

تأثير الحليب الفرز المخمر المدعم ببكتريا علاجية في بعض المعايير الفسلجية في ذكور الجرذان النامية

محمود اسعد عائد

mhmdayed@yahoo.com

طارق حسين حماده

كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة لمعرفة تأثير الحليب الفرز المخمر وغير المخمر في دهن وسكر الدم في جرذان سبراكو- داولي Sprague-Dawley كنموذج تجريبي. تمت تغذية الجرذان بغذاء أضيف له 1% مسحوق كولسترول. تم استخدام نوعين من المعززات هما *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium bifidum*. بينت النتائج زياده معنويه (عند مستوى احتماليه $P < 0.05$) في كفاءة معامل التحويل للمجموعتين اللتين غذيّا على الحليب الفرز المخمر ببكتريا *Bifidobacterium bifidum* والتي غذيت على الحليب الفرز المخمر بالبكتريا *Bifidobacterium bifidum* و *Lactobacillus acidophilus* مقارنة بمجموعة السيطرة. لوحظ انخفاض طفيف غير معنوي في الكولسترول الكلي لمعظم المجاميع وكانت افضلها المجموعة المغذاة على الحليب الفرز المخمر بمزيج من *L. acidophilus* و *B. bifidum* مقارنة بمجموعة السيطرة، كما لوحظ انخفاض معنوي في الدهون الثلاثية عند مستوى احتماليه ($P < 0.05$) للمجموعة ذاتها. حدث ارتفاع معنوي في مستوى كولسترول البروتينات الدهنية العالية الكثافة لمجموعة *acidophilus* *Lactobacillus* بتخمير وكذلك مجموعة *Bifidobacterium bifidum* بتخمير. أما كلايكوجين الكبد فقد ارتفع معنويا في مجموعة *Bifidobacterium bifidum* و *Lactobacillus acidophilus* بتخمير وكذلك ارتفع كلايكوجين العضلات معنويا في كافة المجاميع باستثناء المجموعة المغذاة *Lactobacillus acidophilus* بدون تخمر. يمكن الاستنتاج ان الاغذية الانفة الذكر تقوم بدور ايجابي في تحسين صورة دهون الدم في الجرذان وتزيد خزن الكلايكوجين في العضلات. اما فيما يتعلق بكلوكوز الدم فلا توجد اية تغيرات معنوية في كافة المجاميع.

الكلمات المفتاحية: بكتريا علاجية و دهون الدم و كلوكوز الدم و منتجات اللبن.

المقدمة

ان استخدام بكتريا حامض اللاكتيك في منتجات الالبان المتخمرة اخذت منحاً واسعاً في الآونة الاخيرة واهتماماً كبيراً في مجال البحوث الطبية والصيدلانية وصناعة الالبان. تعد بكتريا حامض اللاكتيك من اهم الاحياء المجهرية من الناحية الصناعية. اذ تتميز بقابليتها على تخمير السكريات وتأثيرها المضاد للبكتريا المرضية وأعطى القيمة الغذائية العالية لمنتجاتها ويعزى ذلك بشكل رئيسي الى النشاط الايضي للبكتريا (Gilliland، 1990). أشارت الدراسات ان المصريين القدامى استهلكوا اللبن المتخمّر التقليدي وهو ما يعرف باللبن الرائب من حوالي 7000 سنة قبل الميلاد (Shah، 2006). شهدت السنوات الاخيرة توجهاً واسعاً لاستعمال أنواعاً من بكتريا حامض اللاكتيك، ففي العام 1993 استعملت بكتريا *Lactobacillus* و *Bifidobacteria* في منتجات الحليب المتخمرة (Kneifel و Pacher، 1995) إذ استخدم خليط من بعض انواع بكتريا حامض اللاكتيك خاصة انواع من الاجناس *Lactobacilli* و *Bifidobacteria* وعمل ما يطلق عليها المعززات الحيوية (Probiotics) وهي كائنات حية مجهرية مفيدة صحياً (Martean وآخرون، 2007). ولهذه البكتريا تأثيرات مفيدة للإنسان مثل تحسين هضم اللاكتوز والتحكم في مستويات الكولسترول في الدم. اكتشفت تأثيرات الالبان المتخمرة لدى شعوب الماساي (Maasai) في افريقيا الذين يمتازون بانخفاض الكولسترول لديهم واصابات قليلة جداً بأمراض الاوعية القلبية وتصلب الشرايين بسبب استهلاك كميات كبيرة من الحليب المتخمّر بأنواع من *Lactobacillus* وان العلاقة بين بكتريا حامض اللاكتيك وانواعاً اخرى من المعززات الحيوية ومستوى الكولسترول اصبح محط اهتمام في السنوات الماضية. وتعد بكتريا *Bifidobacterium bifidum* و *Lactobacillus acidophilus* الاهم لكونها من

أكثر الأنواع السائدة في النبيت المعوي الطبيعي بمنطقة الأمعاء الغليظة والدقيقة لجسم الإنسان السليم في مختلف فئاته العمرية ولها دور في المحافظة على التوازن بين الأحياء النافعة والمرضية (Tador، 2008).

البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الثاني
تاريخ تسلم البحث 2015/5/18 وقبوله 2015/12/6

هدفت هذه الدراسة الى معرفة مدى تأثير اضافة الحليب الفرز بمفرده والحليب الفرز المدعم ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium bifidum* بتخمير وبدون تخمر كل على انفراد وبشكل مختلط والحليب الفرز المتخمير ببدائ اللبنة الاعتيادي (اليوغرت) *Lactobacillus bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* في رفع مستوى HDL وخفض الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية و VLDL وسكر الدم في الجرذان.

مواد وطرائق البحث

الحليب: تم الحصول على الحليب الفرز المجفف الخال من الدسم علامة (ريجليه) من الاسواق المحلية لمدينة الموصل وهو فرنسي الصنع وأسترجع بالماء المقطر بنسبة 10 غم حليب مجفف/100مل ماء مقطر.
بكتريا حامض اللاكتيك: تم الحصول على سلالات البكتريا المستخدمة في هذه الدراسة من شركة Hansen Chris الدنماركية وهي:

1- *Lactobacillus acidophilus* (probio-Tec-5)

2- *Bifidobacterium bifidum* (probio-Tec Bb-12)

3- *Streptococcus thermophiles* و *Lactobacillus bulgaricus* اما بكتريا

فتم الحصول عليها من شركة Dunisco Deutschland GmbH الألمانية بصورة مجففة lyophilized. تكررت عملية تنشيط البادئات لثلاث مرات متتالية لمعالجة التغيرات الناجمة عن الحفظ ولإعادة الخلايا الى نشاطها الطبيعي قبل إدخالها في العمليات التصنيعية أو استخدامها للأغراض العلاجية (Ray و Johnson، 1986).

تقدير العدد الكلي للبكتريا: قُدرَ العدد الكلي للبكتريا حسب ما ذكره Harrigan و McCance، (1976) باستخدام الوسط المغذي (Nutrient agar) بطريقة الأطباق المصبوبة.

تقدير أعداد بكتريا حامض اللاكتيك: قدرت أعداد البكتريا بطريقة الأطباق المصبوبة حسب ما ذكره Harrigan و McCance، (1976) بطريقة الأطباق المصبوبة وباستعمال الوسط الغذائي (MRS) Deman Rogosa Sharp

عينات الحليب: أستخدم الحليب المنزوع الدسم (الفرز) المسترجع وأتبعنا الطريقة التي أستخدمها Tamime و Robinson، (1985) لتحضير كافة النماذج وقسم الى سبعة مجاميع كما يلي:

1- حليب مجفف منزوع الدسم (فرز) بدون أضافة أي مزرعة بكتيرية، حيث تم رفع درجة الحرارة تدريجيا الى 90م ولمدة نصف ساعة مع التحريك المستمر، بعدها برد الحليب الى 43م.

2- حليب فرز ملقح بنسبة 3% ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* مع التحضين أي التخمر (37م لمدة 18 ساعة).

3- حليب فرز ملقح بنسبة 3% ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* بدون تخمر بعد أن برد الى 43م ثم لقح.

4- حليب فرز ملقح بنسبة 3% ببكتريا *Bifidobacterium bifidum* مع التخمر (37م لمدة 18 ساعة).

5- حليب فرز ملقح ب 3% ببكتريا *Bifidobacterium bifidum* بدون تخمر بعد تبريد الحليب الى 43م ثم لقح.

6- حليب فرز ملقح بخليط من *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium bifidum* بنسبة 1:1 مع التخمر (37م لمدة 18 ساعة).

7- تصنيع لبن (يوغرت) من الحليب الفرز ملقح بمزرعة اليوغرت الاعتيادي *Lactobacillus bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* وحضن 3 ساعات.

التقديرات الكيميائية: قدرت الرطوبة والدهن بطريقة سوكليت والبروتين بطريقة مايكروكردال والرماد وفق ما جاء في AOAC، (2008)، والكاربوهيدرات حسب الطريقة التي ذكرها Herbert وآخرون، (1971) وتم حساب الالياف بالفرق (Jimoh وآخرون، 2011).

الغذاء القياسي: تم الحصول عليه من معمل العمادي/ منطقة سميل/ دهوك لتصنيع الاعلاف وتمت إضافة الفيتامينات والمعادن بما يتناسب مع ماورد في توصيات المعهد الامريكي للتغذية والاكاديمية الامريكية للعلوم (National Academy of Science/National Research Council (NAS/NRC)، (1978) وإضافة 0.5% مسحوق الكولسترول لكافة الاغذية المحضرة عدا غذاء التأقلم الذي أحتوى على 1 % كولسترول. تم إعادة تشكيل الغذاء بعد مزجه بالخلاط الكهربائي وأضيف كل منتج لبن من المنتجات التي تم تصنيعها سابقا إلى الغذاء الاصلي بنسبة 1:1 وتم تقدير مكوناته مختبريا (جدول 1).

جدول (1): تقدير مكونات الأغذية المحضرة للجرذان (غم / 100 غم)

التحليل الكيميائي%						نوع الغذاء
الياف *	كاربوهيدرات	رماد	دهن	بروتين	رطوبة	
2.80	58.83	1.70	7.16	16.10	13.40	Skim milk الحليب الفرز
2.90	58.90	1.66	7.16	15.57	13.80	<i>L.acidophilus</i> بتخمير
2.90	58.53	1.80	6.86	16.66	13.63	<i>L.acidophilus</i> بدون تخمير
2.70	59.30	1.70	6.96	16.23	13.10	<i>B.bifidum</i> بتخمير
3.00	59.10	2.10	6.63	16.20	12.90	<i>B.bifidum</i> بدون تخمير
2.96	58.06	1.90	6.83	17.10	13.13	<i>B.bifid</i> و <i>L.acido</i> بتخمير
2.80	58.53	1.60	7.16	16.50	13.40	Yogurt اللبن الاعتيادي

*محسوبة بالفرق

الارقام تمثل معدل ثلاث مكررات

استخدمت ذكور جرذان بيضاء اللون من نوع (Sprague-Dawley) تم الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري /جامعة الموصل، وضعت الجرذان في ظروف بيئية مسيطر عليها من حيث التهوية ودرجة الحرارة (25 ± 2 م) والإضاءة 12 ساعة والظلام 12 ساعة. وضعت الجرذان بصورة فردية في أقفاص مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ (Stainless Steel) وأعطيت ماء الحنفية حسب حاجة الحيوان *adlibitum* بواسطة قناني بلاستيكية تخرقها حلمة رضاعة مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ، وتم حساب كمية الغذاء المستهلك فعليا من قبل كل حيوان يوميا وذلك بطرح كمية الغذاء المتبقي من الوزن الاصلي المعطى لكل حيوان، أجريت التجربة في مختبر تربية حيوانات التجارب/قسم علوم الاغذية/جامعة الموصل. تم تغذية كل الجرذان بالغذاء القياسي المحتوي على 1% كولسترول لمدة 16 يوما (فترة أقلمة) لأحداث زيادة في محتوى الكولسترول بالدم لدى الجرذان، وتم أخذ أوزان الحيوانات أسبوعيا. واستمرت التجربة لمدة 28 يوما وتم سحب عينات الدم بعد تخدير الحيوان في ناقوس التخدير بواسطة الكلوروفورم وفتح التجويف البطني، بعدها سحب الدم من القلب باستعمال محقنه حجم 5 مل ثم وضع في أنابيب جمع الدم التي تحتوي على مادة مانعة لتخثر الدم Ethylene diamine tetra acetic (EDTA) (acid) لإجراء فحوصات الدم. تم نزع الكبد وعضلة الفخذ الايمن ثم غسلت بمحلول ملحي Normal Saline (0.9 %) بعدها جففت ثم وضعت في أكياس بلاستيكية بالتجميد لحين اجراء التحليلات المطلوبة.

تقدير خضاب الدم (Hb) الهيموكلوبين: تم استخدام طريقة Sahil's acid haematin method التي ذكرها Jain، (1986).

تقدير الكوليسترول الكلي والكليسيريدات الثلاثية وكوليسترول البروتينات الدهنية ذات الكثافة العاليه : تمت بالطريقة الإنزيمية وباستعمال طاقم التقدير الجاهز (Kit) المجهز من شركة Biolabo الفرنسيه حسب تعليمات الشركة المنتجه.

حساب مستوى البروتينات الدهنية ذات الكثافة المنخفضة وذات الكثافة المنخفضة جدا: قدر تركيز-LDL C حسب المعادله التي اوردها Faas وآخرون، (2002) وكما يلي: $LDL-C = \text{الكوليسترول الكلي} - (HDL-C + VLDL-C)$ اما $VLDL-C$ فتم حسابه بقسمة الكليسيريدات الثلاثيه TG على 5 حسب Tietz، (2005) وعبر عنها ملغم/100مل.

مستوى الكلوكونز في مصل الدم: قدر مستوى كلوكوز مصل الدم باستعمال طاقم التقدير (Kit) المجهز من قبل شركة Biolabo الفرنسيه وهي طريقه انزيميه يتم فيها اكسدة الكلوكونز الى Quinonimine وقرأت شدة اللون بجهاز المطياف بطول موجي 500 نانومتر.

تقدير الكلايكونجين في نسيج الكبد والعضلة: تم قياس الكلايكونجين في العينات باستخدام طريقة انثرون وكما جاء في Plummer، (1978).

التحليل الاحصائي: تم تحليل نتائج التجارب باستعمال طريقة النموذج الخطي العام (General linear model) ضمن البرنامج الاحصائي الجاهز (SAS، 2001) كما اجري اختبار دنكن لتحديد معنوية الفروقات ما بين متوسطات العوامل المؤثرة على الصفات المدروسة عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$).

النتائج والمناقشة

الحالة التغذوية للجرذان: يتبين من الجدول رقم 2 تأثير التغذية بالحليب والألبان المضافة إلى الأغذية على معدل الوزن الابتدائي والنهائي ومعدل الزيادة الوزنية للجرذان اذ تراوحت معدل الأوزان الابتدائية (134-152 غم). بينما تراوحت معدل أوزانها النهائية بعد تغذيتها بالغذاء الموزون لمدة 28 يوما (203-215 غم). اما من حيث معدل الزيادة الوزنية للجرذان فقد كان معدل الزيادة الوزنية بين (56-72 غم)، أما معدل كمية الغذاء المستهلك خلال مدة التجربة البالغة 28 يوما فقد تراوحت بين (492-546 غم) لكافة المجاميع. ربما الحالة الفسلجية وشهية الحيوانات تلعب دورا في هذه الاختلافات لكمية الغذاء المستهلكة، وقد يعزى سبب ذلك إلى نشاط بكتريا حامض اللاكتيك التي تقوم بتحفيز الشهية وإنتاج الإنزيمات الهضمية وتحسين التوازن الميكروبي في الأمعاء فضلاً عن تحسين توافر المغذيات وامتصاصها (Midilli وآخرون، 2008 و Tollba و Mahmoud، 2009). هذه النتائج تتفق مع Abas وآخرون، (2007) الذين أشاروا الى أن استخدام بكتريا المعززات الحيوية في تصنيع العلف يعمل على زيادة شهية الحيوانات الحقلية. كمية الطاقة المستهلكة من الغذاء تم حسابها اعتمادا على مكوناته (دهن و كاربوهيدرات و بروتين) وقد تراوحت ما بين 360.1 الى 364.8 كيلوسعره /100 غم وبدون فروقات معنوية عند مستوى ($P < 0.05$). اما بالنسبة لكفاءة التحويل الغذائي فقد وجد أن هناك فروقات معنوية في مجموعتي *B.bifidum* بتخمروبادئ مختلط بتخمير يحتوي *L.acidophilus* و *B.bifidum* حيث بلغتا 0.139 و 0.146 على التوالي، وذلك بسبب الزيادة المكتسبة في وزن الجسم. اقل كفاءة تحويل غذائي كانت في مجموعة الحليب الفرز وبلغت (0.092) وربما يعزى الى انخفاض الوزن، وهذا يتفق مع ما أشار اليه الدرة والدروش، (2011) من أن التغذية بالحليب المتخمّر بـ *Lactobacillus acidophilus* والحليب المتخمّر بـ *Bifidobacterium* لم تؤد الى تحسن كفاءة التحويل الغذائي، وكذلك مع ما أشار إليه Hitchins وآخرون، (1983) من أن الألبان المتخمرة لا تحقق زيادة في كفاءة التحويل الغذائي عدا منتج اللبن بالمقارنة مع الحليب غير المتخمّر، بينما ذكر حسن، (2005) أن بكتريا حامض اللاكتيك تستخدم في زيادة الكفاءة الغذائية التي لها مردود إيجابي على النمو والصحة. أما بخصوص خضاب الدم (Hb) فقد بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية في مستوى خضاب الدم بين مجاميع الحيوانات المغذاة بالأغذية المدعمة ببكتريا *Acidophilus* و *Bifidobacteria* بتخمير او بدون.

جدول (2): الحالة التغذوية لذكور الجرذان المغذاة بالحليب واللبن المتخمر وغير المتخمر

المعاملات	وزن الحيوان الابتدائي	وزن الحيوان النهائي	وزن الحيوان (غم)	كمية الغذاء المستهلك (غم)	الطاقة سعره / 100 غم	كفاءة التحويل الغذائي	هيمو غلوبين غم/100 مل
1 حليب فرز Skim milk	152	210	57	510 bc	364.2 a	0.092 b	11.5 a
2 بتخمير <i>L. acidophilus</i>	134	203	69	546 a	362.5 a	0.126 ab	11.6 b
3 بدون تخمير <i>L. acidophilus</i>	139	207	68	524 ab	360.9 a	0.130 ab	12.2 ab
4 بتخمير <i>B.bifidum</i>	142	214	72	518 abc	364.8 a	0.139 a	11.7 ab
5 بدون تخمير <i>B.bifidum</i>	146	212	66	492 abc	360.48 a	0.126 ab	11.4 b
6 <i>L.acido</i> و <i>B.bifid</i> بادئ مختلط بتخمير	142	215	72	492 c	362.48 a	0.146 a	11.8 ab
7 اللبن الاعتيادي Yogurt	149	210	61	497 bc	364.6 a	0.122 ab	12.0 ab

الأرقام تمثل معدل تكرار خمسة حيوانات.

الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية ($P < 0.05$)
كفاءة التحويل الغذائي = الزيادة الوزنية المكتسبة / كمية الغذاء المستهلك

تأثير تناول الأغذية الموزونة في صور دهن دم الجرذان: أظهرت النتائج في الجدول 3 حصول انخفاض طفيفا غير معنوي عند مستوى احتماليه ($P < 0.05$) في الكوليسترول الكلي في مجاميع الحيوانات التي تغذت بالغذاء المخمر بواسطة *Lactobacillus acidophilus* (المجموعة 3) و *Lactobacillus acidophilus* بدون تخمير (المجموعة 4) و بكتريا *B. bifidum* بتخمير (المجموعة 5) والبادئ المختلط من بكتريا *B. bifidum* و *L. acidophilus* بتخمير (المجموعة 7) مقارنة بمجموعة السيطره المغذاة بالحليب الفرز بدون اضافة المعززات الحيويه (المجموعة 2). ظهر أن المجموعة (7) التي تحتوي على البادئ المختلط من بكتريا *B. bifidum* و *L. acidophilus* هي الأكثر انخفاضا بمستوى الكوليسترول. ان هذه النتائج تؤكد مدى تأثير الألبان المتخمرة المضافة إلى الغذاء في تنظيم مستوى الكوليسترول، وقد يعزى سبب الانخفاض إلى ان بكتريا حامض اللاكتيك لها القدرة على استيعاب وربط الدهون بأملاح الصفراء، لاسيما الكوليسترول، مسببة إعادة امتصاصه الى داخل الجسم، وقد تكون الية انخفاض الكوليسترول والمواد الدهنية من خلال تثبيط الأنزيمات المصنعه له (الدوري، 2010)، أو كما ذكر Buck و Gilliland، (1995) انه قد يرجع سبب الانخفاض في الكوليسترول إلى ان بعض أنواع بكتريا حامض اللاكتيك تنتج إنزيمات تقوم بتحليل الدهن ويقوم بعضها بهدم الكوليسترول للاستفادة منه كمصادر كاربونية في عملياتها الايضية. أشارت نتائج تقدير الكليسيريدات الثلاثية الى عدم وجود انخفاض معنوي في مجاميع الحيوانات التي غذيت على الحليب المتخمر وغير المتخمر مقارنة بمجموعة السيطرة، عدا المجموعة (7) التي تحتوي بادئ مختلط *L. acidophilus* و *B. bifidum* نلاحظ انها سببت انخفاضا معنويا في الدهون الثلاثيه، لقد جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل إليه Fukushima و Nakano، (1996) حيث درسا تأثير أنواعا مختلفة من البكتريا على صور دهون الدم ولاحظا ان استخدام نوعين او أكثر من البكتريا كان له تأثير اكبر على دهون الدم من التي استخدم فيها نوع واحد لأنها تمارس فعالية أكثر على ايض الكوليسترول من البكتريا المفردة. وهذه النتائج تتفق مع Bouras، (2006) الذي عزاه الى التأثير التآزري لبكتريا *L.bulgaricus* و *S.thermophilus* في خفض مستويات الكوليسترول الكلي و LDL-C.

وأظهرت النتائج أيضا ارتفاعا معنويا في مستوى كوليسترول البروتينات الدهنية عالية الكثافة HDL-C للمجموعتين (3 و 5) مقارنة بمجموعة السيطرة. يبدو إن استعمال الألبان المتخمرة ذات فاعلية أكثر من

استعمال الحليب لوحده وهذا دليل على ان المحتوى الميكروبي قد يكون هو المسؤول عن تخفيض دهون الدم، وقد يرجع هذا التباين إلى استخدام نوع معين دون آخر أو سلالة دون أخرى من بكتريا حامض اللاكتيك. أما بخصوص مستوى كولسترول البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة (LDL-C) فلم تظهر النتائج أي انخفاض معنوي لكل مجاميع الحيوانات التي غذيت بالاغذية الموزونة مقارنة بمجموعة الحليب الفرز (السيطره). ظهرت فروقات معنوية في VLDL-C عند مستوى ($p < 0.05$) في المجموعة (7) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة. توجد آليات متعددة تتخذها بكتريا حامض اللاكتيك في خفض مستويات كولسترول الدم منها أن نواتج التخمر لبكتريا حامض اللاكتيك تعمل على تثبيط إنزيمات تصنيع الكولسترول مسببة بذلك خفض إنتاجه، أو من خلال ارتباط هذه البكتريا مع الكولسترول مما يؤدي الى تثبيط إعادة امتصاصه إلى داخل الجسم (Lee وآخرون، 2009). كما إن بكتريا *L.acidophilus* و *B.bifidum* قادرة على التقاط الكولسترول من البيئة المحيطة بها إلى داخل أغشيتها الخلوي، توافقت النتائج مع ما توصل إليه عبدالله، (2010) في حدوث انخفاض مستوى الكليسيريدات الثلاثية والكولسترول الكلي، LDL-C و VLDL-C وارتفاعاً معنوياً في مستوى HDL-C عند تغذية حيوانات التجارب على أغذية تحتوي على لبن متخمّر علاجي لمدة شهر، وكذلك مع دراسة Taranto وآخرون، (1998) حيث ظهر انخفاض واضح في تركيز مستوى الكولسترول الكلي في الفئران المصابة بارتفاع الكولسترول في الدم والمغذاة على غذاء عالي الدهن بالإضافة الى الحليب والمضاف له بكتريا *L.reuteri* 1098 وقد يرجع هذا الانخفاض إلى ان بعض سلالات *L.reuteri* لها قدرة عالية على تحليل الكولسترول في الغذاء. كذلك تتفق مع ما وجدته Chin وآخرون، (2006) حيث اشار ان المجاميع التي أعطيت الحليب المتخمّر كانت لها نتائج إيجابية في تخفيض الكولسترول الكلي و LDL-C و الكليسيريدات الثلاثية، ولكن نتائج الدراسة الحالية لا تتفق مع الدراسة التي أجراها Oda و Hashiba، (1994) حيث أظهرت النتائج ارتفاع الكليسيريدات الثلاثية في الدم، كما لوحظ أن الحليب الفرز قلل من الزيادة في الكليسيريدات الثلاثية في البلازما بخلاف المنتجات المتخمرة التي لم يكن لها تأثير مهم.

جدول (3): تأثير التغذية بالحليب والالبان المتخمرة وغير المتخمرة بالمعززات الحيوية في مستوى دهون الدم (ملغم/100مل)

دهون الدم					المعاملات	
VLDL-c	LDL-c	HDL-c	TG	TC		
15.97 a	61.55 a	26.24 d	79.88 a	103.76 a	(خط الشروع)	1
15.25 ab	42.57 bc	30.84 cd	76.26 ab	88.66 b	حليب فرز Skim milk	2
13.74 bc	27.28 c	44.84 a	68.70 bc	85.86 b	بتخمّر <i>L. acidophilus</i>	3
14.13 bc	39.07 bc	32.74 cd	70.66 bc	85.94 b	بدون تخمّر <i>L. acidophilus</i>	4
14.17 bc	27.25 c	44.10 ab	70.88 bc	85.52 b	بتخمّر <i>B.bifidum</i>	5
15.22 ab	51.06 b	36.22 abcd	76.10 ab	102.50 a	بدون تخمّر <i>B.bifidum</i>	6
13.49 c	35.09 bc	33.60 bcd	67.44 c	82.18 b	<i>L.acido</i> و <i>B.bifid</i> بتخمّر	7
14.67 abc	53.67 b	31.76 cd	73.36 abc	100.10 a	اللبن الاعتيادي Yogurt	8

TC = كولسترول كلي، TG = دهون ثلاثية، HDL = كولسترول البروتينات الدهنية العالية الكثافة. LDL = كولسترول البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة، VLDL = كولسترول البروتينات الدهنية الواطئة الكثافة جدا. الأرقام تمثل معدل تكرار خمسة حيوانات.

الأحرف المختلفة في العمود الواحد تشير الى وجود فروقات معنوية ($P < 0.05$).

تأثير التغذية في مستوى كلوكوز الدم وكلايوجين الانسجة لذكور الجرذان: يلاحظ من الجدول (4) عدم وجود فروقات معنوية إحصائياً في الوزن النسبي للكبد للمجاميع المغذاة مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ سجلت الاقل وزناً (2.65 غم/ 100 غم من وزن الجسم) أما مجموعة خط الشروع فقد كان وزن الكبد

(2.56 غم/ 100 غم من وزن الجسم) لان هذه المجموعة تم تشريحها قبل البدء بالتجربة بخلاف المجاميع الأخرى. جاءت النتائج متوافقة مع Chio وآخرون، (2005) إذ لاحظوا زيادة معنوية في وزن الكبد والأعضاء الداخلية في الجرذان بعد التجريع ببكتريا *Bifidobacterium longum* وبأعداد 10^9 خلية/سم³ يوميا ولمدة أربعة أسابيع. كما يبين الجدول إن تغذية مجاميع الجرذان بالأغذية الموزونة قد سببت ارتفاعا معنويا في مستوى كلايوجين كبد ذكور جرذان المجموعة السابعة المغذاة على البادئ المختلط بتخمير بواسطة *L. acidophilus* و *B. bifidum* والذي كان 97.6 ملغم/غم. وهذا لا يتفق مع ما توصل إليه Lye وآخرون (2009) من أن الفئران المصابة بداء السكر والتي استهلكت الحليب المتخمير الحاوي على بكتريا *L. acidophilus* و *L. casei* ولمدة ثمانية أسابيع أدى إلى انخفاض تراكم الكلايوجين في الكبد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي لم تتناول المعزز الحيوي. تبين أيضا من الجدول ان هناك زيادة في مستوى كلايوجين عضلة الفخذ بين للمجاميع 3، 5، 6، 7 و 8 وبفروقات معنوية مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث كان أعلى مستوى لكلايوجين العضلة في المجموعة (7) إذ بلغ 39.5 ملغم/غم وهذه الزيادة في مستوى كلايوجين العضلة تتناسب مع الزيادة في مستوى كلايوجين الكبد لنفس المجموعة المحتوية على البادئ المختلط من بكتريا *L. acidophilus* و *B. bifidum*. اما مجموعة السيطرة فقد بلغت كمية كلايوجين العضلة فيها 4.00 ملغم/غم. اما مستوى الكلوكوز في مصل دم الجرذان خلال مدة التجربة البالغة 28 يوماً فقد بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروقات معنوية لكافة المجاميع مقارنة مع مجموعة السيطرة ومجموعة خط الشروع. وقد ظهرت فروقات طفيفة غير معنوية بين المجموعة المغذاة بالمنتوج المخمر بواسطة *L. acidophilus* مقارنة بباقي المجاميع وقد يعزى ذلك الى استهلاك الكلوكوز من قبل البكتريا كمصدر للكربون أو يتم تخزينه في الكبد مما ينتج عنه انخفاضاً في مستوى السكر في الدم (Seppo وآخرون، 2004) وربما يعود ذلك أيضا إلى نشاط بكتريا *L. acidophilus* في خفض مستوى الكلوكوز، توافقت النتائج مع ما وجدته الجنابي (2012) من ان بكتريا *L. acidophilus* من أفضل الأنواع المستعملة من حيث قدرتها على خفض مستوى الكلوكوز في الدم، وكما ذكر Abe وآخرون (2009) ان ذلك قد يكون نتيجة لارتباط مركب الكلوكان glucan الذي تنتجه أنواع بكتريا حامض اللاكتيك مع سكر الكلوكوز في الأمعاء مما تسبب في إعادة امتصاصه في الدم وبالتالي تقليل تركيزه من خلال طرحه خارجا مع الفضلات.

جدول (4): تأثير التغذية في مستوى كلوكوز الدم وكلايوجين الانسجة لذكور الجرذان

المجاميع	الوزن النسبي للكبد (غم/ 100 غم)	كلايوجين الكبد (ملغم/غم)	كلايوجين العضلة (ملغم/غم)	كلوكوز الدم (ملغم/100مل)
1	baseline (خط الشروع)	2.56 b	5.56 c	3.21 e
2	حليب فرز Skim milk	2.65 a	5.99 b	4.00 d
3	بتخمير <i>L. acidophilus</i>	2.73 a	6.60 b	5.29 a
4	بنون تخمير <i>L. acidophilus</i>	2.75 a	6.21 b	4.33 cd
5	بتخمير <i>B. bifidum</i>	2.69 a	6.21 b	4.67 bc
6	<i>B. bifidum</i> بنون تخمير	2.70 a	6.15 b	4.52 bc
7	<i>L. acido</i> و <i>B. bifid</i> بادئ مختلط بتخمير	2.67 a	6.97 a	5.39 a
8	اللبن الاعتيادي Yogurt	2.72 a	6.18 b	4.80 b

الأرقام تمثل معدل تكرار خمسة حيوانات.

الأحرف المختلفه في العمود الواحد تشير الى وجود فروقات معنوية ($P < 0.05$)

المصادر

- 1- الدرة، عمر عادل. الدروش، عامر خلف (2011). تأثير الحليب المتخمر على كولايستروول الدم في الفئران عند تغذيتها على غذاء عالي الكوليسترول. مجلة ديالى للعلوم الزراعية 3(2): 101-111.
- 2- الدوري، صلاح صديم صالح (2012). عزل وتشخيص بعض انواع بكتيريا حامض اللاكتيك العلاجية ودراسة تأثيرها على بعض المتغيرات الفسلجية والكيموحيوية في الجرذان نوع Albino، اطروحة دكتوراة، كلية التربية، جامعة تكريت.
- 3- حسن خلف عبدالرزاق (2005). تأثير إستخدام البكتريا العلاجية *Lactobacillus acidophilus* على الأداء الإنتاجي لفروج اللحم ودراسة صفات لحومها الكيميائية والحسية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة. جامعة بغداد.
- 4- عبدالله، خزعل شعبان (2010). تأثير عمليات التبريد والتجميد والتجفيد على بكتريا حامض اللاكتيك العلاجية المستخدمة في إنتاج اللبن العلاجي باستخدام بعض المثبتات. أطروحة دكتوراة. كلية الزراعة، جامعة الموصل.
- 5- Abas, I.; H.C. Kutwy; R. Kagraman; N.Y.Toker; D. OZcelik; F. Ates and A. Kacalci (2007). Effect of organic acids and bacterial direct-fed microbial on fattening performance of kivircik male yearling lambs. Pakistan journal of nutrition. 6(2): 149-154.
- 6- Abe, F.; T. Yaeshima and K. Iwatsak (2009). safety evaluation of two probiotic Bifidobacterial Strain *Bifidobacterium breven M-16v*
- 7- Association of Official Analytical Chemists A.O.A.C. (2008). Official Methods of Analysis 16th ed. Virginia, U.S.A.
- 8- Bouras, A.D. (2006). Assimilation (in vitro) of Cholesterol by yogurt bacteria. Ann. Agric. Enviro. Med. 13, 49-53.
- 9- Buck, L. M. and S. E. Gilliland (1995). Comparisons of freshly origin for ability to assimilate cholesterol during growth. J. Dairy Sci. 77: 2925.
- 10- Chiu, C. H.; T. Y. Lu; Y. Y. Tseng and T. M. Pan (2006). The effect of Lactobacillus-fermented milk on lipid metabolism in hamsters fed on high-cholesterol diet. Appl. Micro. Biotech. 71:238-245.
- 11- Chio, S.S.; B.Y. Kang; M.J. Chung; S.D. Kim; S.H. Park; J.S. Kim; C.Y. Kang and N.J. Ha (2005). Safety assessment of potential lactic acid bacteria *bifidobacterium longum SPM1205* isolated from healthy koreans. J. Microbiol. December. 493-498.
- 12- Faas, F.H.; A. Earlewine; G. Smith and D.L. Simmons (2002). How should low density lipoprotein cholesterol concentration be determined? J. Fam. Pract. 51:973-975.
- 13- Fukushima, M. and M. Nakano (1996). Effect of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol-enriched diet. Br. J. Nutr. 76:857-67.

- 14- Gilliland, S. E. (1990). Health and nutritional benefit from lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. 87-175.
- 15- Harrigan, W. and E. McCance (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press London.
- 16- Herbert, D.; P.J. Phillips and R.E. Strange (1971). Determination of Total Carbohydrates. Method in Microbiol. 58: (209-344).
- 17- Hitchins, A. D.; F. F. McDonough; N. P. Wong and R. E. Hargrov (1983). Biological and biochemical variables affecting the relative values for growth and feed efficiency of rats fed yogurt or milk. J. Food Sci., 48: 1836-1840.
- 18- Jain, N. C. (1986). Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Lea and Febiger, 600. Philadelphia, USA.
- 19- Jimoh, F.O.; A.A. Adedapo and A.J. Afolayan (2011). Comparison of the nutritive value, antioxidant and antibacterial activities of *sonchus asper* and *sonchus oleraceus*. Rec. Nat. Prod. 5 (1):29-42.
- 20- Kneifel, W. and B. Pacher (1995). An X-glu based agar medium for the selective enumeration of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt - related milk products. Int. Dairy J. 3: 277- 291
- 21- Lee, D. K.; S. Jang; E. H. Beak; M. J. Kim; K. S. Lee; H. S. Shin; M. J. Chung; J. E. Kim; K. O. Lee; N. J. Ha (2009). Lactic acid bacteria affect serum cholesterol levels, harmful fecal enzyme activity, and fecal water content. Lipids Health Dis. 8: 21-28.
- 22- Lye, H.S.; C.Y. Kuan; J.A. Ewe; W.Y. Fung and M.T. Liong (2009). The improvement of hypertension by probiotics: Effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. Int. J. Mol. Sci. 10:3755-3775
- 23- Martean, M.; C. J. Christophe; R. philippe and S. Jurgen (2007). protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotic. Ameri. J. Clin. Nutr. 73 : 430-436.
- 24- Midilli, M.; M. Alp; N. Kocabağlı; Ö.H. Muğlalı; N. Turan ; H. Yılmaz and S. Çakır, (2008). Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. South African J. Animal Sci. 38(1).
- 25- National Academy of Science-National Research Council (NAS/NRC). (1978). Nutrient Requirements of Laboratory Animals. 3rd ed. No. 10. Washington DC. USA.
- 26- Plummer, D.T. (1978). An Introduction to Practical Biochemistry. 2nd ed. Mc Graw-Hill Book Co. (U.K) pp.345-346.
- 27- SAS, Statistical Analysis System (2001). SAS Institute Inc., NC., USA.

- 28- Shah, N. P. (2006). Health Benefits of Yogurt and Fermented Milks. pp 327-340. in: "Manufacturing Yogurt and Fermented Milks". Chandan, R. C. Blackwell Publishing. UK.
- 29- Seppo, S.; W. AtteVon and W. Arthur (2004). "Lactic acid, microbiological and functional suspects" New York. Basel. 3rd ed.
- 30- Tador, Kenneth. (2008). "On line textbook of bacteriology". The Normal Bacterial Flora of Humans. 4, 304: 1421
- 31- Tamime, A. Y. and R. K. Robinson (1985). Yoghurt, Science and Technology. First ed, Wheaton and Co. Ltd. Exter.
- 32- Taranto, M. P.; M. Medici; G. Perdigon; A. P. Ruiz Holgado and G. F. Valdez (1998). Evidence for hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus reuteri* in hypercholesterolemic mice. J. Dairy. Sci. 81 (9) : 2336 – 2340.
- 33- Tietz, Y. (2005). Clinical biochemistry. 6th ed. McGraw-Hill, N.Y. 825.
- 34- Tollba, A.A. and R.M. Mahmoud (2009). How to control the broiler pathogenic intestinal flora under normal or heat stress. J. Egypt. Poult. Sci. 29 (2):565-587.
- 35- Oda, Tand H. Hashiba (1994). Effects of skim milk and its fermented products by *Lactobacillus acidophilus* SBT 2062 on plasma and liver lipid levels in diet-induced hypertriglyceridemic rats. J. Nutr. Sc. Vitaminol. 40 (6) : 617–621.

Effect of fermented skim milk fortified with probiotic bacteria on some physiological parameters in growing male rats

Ayed, M. A.

Tarik H. Hamada

mhmdayed@yahoo.com

College of Agric.& Forestry / Mosul University

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of fermented and non fermented skim milk on blood lipid profile and blood sugar in Sprague-Dawley rats as a model. Rats fed on 1% cholesterol diet, two probiotics were used (*L. acidophilus* and *B. bifidum*). Results showed a significant increase in diet conversion efficiency for groups fed on fermented milk with *B. bifidum* and those fed on *B. bifidum* and *L. acidophilus* compared with control group. A slight decrease in total cholesterol (TC) was noticed in most groups, the best treatment was fermented *L. acidophilus* mixed with *B. bifidum*. In addition a significant decrease ($P < 0.05$) was found in triglycerides (TG) in the same group. A significant increase in high density lipoprotein (HDL) in *L. acidophilus* with fermentation and *B. bifidum* with fermentation. Liver glycogen showed a significant increase in rats fed on fermented *B. bifidum* and *L. acidophilus*. Muscle glycogen showed a significant increase in all groups except for *L. acidophilus* with out fermentation. It is concluded that the mentioned diets play a positive role to improve lipid profile of rats and increase muscle glycogen. Non significant changes were found in blood glucose in all groups.

Key words: probiotics, lipid profile, blood glucose, dairy products.