تصنيع منتوج لبني متخمر باستخدام عزلات مختلفة من بكتريا حامض اللاكتيك

أطروحة تقدم بها

غانم محمود حسن

إلى

مجلس كلية الزراعة والغابات في جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة

في

علوم الأغذية والتقانات الإحيائية

بإشراف

د. نزار فخري محمد **د. حامد صالح محمد**

رجب / 1428 هـ آب / 2007 م

الخلاصة

عزلت بكتريا *Bifidobacterium sp.* و *Lact. acidophilus* من براز أطفال حديثي الولادة ، وبكتريا *Lact. plantarum* من المخللات ، أما بكتريا *Lact. bulgaricus* و *Strep. thermophilus* عزلت من لبن غنم محلي وشخصت عن طريق دراسة الفحوصات المظهرية ، والكيميوحيوية لها ، ومقارنتها مع ما جاء بموسوعة Bergey's Manual للتأكد من نقاوتها .

كما درست مقاومة أنواع البكتريا أعلاه لأملاح الصفراء عند تركيزين 1 و2٪ وتأثيرها على نموها ، حيث وجد أن التركيز 2٪ أدى إلى انخفاض سريع في أعداد البكتريا مع زيادة وقت التعرض ، وكانت العزلة المستوردة *Bifidobacterium sp.* أكثر أنواع البكتريا مقاومة لأملاح الصفراء عند تركيز 1٪ ثم العزلة المستوردة *Lact. acidophilus* مع تفوقها على العزلة المحلية ، وكان كل من بكتريا *Lact. bulgaricus* و *Strep. thermophilus* الأقل مقاومة لأملاح الصفراء.

كما درست قابلية العزلات البكتيرية على الالتصاق ، وطبيعة النمو على مرق MRS و LBS-Agar من حيث تكوينها راسب أو عكارة أو كون نمواتها خشنة أو ناعمة على وسط LBS-Agar عند أعادة تنميتها لعشرة مرات .

أظهرت جميع العزلات قدرتها على خفض الكولسترول خارج الجسم الحي (invitro) بعد مرور 24 ساعة من التحضين وازداد الانخفاض مع زيادة فترة التحضين إلى 48 ساعة وكان أكثرها خفضاً للكولسترول هي العزلة المحلية لبكتريا *Bifidobacterium sp.* ، في حين كانت أدنى نسبة انخفاض في الكولسترول من قبل بكتريا *Lact. bulgaricus* و *Strep. Thermophilus* .

أحدث المستخلص الخالي من الخلايا CFE لكل من بكتريا *Bifidobacterium sp.* و *Lact. acidophilus* بعزلتيها المحلية والمستوردة قدرة تثبيطية عالية تجاه البكتريا المرضية *E. coli* ، Proteus ، Klebsiella ، *Bacillus subtilis* بينما ثبطت جميع العزلات البكتريا المرضية *Salmonella typhi* ووجد بأن إضافة الحامض الأميني L. cystine بنسبة 0.05٪ إلى CFE أو تسخين CFE إلى 100 ْم لمدة 15 ، 30 ، 45 دقيقة لم يكن له تأثير على فعالية CFE في حين أدى حفظ CFE في الثلاجة إلى انخفاض في فعالية CFE خلال 15 يوم .

أنتج اللبن من حليب أبقار وحليب أبقار مدعم بمسحوق ايسوميل 1 بنسب 2 و4٪ بدون أو مع إضافة 5٪ فركتوز أو سكروز ، وأجري له تحليل كيمياوي وتقييم حسي له عند إضافة مسحوق ايسوميل 1 إلى الحليب المستخدم في إنتاج اللبن أدى إلى زيادة محتوى اللبن من الدهن ، البروتين والسكريات وبالتالي زيادة في النسبة المئوية للمواد الصلبة الكلية وكذلك أدى إلى خفض الأس الهيدروجيني .

ووجد إن لنوع الحليب المستخدم في إنتاج اللبن تأثير على الصفات الحسية فقد حصلت عينة اللبن المنتجة من حليب أبقار على أعلى درجات النكهة واللون وأدت إضافة مسحوق ايسوميل 1 وكل من السكروز والفركتوز إلى تحسين صفات النسجة والقوام والمظهر.

وعند إجراء التجربة الحيوية للألبان المنتجة على الجرذان ازدادت أوزانها خلال 30 يوماً ، وكان هناك اختلاف في الوزن باختلاف العزلات البكتيرية إذ حققت مجموعة الجرذان التي تغذت على اللبن المنتج من العزلة المحلية *Bifidobacterium sp.* مع عليقة خاصة أعلى زيادة في الوزن ، وكانت أقل زيادة في الوزن في مجموعة الجرذان التي تغذت على اللبن المنتج من بكتريا *Strep. thermophilus* مع العليقة الخاصة .

حصل اختزال في العدد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون في براز الجرذان عند التغذية لمدة 30 يوماً على اللبن المنتج من العزلات البكتيرية وكانت أعلى نسبة مئوية للاختزال في براز مجموعتي الجرذان عند تغذيتهما على العليقة الخاصة مع اللبن المنتج باستخدام العزلتين المحلية والمستوردة لبكتريا *Bifidobacterium sp.* .

Abstract

Bifidobacterium sp. and *Lact. acidophilus* bacteria were isolated from newly born infant's stool while *Lact. plantarum* bacteria were isolated from pickles . As for *Lact, bulgaricus* and *Strep. thermophilus* bacteria, they were isolated from local sheep yoghurt and identified by studying the morphological and biochemical tests . Then they were compared with Bergey's Manual .

The resistance of the above-mentioned bacteria to bile salt at a concentration of 1 and 2% and the effect of these salts on the growth of bacteria were all studied . At a concentration of 2% , there was a reduction in the number of bacteria with the increase in exposing time to bile salt . At a concentration of 1% , the imported *Bifidobacterium sp.* was the most resistant to bile salt . On the other hand , *Lact, bulgaricus* and *Strep. thermophilus* were the least resistant to bile salt .

The ability of bacteria to adherence and the nature of growing in MRS broth and LBS . Agar were studied regarding the formation of sediment or turbidity and whether their growths were rough or smooth in LBS-agar when re-grown for ten time .

All bacteria showed ability in reducing cholesterol outside invitro after a 24-hour incubation . The reduction increased alongside with the increase incubation period up to 48 hours . The highest cholesterol reducing bacteria were *Bifidobacterium sp.* The least reduction was caused by *Lact. bulgaricus* and *Strep thermophilus* .

Cell free extract of *Bifidobacterium sp.* and *Lact. acidophilus* with their local and imported bacteria proved the highest ability to inhibit *E. coli*, Proteus, klebsiella and *Basillus subtilis* bacteria. All CFE of bacteria inhibit *Salmonella typhi* . It was found that adding

0.05% L. cystine to CFE or heating CFE up to 100 °C for 15, 30 and 45 minutes did not affect CFE activity . On the other hand, keeping CFE in a refrigerator caused reduction in CFE activity during 15 days.

Yoghurt was produced from cow milk and cow milk enhanced with 2 an 4% Isomil 1 with or without 5% fructose or sucrose . Then a chemical analysis was made . When adding Isomil 1 to milk used in producing yoghurt, the milk contents of fat, protein and sugar increased . This, in turn, lead to increase in total solid material percentages but decrease in pH .

It was found that the type of milk used in producing yoghurt has an effect on sensory evaluation in that the yoghurt sample produced from cow milk was the highest in flavour and colour . Adding Isomil 1, sucrose and Fructose caused improvement of texture, appearance and shape .

Conducing the biological assay on rats, they put on weight during 30 days . The weight varied according to the type of bacteria . Rats fed on yoghurt produced from local *Bifidobacterium sp.* with speciail diet blend got the highest weight . Rats fed on yoghurt produced from *Strep. thermophilus* bacteria with speciail diet blend got the least weight .

There was a reduction in the total count of bacteria and coliform bacteria in rat's feces within 30 days feeding on yoghurt produced from different bacteria . The highest reduction percentage in the two groups of rat's feces occurred when they fed on speciail diet with yoghurt produced by using local and imported *Bifidobacterium sp.*

Processing of Fermented Dairy Product by Using Different Isolated Lactic Acid Bacteria

A Thesis Submitted

By

Ghanim Mahmood Hassan

To

The Council of the College of Agriculture

and Forestry University of Mosul

In Partial Fulfillment of the Requirements For

the Degree of Ph.D. of Science

In

Food Science and Biotechnology

Supervised by

Dr. Nazar Fakhry Muhammad

Assistant Professor

Dr. Hamid Saleh Muhammad

Assistant Professor

1428 A. H. 2007 A. D.