lee, Y. J; Yu, W. K. and Heo, T. R. (2003). Identification and screening for antimicrobial activity against *Clostridium difficile* of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*species isolated from health infant faeces. Inter. J. Antimicrobial Agents, 21: 340- 346.

Luc De Vuyst, L. M. (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.

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.

Makras, L.; Triantafyllou, V.; Fayol-Messaoudi, D.; Adriany, T.; Zoumpopoulou, G.; Tsakalidou, E.; Servin, A. and De Vuyst, L. (2006). Kinetic analysis of the antibacterial activity of probiotic lactobacilli towards *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* reveals a role for lactic acid and other inhibitory compounds. Research in Microbiology 157:241-247.

SUMMARY

Probiotics Yoghurt and Their Effect on Growth of the Pathogenic Microorganisms

Mutlag M. Al-Otaibi

Different yoghurt products which contain probiotics as antipathogenic bacterial growth were studied in Al Hasa market, Saudi Arabia. Three types of yoghurt were selected in addition to the control (traditional yoghurt). It was found that the control and the first type probiotic yoghurt exhibited the lowest pH values when compared to all other treatments. Also, it was found that the control had the highest amount of the lactic acid and the lowest amount of the acetic acids significantly ($P \leq 0.05$) compared to all other treatments. However, the first and the third types had the highest amount of the acetic acid significantly ($P \leq 0.05$) compared to all other treatments. In addition to that, it was found that the greatest reduction in the *Escherichia coli* was in both the control and the second type products. Also, it was found that the greatest reduction in the *salmonella* count was in the control and the first type products. In a storage life study, it was found that a significant reduction in the *Escherichia coli* was happened during five days storage period and completely disappeared after 10, 15 days storage periods for the control and the first type products, respectively.

Also, it was found that a significant reduction in the *salmonella* count was happened during the 5 and 10 days storage periods for both the control and the first type products, respectively.

While, insignificant reduction in the *salmonella* count was found in other two types (type two and three) during the first period of the storage. However, this reduction was changed to become significant during the 10 and 15 days of storage periods. The final *salmonella* count was found to be 4.45 and 5.58 $\log_{10}$ /ml of yoghurt for the third and the second types, respectively. Finally, by comparing the results it was found that the control and the first type products had the highest reduction in the *salmonella* count compared to all other treatments during the 10 and 15 days of storage periods. These differences among the different treatments could be due to the variations in the organic acids contents and the different pH values. .