وزارة التعليم العالي
جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم علوم الأغذية

دراسة إمكانية إطالة فترة حفظ اللبن الرائب المحلي

Study of the prolongation possibility shelf-life of local yoghurt

رسالة جامعية أعدت لنيل درجة الدكتوراه في علوم الأغذية

إعداد

المهندس أحمد النداف

ماجستير تقانة حيوية (البيوتكنولوجيا) ــ جامعة البعث

المشرف العلمي

الدكتور سمير سليق

أستاذ في كلية الهندسة الزراعية ــ جامعة دمشق

اختصاص ميكروبيولوجيا الألبان

الدكتور عمر زمار

مدرس في كلية الهندسة الزراعية ــ جامعة البعث

اختصاص علوم وتكنولوجيا الألبان

2013

دراسة إمكانية إطالة فترة حفظ اللبن الرائب المحلي

أعدت الرسالة من قبل المهندس : أحمد عدنان النداف .

الدرجة العلمية المكتسبة : دكتوراه في علوم الأغذية .

مكان وتاريخ المناقشة : كلية الزراعة ــ جامعة دمشق في 2013/10/8 .

لجنة الحكم

- **الدكتور صياح أبوغرة** الأستاذ في قسم علوم الأغذية ــ كلية الزراعة ــ جامعة دمشق ــ اختصاص كيمياء وتحليل الألبان .
- **الدكتور سمير سليق** الأستاذ في قسم علوم الأغذية ــ كلية الزراعة ــ جامعة دمشق ــ اختصاص ميكروبيولوجيا الألبان .
- **الدكتور أحمد هدال** الأستاذ في قسم علوم الأغذية ــ كلية الزراعة ــ جامعة دمشق ــ اختصاص تكنولوجيا الألبان .
- **الدكتور عبدالوهاب مرعي** الأستاذ في قسم علوم الأغذية ــ كلية الزراعة ــ جامعة دمشق اختصاص ــ ميكروبيولوجيا أغذية .
- **الدكتور أنطون طيفور** الأستاذ في قسم علوم الأغذية ــ كلية الزراعة ــ جامعة دمشق ــ اختصاص ميكروبيولوجيا الألبان .

تصريح لجنة الحكم

نوقشت الرسالة يوم الثلاثاء 2013/10/8 في كلية الزراعة ــ جامعة دمشق من قبل أعضاء لجنة الحكم واجيزت .

أعضاء لجنة الحكم	التوقيع
1ــ الأستاذ الدكتور صياح أبوغرة .	
2ــ الأستاذ الدكتور سمير سليق .	
3ــ الأستاذ الدكتور أحمد هدال .	
4ــ الأستاذ الدكتور عبدالوهاب مرعي .	
5ــ الأستاذ الدكتور أنطون طيفور .	

الإهداء

إلى أبي وأمي ....

إلى إخوتي وأخواتي ....

إلى أصدقائي .....

إلى أقربائي .....

إلى وطني .....

إلى كل من أحبني وأخلص لي .....

إلى من أحب ....

أحمد

كلمة الشكر

تمر بنا الأيام بسرعة في قطار العمر المليء بالأحلام والذكريات الجميلة لتضعنا في محطة العمر التي ترسم نهاية حياتنا الجامعية حيث قضينا أجمل الأيام وتزودنا بالعالم والمعرفة ...

يتوقف الزمن هنية .. وهنا يندمج الحزن بالفرح والأسى بالشوق فالقلوب الحزينة المتآسية من الوداع المترقبة بخوف ولهفة الخطوة الأولى في الحياة فرحة بحصولها على ثمرة التعب والجهد الذي بذلته مشتاقة لبدء العطاء .. وعند الإنطلاق ينهمر الدمع من عيون الأصدقاء ويعلو هتافه إلى اللقاء ...

أتقدم بخالص الشكر والإمتنان إلى :

الأستاذ الدكتور : سمير سليق والدكتور : عمر زمار.

اللذان أشرفا على هذا العمل ولم يدخرا جهداً في تقديم التوجيهات اللازمة لإنجاح هذه الرسالة ، الشكر كل الشكر إلى الأستاذ الدكتور صياح أبوغرة رئيس قسم علوم الأغذية على تعاونه ونصائحة القيمة . كما أتوجه بالشكر الجزيل لرئاسة جامعة دمشق وعمادة كلية الزراعة وأعضاء الهيئه التدريسية في قسم علوم الأغذية على تعاونهم وكافة العاملين في الهيئة العامة للتقانات الحيوية بجامعة دمشق .

قائمة الجداول

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
1ـ	اشهر سلالات بكتريا *Lactobacillus* و*Bifidobacterium*	22
2ـ	الاسماء التجارية لبعض سلالات البروبيوتيك المضافة للاغذية ومصادرها	23
3ـ	الأحماض العضوية في الحليب واللبن الرائب	48
4ـ	القيمة الغذائية للبن الرائب	49
5ـ	توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة اللاكتولوز	54
6ـ	توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة الثوم	55
7ـ	توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة عصير الجزر	56
8ـ	توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة انزيم ترانس غلوتاميناز	57
9ـ	توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة بكتريا البروبيوتيك	58
10ـ	توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل بطريقة التصنيع المعدلة	59
11ـ	التركيب الكيميائي للحليب المستخدم في تحضير عينات اللبن	69
12ـ	نتائج التحليل الميكروبيولوجي للحليب الخام المستخدم في تحضير عينات اللبن	69
13ـ	نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*L. bulgaricus+ Str. thermophilus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة اللاكتولوز خلال فترات التخزين	70
14ـ	نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة اللاكتولوز خلال فترات التخزين	71
15ـ	تغير الـpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة اللاكتولوز	74
16ـ	نتائج التقييم الحسي للبن المحضر من دون إضافة اللاكتولوز ومع الإضافه	75
17ـ	نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*L. bulgaricus+ Str. thermophilus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة الثوم خلال فترات التخزين	78
18ـ	نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة الثوم خلال فترات التخزين	79
19ـ	تغير الـpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة الثوم	80
20ـ	نتائج التقييم الحسي للبن المحضر من دون إضافة الثوم ومع الإضافه	81

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
21ـ	نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*L. bulgaricus+ Str. thermophilus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة عصير الجزر خلال فترات التخزين	84
22ـ	نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة عصير الجزر خلال فترات التخزين	85
23ـ	التركيب الكيميائي لعصير الجزر المضاف إلى عينات اللبن المحضرة	86
24ـ	تغير الـــpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة عصير الجزر	86
25ـ	نتائج التقييم الحسي للبن المحضر من دون إضافة عصير الجزر ومع الإضافه	88
26ـ	نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*L. bulgaricus+ Str. thermophilus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة انزيم ترانس غلوتاميناز خلال فترات التخزين	91
27ـ	نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة انزيم ترانس غلوتاميناز خلال فترات التخزين	92
28ـ	تغير الـــpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة انزيم ترانس غلوتاميناز	93
29ـ	نتائج التقييم الحسي للبن المحضر من دون إضافة انزيم ترانس غلوتاميناز ومع الإضافه	94
30ـ	نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*L. bulgaricus+ Str. thermophilus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة بكتريا البروبيوتيك خلال فترات التخزين	97
31ـ	نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة بكتريا البروبيوتيك خلال فترات التخزين	98
32ـ	نتائج تحليل تعداد بكتريا البروبيوتيك *L. acidophilus LA-5* لعينات اللبن الرائب المحضره خلال فترات التخزين	99
33ـ	نتائج تحليل تعداد بكتريا البروبيوتيك *B.animalis subsp lactis (Bb12)* لعينات اللبن الرائب المحضره خلال فترات التخزين	101
34ـ	تغير الـــpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة بكتريا البروبيوتيك	103
35ـ	نتائج التقييم الحسي للبن المحضر بإضافة بكتريا البروبيوتيك	104

رقم الجدول	العنوان	الصفحة
36ـ	نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*L. bulgaricus+ Str. thermophilus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بطريقة التصنيع المعدلة خلال فترات التخزين	107
37ـ	نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإستخدام طريقة التصنيع المعدلة خلال فترات التخزين	108
38ـ	تغير الـــpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بطريقة التصنيع المعدلة	108
39ـ	نتائج التقييم الحسي للبن المحضر بالطريقة العادية وطريقة التصنيع المعدلة	109

قائمة الأشكال

رقم الشكل	العنوان	الصفحة
1ـ	مراحل صناعة اللبن الرائب	44
2ـ	استمارة التقييم الحسي من قبل مختصين	66

قائمة الصور

رقم الصورة	العنوان	الصفحة
1ـ	شكل مستعمرات بكتريا *Streptococcus thermophilus* فى بيئة M17	72
2ـ	شكل بكتريا *Streptococcus thermophilus* تحت المجهر.	72
3ـ	شكل مستعمرات بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* فى بيئة MRS	73
4ـ	شكل بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* تحت المجهر.	73
5ـ	شكل مستعمرات بكتريا *Lactobacill acidophilus LA-5* فى بيئةMRS	100
6ـ	شكل بكتريا *Lactobacill acidophilus LA-5* تحت المجهر.	100
7ـ	شكل مستعمرات بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp lactis(Bb12)* في بيئة Bifidus Selective Medium Agar	102
8ـ	شكل بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* تحت المجهر.	102

محتويات الرسالة

مسلسل	الموضوع	الصفحة
	العنوان	
	أعضاء لجنة الحكم	
	تصريح لجنة الحكم	
	الإهداء	
	الشكر والتقدير	
	قائمة الجداول	
	قائمة الاشكال	
	قائمة الصور	
	المحتويات	
	ملخص باللغة العربية	1
	ملخص باللغة الانجليزية	4
	الفصل الأول : المقدمة	7
	الفصل الثاني : الدراسات المرجعية	11
1-2	إنتاج الحليب والألبان عالمياً	12
2-2	استهلاك الألبان ومنتجاتها	13
3-2	بعض الطرق المستخدمة في إطالة فترة حفظ اللبن الرائب	15
1-3-2	إستخدام الإضافات	15
1-1-3-2	إضافة اللاكتولوز Lactulose	15
2-1-3-2	استخدام الثوم	15
3-1-3-2	إضافة عصير الجزر	17
4-1-3-2	معاملة الحليب بانزيم ترانس غلوتاميناز	18
5-1-3-2	استخدام سلالات مختلفة من الـــProbiotics	19
1-5-1-3-2	أنواع البروبيوتيك	21
2-5-1-3-2	الأسماء التجارية لبعض أنواع بكتريا البروبيوتيك	22
3-5-1-3-2	خصائص بكتريا *Lactobacillus*	23
4-5-1-3-2	خصائص بكتريا *Bifidobacterium*	24

مسلسل	الموضوع	الصفحة
2-3-1-6	استخدام اللاكتوفيرين	26
2-3-1-7	تطبيق نظام اللاكتوبيروكسيداز LP-system	26
2-3-2	تغيير شروط التصنيع التكنولوجية	28
2-3-2-1	طريقة التصنيع المعدلة	28
2-3-2-2	استخدام طريقة الكربنة	28
2-3-2-3	الطريقة الحرارية	29
2-3-2-4	تجنيس الحليب تحت ضغط عالي High Pressure Homogenizing (HPH)	30
2-4	القوة الحيوية لبكتريا البادئ والـــProbiotics في اللبن الرائب	32
2-4-1	العوامل الداخلية	32
2-4-2	العوامل الخارجية	34
2-5	مراحل تصنيع اللبن الرائب	36
2-5-1	خصائص بكتريا *Streptococcus thermophilus*	38
2-5-2	خصائص بكتريا *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*	39
2-5-3	أهمية البادئات في صناعة منتجات الألبان المتخمرة	39
2-5-4	العوامل التى تؤثر في صفات اللبن الرائب	45
2-6	القيمة الغذائية والعلاجية للبن الرائب	46
2-6-1	القيمة الغذائية	47
2-6-2	القيمة العلاجية	49
	الفصل الثالث : المواد والطرائق البحثية	52
3-1	البادئات المستعملة	53
3-2	الإضافات	53
3-3	تصنيع اللبن الرائب	53
3-3-1	تصنيع اللبن الرائب (عينات الشاهد)	53
3-3-2	تصنيع اللبن الرائب مع إضافة اللاكتولوز	54
3-3-3	تصنيع اللبن الرائب مع إضافة الثوم	55
3-3-4	تصنيع اللبن الرائب مع إضافة عصير الجزر	56
3-3-5	تصنيع اللبن الرائب مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز	57
3-3-6	تصنيع اللبن الرائب مع إضافة البروبيوتيك	58

مسلسل	الموضوع	الصفحة
7-3-3	تصنيع اللبن الرائب بطريقة التصنيع المعدلة	59
4-3	تحضير مزرعة البادئ التجارية والبروبيوتيك وتضاعف عددها	60
5-3	التحليل الميكروبيولوجي Microbiological analysis	61
1-5-3	تحضير التخفيفات العشرية	61
2-5-3	عد بكتريا حمض اللبن وبكتريا البروبيوتيك	61
3-5-3	الفحوصات الميكروبية العامة	62
4-5-3	الفحوصات الميكروبية التأكيدية	63
6-3	التحليل الكيميائي Chemical analysis	64
1-6-3	الإختبارات الكيميائية للبادئات	64
2-6-3	التحليل الكيميائي للحليب	64
3-6-3	التحليل الكيميائي لعصير الجزر المستخدم	65
4-6-3	التحليل الكيميائي لعينات اللبن الرائب المصنع	65
7-3	تقييم الخصائص الحسية Sensory analysis	65
8-3	التحليل الإحصائي Statistical analysis	67
	الفصل الرابع : النتائج والمناقشة	68
1-4	نتائج تحليل الحليب الخام المستخدم	69
2-4	نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة اللاكتولوز	70
1-2-4	نتائج التحليل الميكروبيولوجي	70
2-2-4	نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة اللاكتولوز أثناء فترات التخزين	74
3-2-4	نتائج التقييم الحسي	75
3-4	نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة الثوم	78
1-3-4	نتائج التحليل الميكروبيولوجي	78
2-3-4	نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة الثوم أثناء فترات التخزين	80
3-3-4	نتائج التقييم الحسي	81
4-4	نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة عصير الجزر	84
1-4-4	نتائج التحليل الميكروبيولوجي	84
2-4-4	نتائج التحليل الكيميائي لعصير الجزر المستخدم	86
3-4-4	نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة الجزر أثناء فترات التخزين	86

مسلسل	الموضوع	الصفحة
4-4-4	نتائج التقييم الحسي	87
5-4	نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز	91
1-5-4	نتائج التحليل الميكروبيولوجي	91
2-5-4	نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز أثناء فترات التخزين	93
3-5-4	نتائج التقييم الحسي	94
6-4	نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة بكتريا البروبيوتيك	97
1-6-4	نتائج التحليل الميكروبيولوجي	97
2-6-4	نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة بكتريا البروبيوتيك أثناء فترات التخزين	103
3-6-4	نتائج التقييم الحسي	104
7-4	نتائج تصنيع اللبن الرائب بالطريقة التصنيع المعدلة	107
1-7-4	نتائج التحليل الميكروبيولوجي	107
2-7-4	نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بطريقة التصنيع المعدلة أثناء فترات التخزين	108
3-7-4	نتائج التقييم الحسي	109
	الاستنتاجات	112
	التوصيات	113
	المراجع	114

الملخص

أجريت هذه الدراسة بهدف إطالة فترة صلاحية اللبن الرائب عن طريق إستخدام بعض انواع الإضافات أو تغيير شروط التصنيع التكنولوجية ، تم إجراء التحاليل الكيميائية والميكروبية والحسية لعينات اللبن الرائب خلال فترات التخزين عند درجتي حرارة 4±1م° و10±1م° ، وأجريت التجارب بتكرار مضاعف كما تم تحليل النتائج إحصائياً . تم تصنيع جميع عينات اللبن الرائب باستخدام حليب خام جيد النوعية الكيميائية والميكروبية . حيث بُستر الحليب عند الدرجة 90م° مدة 20 دقيقة وبرد إلى درجة 44±1م° ومن ثمّ لقح بالبادئ بنسبة 3% . حيث وضع في عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg . ثم حضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6ــ4.7 وبعد التحضين تم تبريد العينات جميعها إلى الدرجة 4م° ثم تم تخزين عينات اللبن عند درجة حرارة 4م° وعند درجة تخزين 10م°. ولدى إضافة اللاكتولوز بنسب 3% و4% و5% خلال فترة تخزين مدتها 42 يوم عند درجتي حرارة 4±1م° و10±1م°. أشارت نتائج تحليل الخصائص الميكروبية أن القوة الحيوية للبادئ استمرت مدة 7 أيام في عينة الشاهد بينما استمرت مدة 28 يوم للعينة الحاوية على 3% لاكتولوز و35 يوم للعينة الحاوية على 4% و42 يوم للعينة الحاوية على 5% لاكتولوز عند التخزين عند الدرجة 4±1م°. ولم يلاحظ اختلاف كبير بالنتائج لدى التخزين عند الدرجة 10±1م°. إضافةً إلى ذلك أوضحت النتائج أن إضافة اللاكتولوز لم تؤثّر في الحموضة البدائية للبن الرائب كما انخفضت قيم الخصائص الحسية للّبن خلال فترة التخزين . وقد تبين أنه يمكن استهلاك عينة الشاهد بشكلٍ جيدة حسياً حتى 7 أيام من التخزين بينما يمكن استهلاك عينات اللبن الحاوية على اللاكتولوز حتى 42 يوم من التخزين . وعند إضافة الثوم بنسب 0.05% و0.075% و0.1% خلال فترة تخزين مدتها 50 يوم عند درجتي حرارة 4±1م° و10±1م°. فقد أشارت نتائج تحليل الخصائص الميكروبية أن القوة الحيوية للبادئ استمرت مدة 7 أيام في عينة الشاهد بينما استمرت مدة 35 يوم للعينة الحاوية على 0.05% ثوم و42 يوم للعينة الحاوية 0.075% ثوم و49 يوم للعينة الحاوية على 0.1% ثوم عند التخزين عند الدرجة 4±1م°. ولم يلاحظ اختلاف كبير بالنتائج لدى التخزين عند الدرجة 10±1م°. بينما أشارت نتائج تحليل الخصائص الحسية أن الألبان الحاوية على 0.05% من الثوم أكثر تفضيلاً من تلك الحاوية على نسب أعلى وذلك لغياب طعم ورائحة الثوم في العينة . إضافةً إلى ذلك أوضحت النتائج أن إضافة الثوم لم تؤثّر في الحموضة البدائية للبن الرائب كما انخفضت قيم الخصائص الحسية للّبن خلال فترة التخزين . وقد تبين أنه يمكن استهلاك عينة الشاهد بشكلٍ صالح للإستهلاك حتى 7 أيام من التخزين بينما يمكن استهلاك عينات اللبن الحاوية على الثوم حتى 49 يوم من التخزين .

أما عند إضافة عصير الجزر بنسب 0.5% و1% و1.5% على التوالي خلال فترة تخزين مدتها 35 يوم عند درجتي حرارة 4±1م° و10±1م°. تبين من خلال تحليل الخصائص الميكروبية أن القوة الحيوية للبادئ استمرت مدة 7 أيام في عينة الشاهد بينما استمرت مدة 28 يوم للعينة الحاوية على 0.5% عصير جزر و35 يوم للعينة الحاوية على 1% أو1.5% عصير جزر عند التخزين عند الدرجة 4±1م°. ولم يلاحظ اختلاف كبير بالنتائج لدى التخزين عند الدرجة 10±1م°. بينما أشارت نتائج تحليل الخصائص الحسية أن الألبان الحاوية على 0.5% من عصير الجزر أكثر تفضيلاً من تلك الحاوية على نسب أعلى وذلك لغياب طعم ولون عصير الجزر في العينة . إضافةً إلى ذلك أوضحت النتائج أن إضافة عصير الجزر لم تؤثّر في الحموضة البدائية للبن الرائب كما انخفضت قيم الخصائص الحسية للّبن خلال فترة التخزين . وقد تبين أنه يمكن استهلاك عينة الشاهد بشكل صالح للإستهلاك حتى 7 أيام من التخزين بينما يمكن استهلاك عينات اللبن الحاوية على عصير الجزر حتى 35 يوم من التخزين . ولدى إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسب 0.01% و0.03% و0.05% على التوالي خلال فترة تخزين مدتها 49 يوم عند درجتي حرارة 4±1م° و10±1م°. تبين من خلال تحليل الخصائص الميكروبية أن القوة الحيوية للبادئ استمرت مدة 7 أيام في عينة الشاهد بينما استمرت مدة 35 يوم للعينة الحاوية على 0.01% إنزيم ترانس غلوتاميناز و49 يوم للعينة الحاوية على 0.03% أو0.05% إنزيم ترانس غلوتاميناز عند التخزين عند الدرجة 4±1م°. ولم يلاحظ اختلاف كبير بالنتائج لدى التخزين عند الدرجة 10±1م°. كما لم تؤثر إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز في طعم اللبن الرائب . وقد تبين أنه يمكن استهلاك عينة الشاهد بشكل صالح للإستهلاك حتى 7 أيام من التخزين بينما يمكن استهلاك عينات اللبن الحاوية على إنزيم ترانس غلوتاميناز حتى 49 يوم من التخزين . أما عند إضافة البروبيوتيك المؤلف من *Lactobacillus acidophilus LA-5* و(*Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12* إلى الحليب المخصص لصناعة اللبن الرائب. فقد أشارت نتائج تحليل الخصائص الميكروبية أن القوة الحيوية للبادئ استمرت مدة 7 أيام في عينة الشاهد بينما استمرت مدة 35 يوم للعينة الحاوية على *Lactobacillus acidophilus LA-5* أو *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* عند التخزين عند الدرجة 4±1م°. ولم يلاحظ اختلاف كبير بالنتائج لدى التخزين عند الدرجة 10±1م°. كما أشارت نتائج تحليل الخصائص الحسية أن إضافة البروبيوتيك حسنت من طعم ورائحة اللبن الرائب في العينة . إضافةً إلى ذلك أوضحت النتائج أن إضافة البروبيوتيك لم تؤثّر في الحموضة البدائية للبن الرائب كما انخفضت قيم الخصائص الحسية للّبن خلال فترة التخزين . وقد تبين أنه يمكن استهلاك عينة الشاهد بشكل صالح للإستهلاك حتى 7 أيام من التخزين بينما يمكن استهلاك عينات اللبن الحاوية على البروبيوتيك حتى 35 يوم من التخزين .

أما في ما يخص تغيير شروط التصنيع التكنولوجية وعند تطبيق طريقة التصنيع المعدلة خلال فترة تخزين مدتها 42 يوم عند درجتي حرارة 4±1 م° و10±1 م°. فقد أشارت نتائج تحليل الخصائص الميكروبية أن القوة الحيوية للبادئ استمرت مدة 7 أيام في عينة الشاهد بينما استمرت مدة 42 يوم باستخدام طريقة التصنيع المعدلة عند التخزين عند الدرجة 4±1م°. ولم يلاحظ اختلاف كبير بالنتائج لدى التخزين عند الدرجة 10±1م°. ولم يكن هناك تأثير في الخصائص الحسية . وقد تبين أنه يمكن استهلاك عينة الشاهد بشكلٍ صالح للاستهلاك حتى 7 أيام من التخزين بينما يمكن استهلاك عينات اللبن المصنعة بالطريقة التصنيع المعدلة حتى 42 يوم من التخزين . وبالتالي فإن الطرق السابقة المستخدمة في هذه الرسالة يمكنها تمديد العمر الإفتراضي للبن الرائب المحلي مع احتفاظه بقيمتة الحيوية والعلاجية خلال فترة تخزين لاتقل عن 4 أسابيع وهذا من شأنه أن يسهم في تطوير تكنولوجيا انتاج اللبن المحلي .

Abstract

This study was conducted to prolong the shelf life of Yoghurt through the use of some kinds of additions or changing the technical terms of manufacturing. Chemical, microbial and sensory analyses of yoghurt samples during storage periods at 4±1°C and 10±1°C . The experiments were conducted as multiple times,and the results were analyzed statistically. All samples were manufactured using raw milk with good chemical and microbial qualities. The milk was Pasteurized in sterile containers 1kg each with tight lids for 20 minutes at 90°C then cooled down to 44±1°C,and the milk was vaccinated starter at a rate of 3%. All the samples were later incubated at 45 ±1°C for 4 hours in order to get a coherent thrombous with pH varying from 4.6 to 4.7. After the process of incubation,all samples were cooled down to 4°C. Then the yoghurt samples were stored at 4°C and at 10°C. When lactulose is added at rates of 3%,4% and 5% during a storage period of 42 days at 4±1°C and 10±1°C, the results of the analysis the microbial characteristics show that the vital force for the Starter has lasted for 7 days in the standard sample, 28 days in the sample containing 3% lactulose, 35 days in the sample containing 4% and 42 days in the sample containing 5% lactulose if the samples are stored at 4±1°C. No significant difference is observed in the results when samples are stored at 10±1°C. In addition,results have proved that adding lactulose does not affect the initial pH levels of yoghurt, and the values of the sensory characteristics of Yoghurt have decreased during the storage period. It has also been shown that the standard sample can be considered practically fit for consumption during 7 days of storage,whereas Yoghurt samples containig lactulose remain fit for consumption for 42 days of storage. When garlic rates 0.05%, 0.075% and 0.1% are added during a 50 days storage period at 4±1°C and 10±1°C, the results of the analysis of microbial characteristics have shown that the vital force of the Starter has lasted for 7 days in the standard sample, 35 days in the sample containing 0.05% garlic, 42 days in the sample containing 0.075% garlic, and 49 days in the sample containing 0.1% garlic when samples are stored at 4±1°C . No significant difference is observed in the results when samples are stored at 10±1°C. Meanwhile, the results of the analysis of the sensory characteristics show that Yoghurt containing 0.05% of garlic is more preferred than that containing higher rate due to the absence of taste and smell of garlic in the sample. Moreover,the results have indicated that the addition of garlic the does not affect the initial pH levels of yoghurt,and the values of the sensory characteristics of Yoghurt have decreased during the storage period. It

has also been conducted that the standard sample can be considered fit for consumption for 7 days of storage, whereas the samples of Yoghurt containing garlic can be fit for consumption during 49 days of storage.

But if carrot juice is added by 0.5%,1% and 1.5% respectively during the a 35 days storage period at 4±1°C and 10 ±1°C, it is noticed through the analysis of microbial characteristics that the vital force of the Starter has lasted for 7 days in the standard sample, 28 days in the sample containing 0.5% of carrot juice and 35 days in the sample containing 1% or 1.5% of carrot juice when stored at 4±1°C . No significant difference is observed in the results when samples are stored at 10±1°C. However,the results of the analysis of the sensory characteristics have shown that Yoghurt containing 0.5% of carrot juice is more preferred than that containing higher rates due to the absence of taste and color of carrot juice in the sample. In addition,the results have shown that adding carrot juice does not affect the initial pH levels of yoghurt, and that the sensory characteristics of Yoghurt have decreased during storage period. It has also been shown that the standard sample is fit for consumption for 7 days of storage,whereas the Yoghurt samples containing carrot juice remain fit for consumption for 35 days of storage. When Transglutaminase enzyme is added by 0.01%, 0.03% and 0.05% rates respectively during a 49 days storage period at 4±1°C and 10±1°C,it is noticed through the analysis of microbial characteristics that the vital force of the Starter has lasted for 7 days in the standard sample, 35 days in the sample containing 0.01% of Transglutaminase enzyme,and 49 days in the sample containing 0.03% or 0.05% of Transglutaminase enzyme, when stored at 4±1°C. No significant difference is observed in the results when samples are stored at 10 ±1°C. Also,adding Transglutaminase enzyme has no effect on the taste of yoghurt. Inaddition, it has been proved that the standard sample is fit for consumption for 7 days of storage,whereas yoghurt sample containing Transglutaminase enzyme is fit for consumption for 49 days of storage. However, when adding probiotics,which consists of *Lactobacillus acidophilus LA-5* and *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12),* to milk allocated to yoghurt industry, results of analysis of microbial characteristics have indicated that vital force of the Starter has lasted for 7 days in the standard sample, 35 days in the sample containing on *Lactobacillus acidophilus LA-5* or *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12),* when stored at 4±1°C. No significant difference is observed in the results when samples are stored at 10 ±1°C. The results of analysis of sensory characteristics have indicated that adding of probiotics has improved both taste

and smell of yoghurt of the sample. Also,adding probiotics has not affected the initial pH levels of yoghurt ,and the values of sensory characteristics of yoghurt have decreased during storage period. It has been concluded that the standerd sample is fit for consumption for 7 days of storage,whereas the yoghurt samples containing probiotics are fit for consumption for 35 days of storage.

As for changing the technological terms of manufacturing and applying the amended method of manufacyuring throughout a 42 day storage period at 4±1°C and 10±1°C,the results of the analysis of microbicial characteristics have shown that vital force of the Starter has lasted for 7 days in the standard sample, whereas it has lasted 42 days when using amended method of manufacturing when stored at 4 ±1°C. No significant difference is observed in the results when samples are stored at 10±1°C.Also,no effect on sensory characteristics is noticed . Results shown that standard sample is fit for 7 days of storage,whereas Yoghurt samples manufactured by the amended method are fit for consumption for 42 days of storage. Thus, the previous methods used in this research can extend the life span of the local yoghurt while retaining its vital and therapeutic value during the storage period of not less than 4 weeks and this would contribute to the development of the local yoghurt production technology.

الفصل الاول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction:

تعرف الأغذية المتخمرة بأنها تلك الأغذية التي تعرضت لفعل البكتريا أو الأنزيمات بحيث تحدث تغييرات بيوكميائية مرغوب فيها وتسبب تعديلاً واضحاً في الغذاء من حيث الشكل والتركيب . فمنذ القدم دأبَ الإنسان على الاستنباط وتطوير طرق حفظ الأغذية وإحدى هذه الطرق هي عملية التخمر التي يستخدم فيها البكتريا وحدها أو الخميرة والبكتريا معًا .

وعن طريق التخمر يصبح الغذاء أكثر قيمة غذائية وأكثر قابلية للهضم وأكثر أماناً للمستهلك وله نكهة أفضل . كما أن التخمر هو عملية حفظ ذات كفاءة عالية وتكلفة أقل نسبيًا من حيث الطاقة مقارنة بطرق الحفظ الأخرى . ومن أكثر الأغذية المتخمرة شهرة هي الألبان المتخمرة وبالأخص اللبن الرائب أو اللبن . فقد عرف الإنسان منذ زمن بعيد أن الحليب يتخمر ويصبح ذا طعم حامضي بعد الحصول عليه من ضرع الحيوان بوقت قصير ، و يعد اللبن من أقدم أنواع الألبان المتخمرة التي عرفها الإنسان .

ويعرف اللبن الرائب حسب منظمتي الاغذية والصحة العالميتين FAO وWHO بأنه حليب متخمر نتيجة تشكل حمض اللبن في الحليب الخام أو المعقم أو المكثف أو المجفف الكامل أو الخالي من الدسم وذلك بفعل نوعين من بكتريا حمض اللبن هما *Lactobacillus bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* ويجب أن تكون هذه الاحياء الدقيقة حية وبأعداد كبيرة (حوالي 1×10^{7} خلية / 1 مل لبن على الأقل) في المنتج النهائي (بريشة وزهران،2002).

فمنذ بدايات القرن العشرين والكثير من العلماء يبحثون في الصفات العلاجية والوقائية المترتبة على استهلاك الأغذية المتخمرة المحتوية على بكتريا مفيدة ، وأكدت الدراسات والتجارب على أن تناول مثل هذه الأنواع من الأغذية يعطي الجسم بالإضافة إلى مقاومة البكتريا المرضية ، الحيوية والقوة لدرجة أن بعضهم يعتقد أن تناول هذه البكتريا تعطي الإنسان ما يسمى بأكسير الحياة أي يعيش الإنسان في حالة صحية تتميز بدرجة عالية من الحيوية دون أن تظهر عليه أعراض الشيخوخة (بريشة وزهران،2002).

اللبن الرائب الغني بالمغذيات هو من أكثر منتجات الألبان المخمرة شيوعاً حول العالم . ونسبت على مر السنين التأثيرات الصحية المفيدة للبن الرائب إلى المواد المغذية الموجودة فيه والبكتريا اللبنية *Streptococcus thermophilus - Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* بالإضافة إلى probiotics في حال إضافتها لمنتجات الألبان . ومع ذلك تضفي البكتريا اللبنية والكائنات الحية المجهرية الفوائد الصحية على اللبن عندما توجد بالتراكيز الموصى بها من 10^{6} إلى 10^{8} من الخلايا الحية في 1 مل وقت الاستهلاك (Ross *et al.*,2005);(Vasiljevic and Shah,2008) .

تعود الشهرة الواسعة والاستهلاك الكبير للبن إلى القيمة الغذائية والتأثيرات العلاجية لبكتريا البادئ خلال التخمّر . حيث يتمتع بتأثيرات وقائية وعلاجية ضد معظم الأمراض . وقد توصل الباحثون

مؤخراً أن اللبن يتمتع بتأثيرات مضادة للجراثيم ، مضادة للسرطان ، وخافضة للكوليسترول في الدم إضافة إلى التأثيرات العلاجية الأخرى .

تنخفض القيمة التغذوية والقوة الحيوية عادةً للألبان أثناء التخزين بالتبريد بسبب مجموعة متنوعة ومزيج من التغيرات في ظروف بيئة التخزين ، مثل انخفاض الرقم الهيدروجيني مع زيادة شدة الأوكسجين والأكسدة المحتملة ، فضلاً عن تراكم بيروكسيد الهيدروجين (Dave and Shah,1997a);(Dave and Shah,1997c);(Donkor *et al.*,2006);(Lourens *et al.*,2001);(Sarkar,2008);(Vasiljevic *et al.*,2007).

لا تخلو صناعة الألبان في العالم من الجدل ، ففي عام 2007 تمت تسوية دعوى قضائية من قبل شركة ® Pinkberry لادعائها كذباً وجود البكتريا اللبنية في منتجاتها . حيث تبرعت بمبلغ 750 ألف دولار إلى بنك الغذاء الإقليمى في لوس انجلوس لحل القضية . .(Hayes,2007);(Steinhauer,2008)

في العام التالي ، رفعت ولاية كاليفورنيا دعوى قضائية ضد شركة ® Dannon مدعية ً أن الإعلانات عن منتجات "أكتيفيا" كانت مضللة ، ولم تثبت الفوائد الصحية المعلن عنها وفي تسوية خارج المحكمه وافقت الشركة على إنشاء صندوق بقيمة 35 مليون دولار لتعويض العملاء الذين قاموا بشراء منتجات "أكتيفيا" أو "DanActive" منذ دخولها إلى سوق الولايات المتحدة في عامي 2006 و2007 على التوالي بحيث يعطى لكل فرد مبلغ مئة دولار على التساوي (Oppenheim,2009);(USA Today,2009). وبالإضافة إلى ذلك وافقت شركة Dannon على تحسين علامتها التجارية مع توفير الأسماء العلمية للبكتريا المستخدمة في هذه الألبان المخمرة .

يمثل تطوير استراتيجية من شأنها تمديد بقاء البكتريا والكائنات الحية المجهرية في اللبن بفاعلية تحد واضح لمصنعي اللبن الرائب والباحثين على حد سواء . لقد وُجدت عدة أليات لتحسين صلاحية البكتريا اللبنية والكائنات الحية المجهرية في منتجات الألبان المخمرة بإستخدام الوسائل التي تعتمد على الإضافات أو عن طريق تغيير شروط التصنيع التكنولوجية أو تغير صفات بعض السلالات . حيث تكمن أهمية تطوير صناعة اللبن الرائب لما يتميز من نكهة وطعم جيد وقيمة غذائية مرتفعة فهو يمثل وجبة غذائية كاملة لمختلف مراحل العمر عدا عن أهميته من الناحية الطبية والعلاجية .

لذلك فقد هدفت هذه الدراسة إلى :

1ــ تصنيع اللبن بالطريقة العادية بإستخدام بادئ نظامي *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus bulgaricus* مع استخدام طرق إطالة الحفظ وهي (المكررات) :

أــ الإضافات	ب ــ تغير شروط التصنيع التكنولوجية	النتيجة
1ــ اللاكتولوز .	1ــ تجنيس الحليب تحت ضغط عالي .	الوصول إلى أطول فتره حفظ ممكنه للبن الرائب دون التأثير على بكتريا البادئ .
2ــ الثوم .	2ــ طريقة التصنيع المعدلة .	
3ــ الجزر.		
4ــ إنزيم ترانس غلوتاميناز .		
5ــ إضافة سلالات من الــ Probiotics : 1- *Lactobacillus acidophilus* *2-Bifidobacterium lactis*		

2ــ تأثير بعض الإضافات (اللاكتولوز ، ثوم ، جزر) في إطالة فترة حفظ اللبن الرائب وخواصه الحسية .

3ــ تأثير إضافة بكتريا البروبيوتيك في إطالة فترة حفظ اللبن الرائب وخواصه الحسية .

4ــ تأثير تغيير شروط التصنيع التكنولوجية في إطالة فترة حفظ اللبن الرائب وخواصه الحسية .

5ــ دراسة تحديد عمر الحفظ للمنتج (عند الدرجة 4م° والدرجة 10م°) من خلال دراسة بعض المواصفات الكيميائية والميكروبية والحسية للبن الرائب على المكررات السابقة والشاهد مع تحديد تعداد بكتريا البادئ في كل مرحلة .

الفصل الثاني

الدراسات المرجعية

Literature review

2 - الدراسات المرجعية Literature review:

2-1- إنتاج الحليب والألبان عالمياً:

منذ أن قام البشر برعاية وتربية الحيوانات كانت منتجات الحليب المخمرة جزءاً هاماً من النظام الغذائي للإنسان . يحافظ تخمير الحليب على المغذيات لفترة أطول من الوقت ، والتي لولا عملية التخمر لتدهورت المغذيات بوتيره أسرع . تستهلك منتجات الحليب المخمرة كمواد غذائية أساسية ووجبات خفيفة أو مشروبات وحلويات . ويمكن أن يعزى تنوع منتجات الحليب المخمرة لتنوع البادئات المستخدمة في التخمير وبالإضافة إلى المكونات المختلفة (مثل السكر والتوابل والملح والفواكه) وتطبيق تقنيات الحفظ الإضافية (مثل التجميد ، والتركيز والتجفيف) (Chandan,2006a) .

يستهلك عالمياً ما يقرب من 400 نوع مختلف من منتجات الحليب المخمرة (Chandan,2006a). وفي عام 2005 بلغ الإستهلاك العالمي من منتجات الألبان المتخمرة أكثر من 17800000 طن (van Hylckama Vlieg and Hugenholtz,2007) تعتبر كل من اللبن وزبدة الحليب المنكه وحليب الاسيدوفيلوس ، والقشدة الحامضة وkefir وdahi و shrikhand والحليب الاسكندنافي اللزج من بعض الأطعمة الاكثر شيوعاً بين منتجات الحليب المخمرة المستهلكة في أجزاء مختلفة من العالم (Chandan,2006a);(Tamime and Robinson,1999d) . وتستخدم في الغالب بكتريا حمض اللاكتيك كبادئات في منتجات الحليب المخمرة ولكن في بعض المنتجات قد يتم إضافة الخمائر و/أو الفطور (Chandan,2006a) . تحول اللاكتوز إلى حمض اللبن هو الظاهرة الأكثر أهمية خلال عملية التحضين (IFM,2004) . إلا أن مركبات النكهة المختلفة التي تم تشكيلها بواسطة البادئات تساهم في تنوع المنتجات النهائية .

لقد ازداد نصيب استهلاك الفرد في الولايات المتحدة للبن من 2.63 حتي 5.22 كيلوغرام وازدادت مبيعات اللبن من714 حتي 1577 مليون كيلوجرام منذ عام 1997 وحتي عام 2007 (ERS,2009). تعزى شعبية اللبن إلى كمية المواد المغذية فيه فضلاً عن آثارها الصحية المفيدة (Mckinley,2005). كما عززت نظرية متشنيكوف" نظرية إطالة الحياة " في بدايات القرن العشرين التأثيرات الصحية المفيدة لإستهلاك الألبان ممازاد من شعبية الألبان في أوروبا وحث على إجراء الأبحاث فيها (Vasiljevic and Shah,2008);(Lourens-Hattingh and Viljoen,2001).

يتم الإشراف على إنتاج الألبان في الولايات المتحدة من قبل هيئة إدارة الأغذية والعقاقير الأمريكية ، وفقاً لقانون التنظيم الاتحادي (CFR) فإن اللبن من المنتجات الغذائية التي تنتج من إضافة بكتريا حمض اللبن *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* على أن لا تقل درجة الحموضة عن 0.9 ٪ (CFR 131.200,2009) .

الجمعية الوطنية للألبان National Yogurt Association (نيا - NYA) هي منظمة وطنية غير ربحية تمثل المنتجين والمسوقين لأحدث منتجات الألبان وموردي صناعة الألبان ، وذلك بهدف رعاية البحوث حول إنتاج الألبان وتكون بمثابة مصدر معلومات للعموم (NYA,2009) . قدمت نيا في 18 شباط عام 2000 التماساً إلى هيئة ادارة الأغذية والعقاقير لتعديل بعض المعايير المتعلقة بمنتجات الألبان وذلك لتحديد الحد الأدنى من تركيز البكتريا الحية الواجب تواجدها في المنتجات التي توصف بأنها لبن ، وينبغي في منتجات الألبان أن تحوي على ملصق مكتوب عليه أن المنتج يحتوي أو لايحتوي على بكتريا حية (NYA,2009);(Roberts,2009) . أنشأت نيا في الولايات المتحدة برنامج التطوعية الذي ينص على أن القوة الحيوية للبادئات (البكتريا اللبنية) المذكورة على ختم علب الألبان ينبغي أن تكون من 10^6 إلى 10^8 من الخلايا الحية في 1 مل وقت الاستهلاك (NYA,2009) . ولأن هذا البرنامج يتسم بالطوعية لمصنعي الألبان قد تحتوي المنتجات بدون هذا الختم أيضاً على البكتريا اللبنية القابلة للحياة ولكن ليست بالضرورة حسب المستويات الموصى بها . يمكن لمصنعي ومنتجي الألبان الحصول على الموافقة من برنامج نيا لوضع ختم "Live & Active Cultures" على ملصق المنتج وذلك بعد تقديم تقرير مخبري من مختبرات وزارة الزراعة الأميركية أو مختبرات مستقلة معتمدة يفيد أن عينات المنتج تلبي معايير برنامج ختم نيا (NYA, 2009).

2-2- استهلاك الألبان ومنتجاتها:

على الرغم من وجود ثروة حيوانية ضخمة في معظم بلدان الوطن العربي وعلى الرغم من التطورات التي حصلت على الكميات المنتجة من الألبان ومنتجاتها خلال العقد الأخير ، فإن الوطن العربي ما زال غير قادر على تحقيق الاكتفاء الذاتي من هذه السلعة الهامة . حيث تشير إحصاءات المنظمة العربية للتنمية الزراعية بأن المتاح للاستهلاك من الألبان ومنتجاتها في الوطن العربي قد ازداد من نحو 20.6 مليون طن عام 1991 إلى نحو 28.2 مليون طن عام 2001 . وكذلك تشير إلى أن نسب الاكتفاء الذاتي من الألبان ومنتجاتها في الوطن العربي قد ازدادت هي الأخرى من نحو 65.4 % كمعدل للفترة 1993-1998 إلى نحو 71.4% عام 2001 (اللوزي،2003) .

وتشير إحصاءات المنظمة العربية للتنمية الزراعية إلى أن قيمة الفجوة الغذائية من مجموعة الألبان ومنتجاتها تحتل المرتبة الثانية في فاتورة الغذاء العربية بعد الحبوب . حيث بلغت قيمة الواردات العربية من الالبان ومنتجاتها نحو 2.26 مليار دولار عام 2001 تمثل حوالي 9.66% من إجمالي قيمة الواردات الغذائية العربية والبالغة نحو 23.5 مليار دولار . وتعتبر جميع الدول العربية مستورد صاف لهذه المنتجات ، حيث قدرت الكميات المستوردة عام 2001 بحوالي 8.61 مليون طن وحوالي 8.8 مليون طن في عام 2002 . وتأتي في صدارة الدول المستوردة كل من الجزائر

السعودية ، مصر ، الإمارات ، ليبيا ، لبنان ، والكويت ، وبإجمالي يقدر بنحو 76.5% من إجمالي واردات الوطن العربي من الألبان ومنتجاتها (اللوزي،2003).

يبلغ معدل النمو السكاني السنوي في سوريا نحو 2.8 % لم يتجاوز معدل نمو إنتاج الحليب أكثر من 1.6% سنوياً فقد ارتفع استهلاك الألبان من نحو 1.46 مليون طن عام 1991 إلى حوالي 1.75 مليون طن عام 2001 . فيما انخفض نصيب الفرد من الحليب من نحو 105 كيلوجرام سنوياً عام 1992 إلى نحو 95 كيلوجرام عام 2001 (عربش،2010).

إن استهلاك الألبان يتأثر بعدة عوامل من أهمها الموقع الجغرافي والعادات الغذائية للسكان في المناطق المختلفة . ففيما يتعلق بالموقع الجغرافي والذي يعتبر عاملاً مهماً في استهلاك الألبان ومنتجاتها يلاحظ بأن استهلاك الألبان يتركز في مدن دون غيرها اعتماداً على قربها من مناطق الإنتاج ، حيث تعتبر مدينة حلب من أكبر المدن السورية استهلاكا للألبان في سوريا حيث يستهلك سكانها نحو 40% من جملة الألبان المستهلكة في سوريا . وعلى العكس من ذلك فان استهلاك المدن الساحلية من الألبان ومنتجاتها يقل عن تلك المذكورة سابقاً نظراً لقلة أعداد الحيوانات التي يتم تربيتها في مناطق الساحل ، إضافة إلى وعورة الطرق والظروف الطبيعية التي جعلت إنتاج الألبان قليلاً فيها. أما فيما يتعلق بعادات السكان في المناطق فإنها تؤثر على الاستهلاك من حيث الكمية والنوع حيث يلاحظ تفضيل سكان المنطقة الوسطى للمنتجات المصنعة من لبن الأغنام بينما يفضل سكان دمشق والمنطقة المحيطة بها منتجات ألبان الأبقار (عربش،2010).

لوحظ وجود زيادة مستمرة في إنتاج واستهلاك الألبان خلال السنوات القليلة السابقة ، وذلك نظراً لزيادة الوعي الصحي لدى المستهلكين بالخصائص العلاجية للألبان وقيمتها الغذائية العالية . حيث تمتلك بكتريا حمض اللبن الموجودة بشكل حي في اللبن عدة ميزات منها حماية الجسم من الاضطرابات المعوية المعدية ، وتخفيض احتمال الإصابة بالسرطان ، وتخفيض مستوى الكولسترول في الدم ، وتحفيز مناعة الجسم ، ومساعدة الجسم في الاستفادة من البروتين والكالسيوم والحديد .

ولكن تمتلك الألبان فترة حفظ محدودة ، إذ لا تتجاوز فترة صلاحيتها ستة أيام عند حفظها في درجة حرارة الغرفة . في حين قد تتراوح فترة صلاحيتها إلى حوالي اسبوعين عند حفظها مبردة . ويعود فساد اللبن إلى عدة أسباب من أهمها ارتفاع نسبة حموضته ، وانفصال المصل عنه ، ونمو الخمائر والفطريات على سطحه . حيث تنتج بعض الفطريات التي تنمو على سطح الألبان نواتج استقلابية خطيرة على الصحة تسمى بالمايكوتوكسينات . وقد ثبت أن للأفلاتوكسينات قدرة على إحداث أمراض سرطانية أو طفرات وراثية أو تشوهات جنينية عند الإنسان .

وينتج عن الفساد السريع للبن خسائر مادية كبيرة ، لذلك تم ابتكار العديد من الطرائق لزيادة فترة صلاحية اللبن ، ومن هذه الطرائق:

2-3- بعض الطرق المستخدمة في إطالة فترة حفظ اللبن الرائب:

2-3-1- إستخدام الإضافات:

2-3-1-1- إضافة اللاكتولوز lactulose:

يستخدم اللاكتولوز كثيراً في الصناعات الصيدلانية (Aider and de Halleux,2007) . وبشكل رئيسي كمستحضر فعال ضد الأمراض مثل الإمساك الحاد والمزمن (Tamura *et al.*,1993) وبالرغم من ذلك فقد تم الإعلان عن تطبيقات واعدة في مجال الصناعات الغذائية بما يتعلق بتحسين القوة الحيوية لبكتريا البادئ بالإضافة لتأثيرها المفيد على صحة الإنسان (Donkor *et al.*,2007) فهو عبارة عن ثنائي سكاريد صناعي مستحصل من مماكبة اللاكتوز الموجود في الحليب ومصل اللبن بمستويات عالية نسبياً تقترب إلى حوالي 4.5% وسطياً (Zokaee *et al.*,2002) ويحتوي على الفركتوز بدلاً من الغلوكوز (Strohmaier,1998) . وفي حين انه لا يُمتص في الأمعاء الدقيقة فيمكن ترجيحه ليعمل كـ Prebiotic (Kontula *et al.*,1999) علاوة على ذلك ، فقد بينت عدة دراسات تأثير اللاكتولوز كمحفز لنمو الـ *Bifidobacteria* .

.(Olano and Corzo,2009);(Sako *et al.*,1999);(Shin *et al.*,2000)

وبأخذ ما ورد ذكره في الحسبان ، فإن اللاكتولوز يبدو كمكون غذائي مهم والذي قد يتوسع البحث فيه بشكل أوسع كمنفذ وظيفي ، ويمكن للمرء أن يتوقع حجم إنتاج كبير للاكتولوز للمساهمة في صناعة الأغذية ، ولهذا الغرض فإن الدراسات (Ricardo PD.,2010) أثبتت أن استخدام هذا المكون في منتجات الألبان المخمرة قد حسن القوة الحيوية للبن الرائب بالإضافة إلى اللبن المصنع بالـ *Lactobacillus acidophilus* و*Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus bulgaricus* و*B. lactis* و*B.bifidum* والمستنبتة مع الـ*Streptococcus thermophilus* . وبالمقارنة مع الشاهد بعمليات التحميض بدون استخدام اللاكتولوز ، فإن استخدام مثل هذا الـ Prebiotics في الحليب قد زاد في تعدادات الـ Probiotics وبالأخص الـ *B. lactis* والـ *B.bifidum* بالإضافة إلى المحافظة على القوة الحيوية لبكتريا البادئ مدة 42 يوم . فأصبح كل من معدل التحميض وحامضية حمض اللبن مقترنان بإنخفاض الزمن اللازم لإكمال عملية التخمر ($t_{pH4.5}$) والـpH خلال وقت التخزين المبرد والمستمر لفترة تدوم إلى 42 يوماً .

2-3-1-2- استخدام الثوم:

إن الفوائد الغذائية العظيمة التي يعطيها الثوم هي بسبب احتوائه على نسبة كبيرة من الفسفور المفيد في تغذية خلايا المخ وتنشيط الذاكرة ويحتوي أيضاً مادة الكالسيوم المفيدة للعظام وهما مادتان أساسيتان في مقاومة كثير من الأمراض ، كما أن الثوم يحتوى على مادة تسمى (الآيسين) وهي المادة

الأساسية في تكوينه والتي تسبب الرائحة المعروفة عنه وهذه المادة تكمن وراء الصفات العلاجية النادرة للثوم حيث تعتبر مضاداً حيوياً طبيعياً فعالاً كالبنسلين والستروبتومايسين .
.(Ankri and mirelman,1999)

يحتوى 100 غرام منه على 60% من وزنه ماء ، وحوالي 25% زيوت طيارة ، و6 غرامات بروتين و10 مليغرام دهون وكثير من الأملاح المعدنية مثل الكالسيوم حوالي 30 مليغرام والفوسفور حوالي 25 مليغرام و1.5 مليغرام حديد و13 مليغرام فيتامين C والكثير من الفيتامينات .

لقد توصل الباحثون مؤخراً على أن الخصائص الطبية للثوم موضع تقدير كبير على مرّ التاريخ حيث استخدم بشكلٍ شائعٍ لمعالجة جملة واسعة من الأمراض البشرية . يستخدم الثوم بالشكل الأكبر للوقاية وتأخير بعض الأمراض المزمنة لكبار السن كتصلب الشرايين ، الجلطات ، السرطان الاضطرابات المناعية ، شيخوخة الدماغ ، التهاب المفاصل ، تشكّل المياه البيضاء ولتعزيز الصحّة العامّة عبر رفع مستويات الطاقة ودوران الدمّ (Rahman,2001) . يستخدم الثوم حالياً بشكلٍ واسع في الصناعات الغذائية والصيدلانية . وإن الاهتمام المتزايد بإستخدام مضادات الأكسدة الطبيعية في حماية المواد الغذائية وفوائد هذه المضادات لصحة الإنسان تزيد من أهمية الثوم ومنتجاته .(Dorant *et al.*,1993);(Nuutila *et al.*,2003)

ينال الثوم قدراً كبيراً من الاهتمام في هذه الأيام بسبب ميزاته الطبية سواءً بين عامّة الشعب أو بين العلماء (Nielsen and Rios,2000). حيث تأكّد أن الثوم ومنتجاته يحافظان على نكهة وطعم الأغذية من خلال أدائه لدور مادة مضادة للجراثيم والفطور(Ankri and Mirelman,1999). إضافةً إلى ذلك تبدي خلاصات الثوم فعاليةً مضادةً للأكسدة (Banerjee and Sarkar,2003).

إن الثوم عند إضافته إلى اللبن يجعله أكثر شهيةً ونكهةً كما يطيل من فترة حفظه عند استخدامه كمادة مضافة للبن . تبلغ فترة حفظ اللبن يوماً واحداً عند الدرجة 25ــ30م° و5 أيام عند الدرجة 7م° وعشرة أيام تقريباً عند الدرجة 4م° في العالم (Kumar and Mishra,2004).

لقد أكدت الدراسات (Gundogdu *et al.*,2009) على أن الثوم يساعد على تحسين زمن حفظ اللبن عبر إعاقة تشكّل العفن والفطريات فيه وذلك لإضافة هذه الخاصية إلى الخصائص الأخرى عالية الجودة والفعالية ضد الجراثيم التي يتمتع بها الثوم ، وأوضحت الدراسات أيضاً إلى قدرة الثوم على إيقاف نمو الجراثيم ، الأمر الذي يؤدي إلى منع حدوث التحمّض الذي يضرّ بجودة اللبن ، علاوةً على ذلك يوفر الثوم فرصةً لزيادة وتحسين قابلية تخزين هذا المنتج وإطالة القوة الحيوية لبكتريا البادئ مدة 35 يوم دون التأثير في طعم ورائحة اللبن الرائب . ومن ناحية أخرى بينت بعض الدراسات إلى تفسير بعض الفوائد التجارية لخلط هذين العنصرين الغذائيين عاليي النوعية (اللبن والثوم) من خلال

إضافة عجينة الثوم إلى المزرعة الجرثومية لبكتريا البادئ كما بينت أيضاً إلى اختيار أفضل نسبة للثوم في اللبن (Gundogdu *et al.*,2009) .

2-3-1-3- إضافة عصير الجزر:

هناك جهود مبذولة لإطالة فترة حفظ اللبن الرائب ، حيث أجريت أبحاث جديده في الوقت الراهن تحث على إضافة عصير الجزر أثناء صناعة اللبن الرائب كطريقة لتطوير تقانة صناعة الألبان (Schieber *et al.*,2002);(Simova *et al.*,2004).

الجزر غذاء غني بمحتواه من مضادات الأكسدة كالبيتا كاروتين ، الفا كاروتين ومركبات الفايتو والغلوتامين التي تعتبر ايضاً مضادات أكسدة ، ويحتوي الجزر ايضاً دهون اساسية كربوهيدرات ومركبات ازوتية بكميات قليلة . كما يحوي مركب الفالكارينول ، وهذا المركب له تأثيرات في مراحل تطور أمراض السرطان . بالإضافة إلى حمض الأسكوربيك ، توكوفيرول (Hashimoto and Nagayama,2004) .

إن مزيج من عصير الجزر واللبن تنتج غذاء متوازن حيث أن الجزر هو مصدر جيد للكربوهيدرات والكالسيوم والفسفور والحديد والبوتاسيوم والمغنيسيوم والنحاس والمنغنيز والكبريت وهو مصدر ممتاز لفيتامين A ، B1 ، B2 ، C ، E ، الثيامين ، حامض الفوليك والريبوفلافين إلا أن محتواه منخفض من البروتين والدهون . من ناحية اخرى اللبن الرائب هو منتج غني بالبروتين والدهون ويحتوى على كمية قليلة من الحديد والفيتامين لذلك عند مزج اللبن الرائب مع عصير الجزر نحصل على منتج غني غذائياً (Ikken *et al.*,1998);(Raum,2003) .

أكدت الأبحاث (Aly *et al.*,2004) على أن إضافة عصير الجزر إلى اللبن الرائب استطاع أن يطيل القوة الحيوية للبادئ مدة 30 يوم من التخزين المبرد وذلك لإحتواء عصير الجزر على نسبة عالية من الكاروتينات وخصوصاً البيتا كاروتين والقادرة على إنتاج المضادات البكتيرية من أصل طبيعي التي تكبح من نمو الخمائر والفطور ، كما استطاع (Shibario *et al.*,2008) وزملائه أن يطيل من القوة الحيوية للبادئ بإضافة عصير الجزر مدة 35 يوم من التخزين مدعماً ذلك نتيجة إحتواء عصير الجزر على الريبوفلافين المنتج للمضادات البكتيرية الطبيعية التي تعمل على إعاقة تشكّل العفن والفطريات في اللبن الرائب ، بالإضافة لذلك أثبت (Yousef.,2000) أن إضافة عصير الجزر إلى الحليب أثناء صناعة اللبن الرائب يطيل من القوة الحيوية للبادئ مدة 35 يوم من التخزين المبرد حيث يعمل عصير الجزر على خفض الأفلاتوكسينات الموجودة في حليب الابقار وخصوصاً الافلاتوكسينات M1 وتحويلها إلى الافلاتوكسينات M2 الذي لا يعتبر من مركبات التوكسينات وذلك نظراً لإحتواء عصير الجزر على أنزيمات طبيعية مسؤوله عن عمليات التحويل .

2-3-1-4- معاملة الحليب بانزيم ترانس غلوتاميناز:

تم التعرف على إنزيم ترانس غلوتاميناز من قبل العالم Heinrich Waelsch منذ أكثر من أربعون عاماً على أنه إنزيم مستخرج من الكبد يعمل على دمج الأمينات في البروتين. (Fesus and Piacentini,2002).

وفي بدايات عام 1980 ، وجد العلماء إمكانية تعديل الخصائص التركيبية في كازئين الحليب وفي غلوبولينات فول الصويا بإستخدام إنزيم ترانس غلوتاميناز المستخرج من كبد الخنزير أو من البلازما البقري (Motoki and Seguro,1998) . لقد تم تنقية وإستخراج الإنزيم من مصادر مختلفة كالأنسجة الحيوانية المختلفة أو من الكبد وبصيلات الشعر ومن بشرة الإنسان ومن كريات الدم (Ikura *et al.*,1980);(Tsai *et al.*,1996);(Wilhelm *et al.*,1996);(Yildirim.,1998); (Giandomenico *et al.*,1999); (Krig and Rice,2000).

صدر حديثاً إمكانية إستخراج إنزيم ترانس غلوتاميناز من الأنسجة الإنشائية للنباتات ومن براعم دوار الشمس ، الدرنات ، البرسيم ، اوراق فول الصويا وفي كاسات البذور . كل هذا يدل على وجود نشاط لإنزيم ترانس غلوتاميناز في النباتات والأنسجة (Serafini-Fracassini *et al.*,1995). . (Kang and Cho,1996);(Tsai *et al.*,1996)

في الأصل تم الحصول على إنزيم ترانس غلوتاميناز من الأنسجة الحيوانية والنباتية ، لكن مع تطور الأبحاث أجريت دراسات للحصول على إنزيم ترانس غلوتاميناز من الكائنات الحية الدقيقة وقد حصل عليه من نواتج التخمر الميكروبي لأنواع مختلفة من الأغذية (Dickinson,1997) ;(Zhu *et al.*,1995).كما تم الحصول على إنزيم ترانس غلوتاميناز بعد ترشيح وتنقية نواتج مايلي : *Streptoverticillium sp* و *Streptoverticillium mobarense* . *Streptoverticillium ladakanum* و *Streptoverticillium lydicus* . (Dickinson,1997);(Zhu *et al.*,1998;2000);(Nieuwenhuizen *et al.*,2004), (Ando *et al.*,1989);(Motoki *et al.*,1990);(Kanaji *et al.*,l993);(Jiang *et al.*,2000) كما أن الإنزيم موجود داخل خلايا *Bacillus subtilis* و *Physarum polycephalum* .(Faergemand *et al.*,1998b;1999a);(Tsai *et al.*,1996)

آلية عمله تكمن في أنه يقوم بربط الجزيئات التي تشمل على مجموعة أمين حرة (بروتينات ــ ببتدات) مع الجزيئات التي تشمل على مجموعة غاما بروكساميد (الغلوتامين) . ينشط في درجة قريبة من درجة حرارة 50 م° ويبدأ بالتثبيط فوق الدرجة 60م° كما أنه نشط في درجة الــpH 5-9 ولكن يبدأ انخفاض نشاطه في درجة الــpH أقل من 5 (Beatriz *et al.*,2006) .

تعتبر هذه الطريقة إحدى الطرائق التي تؤدي إلى زيادة فترة حفظ اللبن مع التحسين الكبير في خواص جودته . أثبتت الدراسات (Farnsworth *et al.*,2009) أن إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز تزيد فترة الصلاحية للبن الرائب وتحتفظ بالقوة الحيوية لبكتريا البادئ إلى ما يقارب ثمانية أسابيع عند

التخزين على درجة حرارة 4م° ، كما أنها تؤدي إلى ازدياد لزوجة اللبن وانخفاض ظاهرة خروج المصل بشكل كبير .

يتم تنفيذ هذه الطريقة من خلال تحضين الحليب مع أنزيم الترانس غلوتاميناز الميكروبي بكمية تتوافق مع تعليمات الشركة الصانعة على درجة 50م° لمدة ساعة واحدة . ثم يتم تثبيط الأنزيم حرارياً وذلك بالتسخين إلى درجة 75م°. ثم يتم تصنيع اللبن من هذا الحليب بتلقيحه بمزارع البادئ ثم تحضينه على درجة 43م° لمدة أربع ساعات .

يؤدي هذا الأنزيم إلى تحسين الخواص الحسية للبن الناتج . فبالنسبة للزوجة فإنه يؤدي إلى زيادتها بنسبة 75% عن اللبن غير المعامل بالأنزيم ، حيث تزداد اللزوجة بازدياد الكمية المضافة من الأنزيم. وهذه الزيادة ناتجة عن زيادة مقدرة البروتينات على تشكيل الخثرة وزيادة مقاومة الخثرة الناتجه للتحطم والانكسار نتيجة الربط الداخلي لجزيئات الكازئين .

أما بالنسبة لظاهرة انفصال المصل التي غالباً ما يكون سببها ارتفاع درجة حرارة التحضين أو ارتفاع نسبة بروتينات المصل إلى البروتينات الكلية أو انخفاض نسبة المواد الصلبة الكلية أو المعاملات الفيزيائية الخاطئة للبن أثناء تصنيعه وتوزيعه وحفظه. وبما أن الترانس غلوتاميناز يعمل على إكساب الكازئينات وبروتينات المصل قدرة أكبر على الترابط فيما بينها وتكوين الخثرة وبالتالي قدرة أكبر على ربط الماء كما أن هذا الأنزيم يعمل على تقليل حجم المسامات في الخثرة المتشكله فهذا كله يؤدي إلى التقليل من ظاهرة انفصال المصل بشكل كبير حتى عند توافر الشروط المواتية لحدوثها مثل ارتفاع درجة الحرارة (Farnsworth *et al.*,2009).

2-3-1-5- استخدام سلالات مختلفة من الـــ Probiotics:

ينتج اللبن حول العالم كحليب مخمر بزرع مشترك لصنفين من بكتريا حمض اللبن هما : *Streprococcus thermophilus*، *Lactobacillus delbrukii spp. Bulgaricus* . حديثاً هنالك تأكيد على تطوير حليب مخمر يحوي Probiotics .

. (Arunachalm,1999);(Kailasapathy,2006)

يعرف Probiotics بشكل شائع على أنها ميكروبات حية تمنح فوائد صحية للمستهلك ، الكثير من الأجناس والأنواع البكترية تستخدم بشكل شائع في المنتجات التجارية . وتشمل أنواع *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* .

هذه الأنواع من المنتجات قد طورت وسوقت في أوربا وأمريكا الشمالية والشرق الأقصى (Gilland *et al.*,2002);(Young *et al.*,2002) . إن مواصفات *Lactobacillus spp* قد وثق جيداً ولكن الأدوار الممكنة للـــ*bifidobacteria* المهضومة قد قيمت بشكل أقل . إن أهمية

bifidobacteria فيما يخص العملية الصحية لجهاز الهضم عند الانسان تشجع استهلاك مثل هذه المنتجات (Gilland *et al.*,2002);(Chou and Weimer,1999).

يمكن اختصار الفوائد الصحية للـــ Probiotics كما يلي :

تزود 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 (Ishibashi and Shimamura,1993);(Sanders,1993).

أن اندماج بكتريا Probiotics كإضافات غذائية في منتجات الحليب المخمر المختلفة قد دعم بمواصفات مستحسنة صحياً وأعطى ارتفاعاً ضخماً لاستهلاك ما يدعى بمنتجات القيمة المضافة في البلدان المتطورة (Mccann *et al.*,1996);(Adhikari *et al.*,2000).

من بين منتجات الألبان يعتبر اللبن الناقل المثالي لتسليم هذه البكتريا Probiotics للمستهلكين (Hughes and Hoover,1991) . من أجل أي من هذه المنتجات فإن بقاء Probiotics خلال فترة تخزين المنتج وفي وقت استهلاكه لكي يعطي الفوائد الصحية في المضيف هام جداً (Adhikari *et al*.,2000);(Mccann *et al.*,1996);(Sheu and Marshall,1993).

وبينما نفذ دعم المنتجات بالـــ Probiotics منذ وقت طويل من قبل المصنعين فلقد واجهوا تحديات معالجة البقاء . في الواقع قد يموت الكثير مما يزرع في الحليب حتى قبل أن ينال المستهلك أي فوائد صحية . كنتيجة لظروف المعالجة والنقل والتخزين . لقد حلل عدد من ماركات اللبن التجاري من حيث الوجود المناسب لأصناف *Lactobacillus* و*Bifidobacterium* وقد أشارت النتائج إلى أن معظم الألبان تحتوي عدد قليل من هذه الميكروبات (Donkor *et al.*,2007); (Dave and Shah,1997) . من جهة ثانية فقد يتم تلقي التأثيرات الوظيفية والعلاجية للغذاء فقط إذا كانت بكتريا Probiotics تبقى خلال المرور من الفم إلى الأمعاء . بشكل خاص هذه الميكروبات عرضة للعوامل البيئية مثل الماء ، الأوكسجين ، ودرجة الحرارة والحموضة .

ثبت حديثاً بأن الفوائد العلاجية للبن الرائب لا تتحقق إلا عند تناوله باستمرار مع الإبقاء على بكتريا حمض اللبن حية فيه . كما استطاع (Aly,2007) أن يحافظ على القوة الحيوية لبكتريا البادئ مدة 35 يوم عن طريق إضافة بكتريا البروبيوتيك . بالإضافة لذلك تم عزل بعض المضادات البكتيرية التي تنتجها هذه البكتريا عند نموها مؤدية لقتل البكتريا المرضية والبكتريا المسببة للفساد مثل الـــ *Enterobacteria* .

فمثلاً تفرز بكتريا الـــ *Lactobacillus acidophilus* مضاداً بكتيرياً يدعى (*Lactocidine*) وبكتريا الـــ *Lac. bulgaricus* مضاداً بكتيرياً يدعى (*bulgaricane*) . وهذه المضادات البكتيرية فعالة ضد عدد كبير من البكتريا المرضية مما يساهم في القيمة العلاجية للبن الرائب . كما أن أنواع

بكتريا البروبيوتيك تنتج مضادات بكتيرية مثل الباكتريوسين تقضي على الخمائر والعفن دون أن تؤثر في بكتريا البادئ (Carlsen,2001) .

أكد العالمان (Tenbrink and Minekus,2004) من خلال الأبحاث أن البكتريا النافعة تقاوم الأمراض وتطرد السموم وتقوي الجهاز المناعي ، كما تمكنا من الحفاظ على القوة الحيوية لبكتريا البادئ مدة 35 يوم عن طريق إضافة *Lactobacillus acidophilus* وهي نوع من أنواع بكتريا البروبيوتيك التي يمكن إضافتها للبن الرائب وهي محبة للحموضة العالية ونافعة للإنسان وعملها المساعدة على عملية هضم البروتينات والتي ينتج من خلالها حمض اللاكتيك وهيدروجين بيروكساید وانزيمات وفيتامينات (B) المركبة ، وكذلك مواد مضادة للجراثيم في اللبن كما تثبط أو تقتل الكائنات المجهرية الدقيقة الضارة بالإنسان .

تعتبر قدرة بكتريا البروبيوتيك على تحمل الاوكسجين والاحماض والاملاح الصفراء من التحديات المرتبطه بإضافتها للغذاء وللتغلب عليها أستعمل بعض الباحثيين سلالات مقاومة للاوكسجين والحموضة ، ومنهم من استعمل الاحماض الامينيه والببتيدات كملتقطات الاوكسجين مثل L-cysteine-HCL وحمض الاسكوربيك.
(Dave and Shah,1997);(Gobbetti *et al.*,1998);(Champagne *et al.*,2005)
ومنهم من أستعمل Micro-encapsulation تحتوي بداخلها على بكتريا البروبيوتيك (Rao *et al.*,1999) ، وكذلك أستعملت بكتريا البادئ *Streptococcus thermophilus* والتي تقوم بإستهلاك الاكسجين وبذلك تعزز من نمو بكتريا البروبيوتيك (Okonogi *et al.*,1994).

2-3-1-5-1- أنواع البروبيوتيك:

اكتسبت المنتجات الغذائية المدعمة ببكتريا البروبيوتيك انتشاراً واسعاً وطور المنتجون حول العالم منتجات جديده وعديدة تحتوي سلالات مختلفة من البروبيوتيك (Shah,2004) وتنتمي معظم انواع البروبيوتيك الى مجموعة بكتريا حمض اللبن Lactic acid bacteria وتشمل *Lactobacillus* *Streptococcus thermophilus* , *Pediococcus acidilactici* , *Bifidobacterium* . *Enterococcus faecium* , *Leuconstoc mesenteroides* , *Lactococcus Lactis*

ومن اكثر انواع البروبيوتيك إستخداماً في الأغذية هى التابعة للجنسين *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* (Jarvenpaa *et al.*,2007);(Saarela *et al.*,2007) .

ويبين الجدول (1) : اشهر أنواع بكتريا *Lactobacillus* و *Bifidobacterium* (Tieking *et al.*,2005);(Boylston *et al.*,2004) .

الجدول(1): اشهر سلالات بكتريا *Lactobacillus* و*Bifidobacterium*

أنواع ***Lactobacillus***	أنواع ***Bifidobacterium***
Lactobacillus acidophilus	*Bifidobacterium Longum*
Lactobacilus casei	*Bifidobacterium Bifidum*
Lactobacilus gasser	*Bifidobacterium lactis*
Lactobacillus plantarum	*Bifidobacterium Infantis*
Lactobacillus rhamnosus (GG)	*Bifidobacterium breve*
Lactobacillus reuteri	*Bifidobacterium Adolescentis*
Lactobacillus paracasei	*Bifidobacterium Licheniformis*
Lactobacillus fermentum	
Lactobacillus brevis	
Lactobacillus johnsoni	
Lactobacillus salivarius	

(Tieking *et al.*,2005);(Boylston *et al.*,2004)

2-3-1-5- 2- الأسماء التجارية لبعض أنواع بكتريا البروبيوتيك:

تقوم الشركات المنتجة لبكتريا البروبيوتيك بإستخدام الاسماء التجارية لها اكثر من الاسماء العلمية عند تسويقها أو عند استخدامها فى منتجات الأغذية ، فمثلا تضيف شركة دانون بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp animalis DN-173010* لبعض منتجاتها وتذكر على بطاقة البيان الخاص بهذه المنتجات اسماء تجارية حسب البلد ففى المملكة المتحدة تطلق عليها اسم *Bifidus Digestivum* ، و فى الولايات المتحدة والمكسيك اسم *Bifidus Regularis* ، وفى كندا تطلق عليها اسم *B. L. Regularis* ، وفى البرازيل اسم *Dan-Regularis* وفى الارجنتين والبرتغال والمانيا وبلجيكا وايطاليا وهولندا واستراليا وروسيا واسبانيا ورومانيا تحت اسم *Bifidus Actiregularis* . كذلك تسوق بكتريا *Lactobacillus casei DN- 114001* تحت الاسم التجاري *L. casei lmmunitas* . كما تقوم شركة هانسن - الدنمارك بتسويق بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp lactis* تحت اسم (BB12) وشركة دانسكو – الدنمارك تسوقها تحت الاسم التجاري HN019 *Bifidobacterium* كما تسوق شركة هانسن - الدنمارك بكتريا *L . Paracasei subsp paracasei* تحت اسم *Lactobacillus casei 431* ويبين الجدول(2): الاسماء التجارية لبعض من سلالات البروبيوتيك المضافة للاغذية ومصادرها (Yeung *et al.*,1999).

الجدول(2) : الاسماء التجارية لبعض سلالات البروبيوتيك المضافة للاغذية ومصادرها

الاسماء التجارية لبعض السلالات	مصدر السلالة
L. acidophilus NCFM	*Rhodia , Inc (Madison, Wis)*
L. acidophilus DDS-1	*Nebraska Cultures, Inc. (Lincoln, Neb.)*
L. acidophilus SBT-2062	*Snow Brand Milk Products Co, Ltd. (Tokyo, Japan)*
L. acidophilus LA-1 / LA-5	*Chr. Hansen , Inc. (Milwaukee, Wis)*
L. paracasei CRL 431	*Chr. Hansen , Inc. (Milwaukee, Wis)*
L. rhamnosus GG	*Valio Dairy (Helsinki,Finland)*
L. casei Shirota	*Yakult(Tokyo, Japan)*
L. casei Immunitas	*Danone (Paris, France)*
L. fermentum RC- 14	*Urex Biotech (London, Ontario, Canada)*
L. rhamnosus 271	*Probi AB(Lund,Sweden)*
L.salivariusUCC18	*University College (Cork, Ireland)*
L. reuteri SD2112(same as MM2)	*Biogaia (Raleigh, N.C.)*
L. johnsonii La1(same as Lj1)	*Nestle (Lausanne,Switzerland)*
L. lactis L1A	*Essum AB (Umea, Sweden)*
L .plantarum 229V	*Probi AB (Lund, Sweden)*
Bifidobacterium lactis HN019	*Danisco (Copenhagen,Denmark*
Bifid. breve Strain Yakult	*Yakult (Tokyo, Japan)*
Bifid. longum SBT-2928	*Snow Brand Milk Products Co, Ltd. Tokyo, Japan)*
Bifid. longum BB536	*Morinaga Milk Industry Co, Ltd. Zama-City, Japan)*
Bifidobacterium lactis Bb-12	*Chr. Hansen , Inc. (Milwaukee, Wis)*

(Yeung *et al.*,1999)

2-3-1-5- 3- خصائص بكتريا *Lactobacillus*:

تتواجد بكتريا *Lactobacillus* فى كامل القناة الهضمية والمهبل والفم للإنسان والحيوان لكنها تتوضع بوفره فى الامعاء الدقيقة (Tieking *et al.*,2005) ، وتصنف جميع انواعها وسلالاتها ضمن بكتريا حمض اللبن وهى بكتريا عصوية ، موجبة الغرام ، غير متبوغة ، غير متحركة ، غير مفرزة

لانزيم الكتاليز ، لاهوائية اختيارية او لاهوائية اجبارية ، الـ pH الامثل لنموها 5.5-6.2 (Charteries *et al.*,1997) . وتتراوح النسبة المئوية (بالمول) للقاعدتين النيتروجنيتين الجوانين +السيتوسين (G + C) ما بين 32-53% و يتبع لجنس *Lactobacilus* اكثر من 56 نوع من اشهر أنواعها البشرية (Tieking *et al.*,2005) :

(*Lactobacilus acidophilus* و*Lactobacillus rhamnosus (GG)* و *Lactobacillus bulgaricus* و*Lactobacillus plantarum* و*Lactobacillus salivarius*) .

تقسم هذه الأنواع من البكتريا بحسب منتجات التخمر الى ثلاثة مجموعات: (الاولى) متجانسة التخمر (والتى تنتج اكثر من 85% حمض اللبن) (الثانية) غير متجانسة التخمر (والتى تنتج فقط 50% حمض اللبن وكميات قليلة من الايثانول وحمض الخل وثاني اكسيد الكربون) (الثالثة) غير متجانسة التخمر لاهوائية اجبارية (تنتج حمض اللبن والايثانول وحمض الخل وثاني اكسيد الكربون بنسب متساوية) (Jamuma and Jeevaratnam,2004) .

تستخدم بكتريا *Lactobacillus acidophilus* وهى إحدى أنواع بكتريا *Lactobacillus* فى منتجات الالبان المتخمرة كبروبيوتيك لما لها من فوائد صحية ، ففى الولايات المتحدة حوالى 80% من اللبن الرائب المصنع يحتوي هذه البكتريا (Sanders,2003) وهي متجانسة التخمر تنتج حمض اللبن كناتج أساسي من عملية التخمر عصوية الشكل لاهوائية إجبارية ، وتصنف حسب منظمة الاغذية والدواء الامريكية كبكتريا آمنة (Jamuma and Jeevaratnam,2004) ، واسم *acidophilus* مشتق من (acidus) وتعني حمض acid و(philus) وتعني محبة loving (Shah,2006) وتثبط هذه البكتريا نمو بكتريا الفساد فى الجهاز الهضمي عن طريق خفض الـ pH وإنتاج مضادات بكتيرية مثل Bacteriocins,Acidophilin,Lactocidin (Ouwehand and Vesterlund,2004).

تعتبر درجة الحرارة المثلى لنموها ما بين 35-40م° ويمكن أن تنمو فى درجة أعلى من 45م° وعموماً تنمو هذه البكتريا فى بيئة تحتوي 5% اوكسجين و85% نيتروجين و10% ثاني اكسيد الكربون (Sanders,2003) ، وتتبع سلالة *Lactobacillus acidophilus LA-5* لجنس *Lactobacillus* وتستعمل بشكل واسع فى صناعة منتجات الالبان المتخمرة كبروبيوتيك لفوائدها الصحية (Tabasco *et al*, 2007) وهى من انتاج شركة هانسين فى الدانيمارك .

2-3-1-5- 4- خصائص بكتريا *Bifidobacterium*:

عزلت بكتريا *Bifidobacterium* لاول مره عام 1899 بواسطة العالم هنري تيزر من براز الاطفال الرضع المتغذين على حليب الامهات واسماها فى حينه *Bacillus Bifidus* وبعد ذلك

سميت *Lactobacillus Bifidus* (Ballongue *et al.*,2004) حيث كانت الانواع التابعة لجنس *Bifidobacterium* تتبع لجنس *Lactobacillus* (Klein *et al.*,1998) .

وفى عام 1974 تم اعتمادها كجنس مستقل (Holt *et al.*,1994) ، ويتبع حالياً لجنس *Bifidobacterium* اكثر من 30 نوع تم عزلها من الانسان والحيوان والحشرات والبيئه سته منها فقط استخدمت كبادئات فى منتجات الالبان المتخمره والانواع التي مصدرها الانسان هى:
Bifidobacterium adolescentis , *Bifidobacterium bifidum*
Bifidobacterium lactis , *bifidobacterium breve*
Bifidobacterium longum , *Bifidobacterium, infantis*
(Tamime,2002);(Boylston *et al.*,2004) .

تتواجد هذه البكتريا فى كامل القناة الهضمية والمهبل للإنسان والحيوان ولكنها تتمركز أكثر فى المعي الغليظ (Doleyres and Lacroi,2005) وتسود بكثرة فى أمعاء الرضع المتغذين على حليب الأمهات حيث يصل أعدادها فى أمعاء الرضع إلى 95% من التعداد الكلي وتقل أعدادها مع تقدم العمر لتشكل فقط 3% من التعداد الكلي لفلورا الامعاء لدى البالغين (Lievin *et al.*,2000) .

لاتصنف بكتريا *Bifidobacterium* من ضمن بكتريا حمض اللبن حيث تحلل السكريات لتنتج حمض اللبن وحمض الخل بنسبة (2-3) بدون إنتاج غاز CO_2 إضافة لإنتاج كميات قليلة من حمض الفورميك والايثانول (Bouhnik *et al.*,2006) ، كما وتفرز هذه البكتريا أنزيم Fructose -6 phosphate phophoketolas(F6PPK) والذي يعتبر من الوسائل الهامة للتعرف عليها (Berhoud *et al.*,2005) ، وهي بكتريا موجبة الغرام وشديدة التأثر بالاوكسجين (تحملها للاوكسجين يعتمد على السلالة نفسها) غير متحركة ، غير مكونة للابواغ ، وغير مفرزة لانزيم الكتاليز (Boylston *et al.*,2004) والـــpH الامثل لنموها 6.5 – 7.0 ويثبط نموها في الـــ pH أقل من 5.0 وأعلى من 8.0 والحرارة المثلى لنموها 37–41م° (Lourens-Hatting and Viljoen,2001) وتظهر السلالات المعزولة حديثاً بأشكال منتظمة أو متفرعة . على هيئة حرف V, X, Y وغالباً ماتكون عصوية مستقيمة أو منحنية (Holt *et al.*,1994) ، وجد أن النسبة المئوية (بالمول) للقاعدتين النيتروجنيتين الجوانين والسيتوسين (Guanine + cytosine) 58% في السلالات المعزولة من الإنسان ، أما فى السلالات الاخرى فتتراوح النسبة 42-67% (Klein *et al.*,1998);(Tamime *et al.*,1995) .

تستخدم هذه البكتريا فى صناعة الألبان المتخمرة كبروبيوتيك لما لها من فوائد صحية عديدة حيث يوجد أكثر من 70 منتج منتشرة حول العالم أحتوت هذه البكتريا وتشمل منتجات الألبان المتخمره والمثلجات اللبنية والجبن والمايونيز ومنتجات اللحوم ومنتجات اخرى (Shah,2004) .

استعملت بكتريا البروبيوتيك *Bifidobacterium animalis subsp lactis(Bb12)* والتابعة لجنس *Bifidobacterium* لاكثر من 10 سنوات فى منتجات الالبان المتخمرة وأغذية الاطفال

والرضع كبروبيوتيك فى عديد من دول العالم ، وتنمو هذه البكتريا بشكل جيد في الحليب والأغذية المعتمدة على الحليب لقدرتها على إستخدام اللاكتوز كمصدر للطاقة (Prasad *et al.*,1998); (Moller and De Verse,2004);(Roy,2001) ، كذلك تمتلك مقدرة على تحمل تراكيز قليلة من الأوكسجين تصل لحوالي 10% فى الفراغ الرأسي فى البيئات السائلة ، وهذه الصفات تسهل نموها في المنتجات التجارية في ظروف هوائية شحيحة (Aguilar *et al.*,2008) ، إن النمو الجيد والمثالي لكل أنواع بكتريا *Bifidobacterium* لا يكون إلا فى الظروف اللاهوائية (Cheng and Sandin ,1989) ، كذلك تمتلك هذه السلالة مقدرة جيدة للبقاء حية خلال عبورها بالقناه الهضمية ويعزا ذلك لتحملها الـــ pH المنخفض بالإضافة لقدرتها على الالتصاق بالخلايا الطلائية (Alander *et al.*,2001); (Haschke *et al.*,1998) ، كما أنها لا تؤثر في نكهة ورائحة ومظهر الغذاء وتبقى فية بتراكيز عالية حتى استهلاكه (Moller and De Verse,2004) .

2-3-1-6- استخدام اللاكتوفيرين:

اللاكتوفيرين هو مضاد بكتيري يقوم بإحتجاز الحديد ومسكه وبالتالي يمنع الأحياء الدقيقة من الاستفادة منه مما يثبط نموها بشكل جيد .

للاكتوفيرين أنواعاً عديدة تختلف بدرجة إشباعها بالحديد حيث تتراوح من الشكل الخالي من الحديد apo إلى الشكل المشبع بالحديد بشكل كامل halo .

تدل التجارب على أن إضافة اللاكتوفيرين من الشكل apo إلى الحليب المستخدم في صناعة اللبن بنسبة 0.5 – 2 غ/ل يؤدي إلى تأخير انخفاض قيمة الـــ pH اللبن الناتج أثناء فترة حفظه وتخزينه وذلك نتيجة لتثبيط بكتريا حمض اللبن . كما يؤدي استخدام اللاكتوفيرين إلى تثبيط نمو بكتريا *Streptococcus thermophillus* وهذا بمجمله يؤدي إلى إطالة فترة صلاحية وحفظ اللبن وتأخير فساده مع الملاحظة بأن اللاكتوفيرين لا يؤثر في الخواص الفيزيائية والحسية للبن الناتج . (Oram and Reiter,2008) .

2-3-1-7- تطبيق نظام اللاكتوبيروكسيداز LP-system:

إن اللاكتوبيروكسيداز هو عبارة عن إنزيم متواجد بشكل طبيعي في الحليب الطازج الخام . ولا يملك اللاكتوبيروكسيداز تأثير مضاد للبكتريا بحد ذاته . ولكن له القدرة على أكسدة شاردة الثيوسيانات SCN^- بوجود الماء الأوكسجيني H_2O_2 لتشكيل مركب كيميائي ذو تأثير مضاد للبكتريا في الحليب الطازج الخام . حيث يعمل هذا المركب على تثبيط نمو بعض أنواع البكتريا الموجودة في الحليب كفلورا طبيعية مثل الـــ*Streptococci* والـــ*Lactobacilli*. كما يعمل على قتل بعض أنواع البكتريا سالبة الغرام مثل الـــ*E.coli* و*Pseudomonads* .

ويعتبر حفظ الحليب الخام بطريقة اللاكتوبروكسيداز LP من الطرق الكيميائية المقبولة خاصة في الأرياف حيث لا تتوفر عند معظم المزارعين معدات التبريد المناسبة . فتستخدم طريقة الـــLP لإطالة فترة صلاحية الحليب الخام .

يعتبر نظام اللاكتوبيروكسيداز LP-system عاملاً كيميائياً لحفظ الحليب ولإطالة فترة صلاحيته وخاصة عند عدم توافر تقنيات التبريد المناسبة أو عندما تكون كميات الحليب غير كافية من أجل تشغيل اقتصادي لهذه التقنيات .

وهذا النظام المضاد للبكتريا ينتج عن تفاعل أنزيم اللاكتوبيروكسيداز مع بيروكسيد الهيدروجين بوجود ايونات الثيوسيانات كعامل منشط للتفاعل . ولكن بسبب انخفاض تركيز الثيوسيانات في الحليب الطازج فإن هذا النظام لا يساهم بحفظ الحليب إلا لفترة مؤقتة ، ولذلك يتم اللجوء إلى إضافة هذا النظام مع المواد المنشطة إلى الحليب أثناء حفظه أو تصنيعه . ولهذا الأنزيم تأثير مثبط على البكتريا الموجبة والسالبة الغرام وخاصة البكتريا المحبة للبرودة التي تسبب فساد الحليب ومنتجاته أثناء التخزين المبرد .

بالنسبة لصناعة اللبن فإنه يتم تنشيط نظام LP-system بإضافة 10 ppm ثيوسيانات الصوديوم + 8.5 ppm بيكربونات الصوديوم إلى الحليب الطازج ثم يتم صناعة اللبن من هذا الحليب بالطرق المعروفة . ويؤدي معاملة الحليب بهذا النظام إلى تأخر تشكل الحموضة في اللبن الناتج أثناء فترة حفظه بالإضافة إلى مفعوله التثبيطي على البكتريا وهذا ما يؤدي إلى إطالة فترة صلاحية اللبن الرائب لكن دون الإحتفاظ بالقوة الحيوية لبكتريا البادئ .

أكدت الأبحاث (Ndambi *et al.*,2008) عند مقارنة عينات من اللبن ناتجة عن حليب معامل بنظام LP مع عينات ناتجة عن حليب غير معامل على أن تكون جميع العينات محفوظة على درجة حرارة 4م° نجد أنه بعد أسبوعين من الحفظ قد فسدت 9 عينات من أصل 12 عينة من اللبن الناتج عن حليب غير معامل بينما لم يطرأ أي تغيير على العينات الـــ12 الناتجة عن حليب معامل بنظام LP-system .

وفي نهاية الأسبوع الثالث فإن عينتين فقط من اللبن المعامل ظهرت فيهما مظاهر الفساد واستغرق الأمر 27 يوماً حتى فسدت كامل عينات اللبن المعالج بالمقارنة مع 14 يوم بالنسبة لعينات اللبن غير المعامل .

تؤدي معاملة الحليب بهذا النظام إلى إنتاج لبن أقل لزوجة وهذا يعزى إلى تأثير ايونات الثيوسيانات في بروتينات الحليب . ولكن من مساوئ معاملة الحليب بنظام LP-system عند تصنيع اللبن أن طعم اللبن الناتج لم يكن مقبولاً عند بعض المستهلكين . أما البعض الآخر فلم يجد فرقاً يذكر بين اللبن المعامل وغير المعامل وفي كلتا الحالتين فلم يقدم نظام LP-system فائدة في مجال تحسين الطعم .

2-3-2- تغيير شروط التصنيع التكنولوجية :

2-3-2-1- طريقة التصنيع المعدلة:

تعتمد طريقة تصنيع اللبن الرائب التقليدية على القيام ببسترة الحليب (على درجة حرارة 85-90م° مدة 10-15 دقيقة) ثم تبريده إلى درجة حرارة 45م° ثم التلقيح بالبادئ بنسبة معينة (2%) أو حسب تعليمات الشركة الصانعة للبادئ ، ثم التحضين على درجة حرارة 45م° حتى انتهاء عملية التخثر.

أما الطريقة المقترحة فتعتمد على مبدأ تغيير المعاملات الحرارية التي يتعرض لها الحليب من أجل إطالة مدة حفظه . ويتم تنفيذ ذلك من خلال بسترة الحليب على درجة حرارة 90م° مدة 20 دقيقة ثم تبريده إلى درجة حرارة 60م°وبعد ذلك يتم نقله إلى عبوات بلاستيكية ملقحة مسبقاً بالبادئ بنسبة 2% أو حسب تعليمات الشركة الصانعة للبادئ . حيث يتم إغلاق العبوات جيداً وإبقائها على درجة الحرارة نفسها (60م°) مدة خمس دقائق وبعد ذلك يتم تبريد الحليب إلى درجة حرارة 45م° ثم القيام بتحضينه على هذه الدرجة حتى انتهاء عملية التخثر ، ثم تخزينه على درجة حرارة 4م° .

أكدت الدراسات (Tamime and Deeth,2008) انه بالمقارنة مع اللبن المصنع بالطريقة العادية فإن فترة صلاحية هذا اللبن مع الإحتفاظ بالقوة الحيوية للبادئ قد وصلت إلى ما يقارب 42 يوم . بينما استمر مدة 14 يوم للبن العادي المخزن بنفس الظروف وهذا عائد إلى القضاء الكامل على الفطور والخمائر في اللبن المصنع بالطريقة المعدلة . كما أن ارتفاع الحموضة في أثناء تخزين اللبن العادي كان أسرع بنسبة كبيرة مما هو في اللبن المصنع بالطريقة المعدلة .

لم تؤثر هذه الطريقة على خواص الجودة للبن الناتج بل على العكس فقد لوحظ ارتفاع لا بأس به في نسبة الآزوت الذائب/الآزوت الكلي بالإضافة إلى ارتفاع في نسبة مواد النكهة مثل الاستالدهيد والداي استيل .

2-3-2-2- استخدام طريقة الكربنة:

يعد اللبن أحد مشتقات الحليب المتخمرة والقابلة للفساد ، وتعتمد مدة التخزين على درجة التعقيم خلال عمليات الإنتاج والتعليب للبن وتستخدم بعض الطرق لإطالة العمر التخزيني للمنتج مثل إضافة الغاز وإضافة المواد الحافظة والمعالجة اللاحرارية بعد التحضين (Tamime and Deeth,2008) والكربنة (Ogden,2007) .

تعد عملية الكربنة رخيصة وآمنة وليس لها أي تأثيرات سلبية ظاهرياً على منتجات مشتقات الحليب المخمرة (Fairbairn and Low,2006) . حيث يمكن تطبيق طرق مختلفة لإضافة ثاني أوكسيد الكربون للمنتج ، مثل إضافة الماء المكربن ، إنتاج لبن سائل قابل للشرب من خلال عملية الكربنة التجارية وأيضاً إضافة الكربونات المعدنية ، ولكن لا تبدو هذه الطرق مناسبة للبن لكونه منتجاً عالي اللزوجة . وقد تم اقتراح حقن المنتج بثاني أوكسيد الكربون الغازي كطريقة للتغلب على هذه

المشكلة (Ogden,2007) ، وقد أفاد (Tamime and Deeth,2008) بأن ضخ الغاز (ثاني أوكسيد الكربون أو النتروجين) يعد طريقة بديلة وصالحة لإطالة عمر التخزين للألبان المطعمة بالفواكه وهذه الطريقة بالأخص تثبط من نمو الخميرة والعفن في اللبن .

قد يتسم ثاني أوكسيد الكربون بأنه يؤثر تحفيزياً أو تثبيطياً على البكتريا ، وهذه التأثيرات تعتمد على تركيز ثاني أوكسيد الكربون والحرارة (Blickstad *et al.*,2008) ونوع المنتج (Ogden,2007) ونوع الميكروبات (Davidson and Juneja,2009);(Dainty,2001) حيث يقوم ثاني أوكسيد الكربون بتمديد طور التأقلم وزمن الجيل للميكروبات المتلِفة وبالتالي يطول العمر التخزيني للأغذية القابلة للفساد ، وبالرغم من أن الآلية الخاصة لهذا التأثير المثبط غير معروفة تماماً. إلا أن كلا من إزاحة الأوكسجين وتحميض الجانب الخلوي والتداخل مع الأنزيمات الخلوية تعد آليات ممكنة (Daniels *et al.*,2005) وتبعا لـــ Wolfe في العام 2008 فإن العامل المثبط الأكبر والمرجح لثاني أوكسيد الكربون هو قدرته على اختراق الغشاء البكتيري بسهولة ، ولذلك ينخفض pH داخل الخلايا البكتيرية وكنتيجة لذلك لا يمكن للكائن أن يقاوم هذا الـــpH بفعالية وبالتالي يتعطل التوازن الأنزيمي الداخلي .

قام كل من King و Nagel في عام 2007 بدراسة التأثير المثبط لثاني أوكسيد الكربون على معدل نمو Pseudomonas aeroginosa ، وقد لاحظا ترابطاً خطياً بين تثبيط نمو Pseudomonas aeroginosa وتركيز ثاني أوكسيد الكربون .

وبالرغم من إجراء بعض التحقيقات على كربنة الأغذية المشتقة من الحليب لتمديد عمر التخزين للمنتجات مثل جبنة (Cottage) حسب (Chen and Hotckiss,2003) ، والحليب الخام (Ruas-Madiedo *et al.*,2006) ومنتجات الألبان (Choi and Kosikowski,2005) . إلا أن كربنة اللبن لا تزال سبباً يحظى بالاهتمام ، فقد تُحسن الكربنة أو تثبط من معدل نمو ميكروبات المزرعة والميكروبات الملوثه في اللبن .

أكدت الدراسات (Adriano *et al.*,2007) على أنه ينصح بتعبئة الألبان في عبوات تقلل من دخول الأوكسيجين بالإضافة إلى حقن غاز ثاني أوكسيد الكربون أو غاز النتروجين أو مزيج منهما أثناء التعبئة لإطالة فترة صلاحية الألبان بعد التخزين .

2-3-2-3- الطريقة الحرارية:

المبدأ: تعتمد على نفس مبدأ صناعة اللبن العادي (بسترة الحليب ثم تبريده ثم التلقيح بالبادئ والتحضين على درجة حرارة 42م°) ولكن تقترح هذه الطريقة أن يتم إجراء معاملة حرارية للبن المتشكل وذلك بتطبيق درجة حرارة معينة لفترة زمنية معينة. وقد وجد أن أفضل درجة حرارة تعطي النتائج المطلوبة هي 85م° على أن تطبق لفترة تتراوح بين 20 ــ 22 ثانية .

أدت هذه الطريقة إلى إطالة مدة حفظ اللبن إلى 6 أسابيع في شروط الحفظ على درجة الحرارة العادية وإلى 60 يوم عند حفظ اللبن على درجة حرارة 4م°. والسبب هو القضاء على بكتريا البادئ والبكتريا والفطور والخمائر الملوثة للبن إلى درجة كبيرة مما أخر الفساد . كما أن هذه الطريقة أكسبت اللبن الصفة الموقية (القدرة على مقاومة تغيرات الـــpH) وذلك بسبب حدوث تغييرات في طبيعة البروتينات وطبيعة ارتباطها مع الماء في التركيب البروتيني المتشكل (Foley *et al.*,2009).

2-3-2-4- تجنيس الحليب تحت ضغط عالي High Pressure Homogenizing (HPH):

إن اللبن هو مشروب مخمر مصنوع من الحليب بإستخدام مشترك لنوعين من البكتريا ذات التخمر المتجانس وهما *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii ssp Bulgaricus* هذه البكتريا تخمر الاكتوز (سكر الحليب) إلى حمض اللاكتيك وكميات صغيرة من المنتجات المشتقة.

تساهم هذه المنتجات المشتقة في المظهر الطبيعي للبن : طازجيته وطعمه الحامضي وخصائصه الغذائية والوقائية والعلاجية .

.(Tamime and Deth,2008);(De Brabandere and De Baerdemaeker,2009)

يجب أن تكون كافة الميكروبات المضافة للحليب مع مزرعة البادئ (وظيفة هذه المزرعة إتمام الوظيفة الخاصة لهذه الميكروبات) موجودة في المنتجات المخمرة وبعدد كاف للخلايا الحية والنشطة (Bulletin FIL/IDF,2003) ، كما أن المضمون الأصغري للبكتريا يختلف في بعض البلدان لأن هذا المضمون مؤسس على التشريع ، ولكي نستطيع إنتاج منافع علاجية فيجب أن يكون الحد الأدنى للبكتريا في اللبن من 10^6 إلى 10^8 من الخلايا الحية في 1 مل ، فوجود بكتريا حمض اللاكتيك بتراكيز عالية في اللبن يعطي العديد من الفوائد للمستهلكين ولكنه يؤدي أيضاً إلى ظهور ما بعد التحمض في المنتج وخصوصاً مع ضعف استمرارية التوزيع المبرد ، وتسبب هذه المشكلة تخفيضاً في الـــ pH وتعديلاً في الميكروفلورا اللبنية الحية في المنتج (Birollo *et al.*,2000) . كما إن المعالجة الحرارية المطبقة بعد التخمر لحفظ اللبن تخفض الميكروفلورا بشكل ملحوظ وبالتالي القيمة الغذائية للمنتج ، ولذلك تكون الأجهزة أو المعدات اللاحرارية هي الأكثر لزوماً من بين عدد من الطرق الحديثة لحفظ الأغذية والمعالجة ، وتشتمل هذه التقنية على تطبيق ضغط يتراوح بين (200-1000 MPa) في درجة حرارة الغرفة (Cheftel,2005) ، فتطبيق ضغط كافٍ على الأطعمة لا يؤثر على خصائصها الحسية ولا يسبب أي تغيرات في اللون أو فقدان في الفيتامينات .

وقد أظهرت الأبحاث المطبقة حتى يومنا هذا بأن الضغوط العالية قد تكون تخريبية لحفظ الأطعمة المستخدمة حتى أنها تثبط أو تغير استقلاب البكتريا وتؤثر على أنزيماتها (Cheftel,2005);(Hayakaw *et al.*,2004) . أما في تقنية الألبان فقد يستخدم الضغط العالي عند تجنيس الحليب وأيضاً كطريقة لحفظ المنتج .

. (Tanaka and Hatanaka ,2002);(De Ancos *et al.*,2000)

يتم تنفيذ هذه المعاملة من خلال تسخين الحليب إلى درجة حرارة أولية بحدود 70م° ثم تجنيسه بضغط عالي بحدود (200-1000 MPa) لمدة 30 ــ 40 ثانية وبعدل تدفق 120 ليتر/ساعة ثم يتم تصنيع اللبن من هذا الحليب بالتلقيح بالبادئ مباشرة دون بسترة (في الطريقة العادية تجري عملية بسترة للحليب وقد يتم اللجوء إلى تجنيسه بضغط مقداره 15 MPa ثم يتم تصنيع اللبن منه).

الفائدة : إن تطور الحموضة في اللبن الناتج عن حليب تم تجنيسه بضغط عال كان أبطأ من تطور الحموضة في اللبن المصنع بالطريقة الاعتيادية وبالتالي فإنه فترة حفظ اللبن الأول كانت أكبر . وهذا يبدو ناتجاً عن المفعول القاتل لضغط التجنيس العالي على البكتريا المنتجة للحموضة الموجودة في الحليب أساساً وعلى الأحياء الدقيقة المفسدة والممرضة المتواجدة في الحليب مثل بكتيريا *Coliform* و *Listeria* وبعض أنواع الخمائر والأعفان .

أما بالنسبة لخواص الجودة في اللبن الناتج عن حليب تم تجنيسه بضغط عالي فقد كانت ظاهرة انفصال المصل أقل حدوثاً في هذا اللبن بالمقارنة مع اللبن المصنع بطرق اعتيادية وذلك عائد إلى ازدياد مقدرة البروتينات على الاحتفاظ بالماء بسبب التغيرات التي يحدثها الضغط العالي في طبيعة البروتينات . وكذلك فإن تقليل حجم جزيئات الدهن بشكل كبير يساعد على زيادة ارتباطها مع البروتينات بشكل أكبر كما يسهل احتجازها داخل التركيب البروتيني المتشكل وهذا يؤدي إلى تشكل معقد هلامي : ماء ــ بروتين ــ دهن أكثر تماسكاً مما هو في اللبن العادي وهذا ما يرفع اللزوجة ويحسن القوام ويزيد القابلية للاستهلاك (Reps *et al.*,2009).

هذا وتم إقرار العديد من الدراسات المختصة بتأثيرات الضغوط على خصائص التخثر الحمضي للحليب حتى الآن .

(Johanston *et al.*,2002,2003,2005);(Ferragut *et al.*,2000);(Needs *et al.*,2000)

ويجدر بالذكر أنه قد تم تطبيق الضغط العالي لحفظ اللبن في اليابان بنجاح وعلى المستوى الصناعي لعدة سنوات (Suzuki,2002) . حيث ساعد تجنيس الحليب تحت ضغط عالي على خفض النشاط التحميضي لبكتريا اللبن بشكل وافٍ ، حيث حافظ اللبن المصنع من حليب مجنس تحت ضغط عالي على الـــpH البدائي بعد تخزين مبرد بدرجة حرارة 4م° لأربع أسابيع .

كما أظهرت دراسات سابقة بأن تأثير الضغط العالي على ميكروفلورا اللبن يتغير إلى حد بعيد حيث إن سلاسل *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* حساسة أكثر تجاه المعالجة من سلاسل *Streptococcus thermophilus* حسب (Reps *et al.*,2001) .

2-4- القوة الحيوية لبكتريا البادئ والـــ probiotics في اللبن الرائب:

تتوقف الفائدة من بكتريا البادئ والـــ probiotics في اللبن خلال التحضين والتخزين على عوامل داخلية وخارجية . العوامل الداخلية هي الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمنتج الغذائي نفسه وتشمل المواد المغذية والحموضة/ pH ، وإمكانات الأكسدة ، والنشاط المائي ووجود المركبات المضادة للميكروبات (IFT,2003) . العوامل الخارجية تتمثل في العوامل البيئية التي تم فيها تصنيع وتخزين المنتجات الغذائية ، على سبيل المثال ، درجة حرارة التخزين ، والوقت ، والرطوبة والغلاف الجوي (IFT,2003) .

2-4-1- العوامل الداخلية:

1ـــ المغذيات:

تتطلب جميع الكائنات الحية الدقيقة بعض العناصر الغذائية للنمو والحفاظ على بقائها ، والمواد الغذائية الأساسية المطلوبة من قبل الكائنات الحية الدقيقة هي المياه والكربوهيدرات والبروتينات والفيتامينات والمعادن (IFT,2003) . المواد المغذية الكافية في مزيج اللبن ضرورية لدعم نمو والحفاظ على سلامة بكتريا البادئ والـــ probiotics . ولأن الحليب لا يحتوي على كمية كافية من الأحماض الأمينية الحرة والـــ probiotics بكتريا ذات نشاط بروتيني منخفض يتم عادة إضافة الـــ probiotics مع بكتريا البادئ ذات النشاط البروتيني الأكبر (Shihata and Shah,2000).

لقد تم استخدام مصطلح Probiotics بشكل رئيسي كمضاد لكلمة Antibiotic فهي مشتقة من الكلمات اليونانية προ وβιοτοσ وترجمت على أن معناه "من أجل الحياة" (Hamilton-Miller *et al.*,2003) . فقد تم التوصل إلى تعاريف مختلفة للـــ Probiotics ولكن تبعاً للتوصيات المقدمة من المجموعة العاملة على تقييم الـــ Probiotics في الأغذية والتابعة لمنظمة الغذاء العالمية FAO\WHO (2002) فإن الـــ Probiotics تعد كمكروبات نشيطة مانحة للفوائد الصحية للمضيف وذلك عندما تتوافر بكميات كافية وملائمة ، وبالنتيجة يمكن اعتبار عينة واسعة من الأنواع والأجناس على أنها Probiotics محتملة (Holzapfel *et al.*,1998) ، ولكن أهم التصنيفات التجارية لهذه السلالات هي بكتريا حمض اللاكتيك (LAB) .

ينتشر استخدام بكتريا حمض اللاكتيك في إنتاج الأغذية المخمرة ، ويعد استخدام الـــ *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* بالإضافة إلى *Steptococcus thermophilus* كبادئات تقليدية لتخمير الحليب عند إنتاج اللبن ، والتي تساهم في تسريع تطوير حمض اللاكتيك في اللبن مع تحسين النكهة والخصائص الحسية فإن هناك Probiotics أخرى تستخدم لهذا الغرض ومن بينها *Lactobacillus rhamnosus* و *L.acidophilus* و *Lactobacillus Johnsonii* و *Bifidobacterium lactis* و *Bifidobacterium bifidum*

وذلك لقدرتها على النمو في الحليب مانحة بذلك خصائص مفيدة للصحة (Vasiljevic and Shah,2008) .

يتطلب نمو *Str. thermophilus* مختلف الفيتامينات والأحماض الأمينية التي لايمكنها تشكيلها ومنها ما يلي : النياسين ، حمض البانتوثينيك ، البيريدوكسين ، البيوتين ، نيتروفلافين ، آيسولوسين ليسين ، فالين وهيستيدين . في حين تتطلب *L. bulgaricus* و *L. acidophilus* حمض البانتوثينيك النياسين ، نيتروفلافين ، آيسولوسين ، ليسين ، فالين وهيستيدين (Frank and Hassan,1998).

كما أن الـــ*Bifidobacterium spp* هي أقل حساسية مقارنة مع *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus spp* (Van der Meulen *et al.*,2006).

2ــ الحموضة / الـــpH:

تكون حموضة اللبن في نهاية التحضين حوالي (0.9 ٪ حمض اللاكتيك) ؛ والـــPH 4.5 (Tamime and Robinson,1999a) ، ولكن إرتفاع الحموضة في اللبن بعد التحضين أثناء التخزين يمكن أن يقلل الـــpH إلى 4.2 . لاتنمو *Str. thermophilus* تحت درجة الـــpH 4.2 (Glass and Bishop,2007) . كما أن *bifidobacteria* لا تنمو تحت درجة الـــpH 4.5 (Marks, 2004) . في حين يمكن لـــ *L. bulgaricus* و *L. acidophilus* أن تستمر في النمو حتى درجة الـــpH 3.5 (Glass and Bishop, 2007) و الـــpH 3.6 (Shah,2006b) . ولذلك تبين أن الـــ*Bifidobacterium spp* تبدي نشاطاً أقل في اللبن الرائب المبرد عند درجة الـــpH منخفضة مقارنة مع *Str.thermophilus,L.bulgaricus* and *L.acidophilus*.

3ــ كمون الأكسدة والإرجاع (Eh):

الأكسدة المحتملة هو مقياس قدرة المادة على كسب أو فقدان الإلكترونات ، ويعبر عنها في الحليب بـــ (mV) ، تتوقف الأكسدة على عوامل مختلفة مثل الأوكسجين المنحل ، وحامض الأسكوربيك والريبوفلافين ، وتحول سيستين - سيستين والـــPH (Chandan,2006b) . تتراوح الأكسدة المحتملة للحليب الخام من 200 حتي 300 mV ، في حين تبلغ في الحليب المبستر + 182mV . (Bolduc *et al.*,2006) . وبشكل عام حدود الأكسدة المحتملة المرغوب فيها لنمو الكائنات الحية الدقيقة المختلفة تبلغ 300+ إلى 500+ mV للأحياء الهوائية ، ومن 100- إلى 300+ mV للاهوائية الاختيارية ، ومن 250- إلى 100+ mV للاهوائية الإجبارية (Ray,2004) . *Str.thermophilus* هي هوائية اختيارية ، في حين أن *L. bulgaricus, L. acidophilus* و *B. animalis* هي هوائية اجبارية . وبالتالي الأكسدة المحتملة المنخفضة للبن (300 mV+ ≤) قد تحسن جدوى هذه الكائنات الدقيقة (Vasiljevic and Shah,2008) .

4ــ النشاط المائي (aw):

يتم تعريف النشاط المائي بأنه كمية المياه اللازمة لنمو الكائنات الدقيقة ، والتي هي نسبة ضغط بخار الماء الناتج عن الركيزة الغذائية إلى ضغط بخار الماء النقي في نفس درجة الحرارة (IFT,2003) . لا يمكن للبكتريا أن تنمو إذا كان النشاط المائي في الوسط أقل من (0.85) (Bell *et al.*,2005) . يبلغ النشاط المائي في الحليب (0.98) (Varnam and Sutherland,2001b) وبالتالي ليس لنشاط المائي تأثير مثبط على بكتريا البادئ في اللبن وبكتريا الــ probiotics خلال التحضين ، ولكن مزج اللبن مع كميات عالية من السكر يمكن أن يقلل من النشاط المائي (aw to < 0.85) في اللبن ويثبط بكتريا البادئ والــ probiotics خلال التحضين (Tamime and Robinson,1999a) .

5ــ وجود العوامل المثبطة:

يمكن في مرحلة ما بعد البسترة تلوث اللبن الرائب مع الكائنات الدقيقة المسببة للأمراض أو الملوثات مما يسبب الضرر في نمو البادئات و/أو الــprobiotics (Glass and Bishop,2007) استخدام بادئات اللبن والــ probiotics لفترات طويلة يجعلها عرضة للهجوم ويؤدي إلى فقدان القدرة على إنتاج الحمض (Frank and Hassan,1998) . الإفراط في إنتاج بيروكسيد الهيدروجين من قبل البادئ خلال التحضين يقلل من جدوى حساسية *Str. thermophilus*, *L. acidophilus* *B. animalis* لبيروكسيد الهيدروجين خلال التخزين . كما يثبط وجود المضادات الحيوية مثل البنسلين وكلوكساسيلين في الحليب أيضا نمو بكتريا بادئات اللبن والــ probiotics. (Frank and Hassan,1998).

2-4-2- العوامل الخارجية:

1ــ درجة الحرارة ومدة التخزين:

يتم حفظ الألبان في الولايات المتحدة والعالم العربي في درجة حرارة ≥ 7 مئوية أثناء التخزين (PMO,2007) . يكون نشاط بكتريا البادئ والــ probiotics في درجة الحرارة هذه محدود وبالتالي يتم إنتاج كميات محدودة من حمض اللاكتيك لذا يؤخر التخزين المبرد مرحلة انخفاض نشاط /أو زوال بكتريا البادئ . وفقاً لــ (Ainaz and Ehsani,2008) وجدت زيادة في الحموضة من 0.90 إلى 1.1 ٪ ~ من اليوم 1 حتي 21 في الألبان المبسترة المصنعة من الحليب وتم تلقيحها مع بادئات بكتريا اللبن (*L. acidophilus* and *B. lactis*) وظهر انخفاض مجموع (*L. acidophilus* and *B. lactis*) من ~8.5 log cfu mL-1 إلى ~ 5.5 log cfu mL-1. كما درس (Viljoen *et al.*,2003) وزملائه فساد الألبان التي تم الحصول عليها من شركات تصنيع تجارية مختلفة وذكرت الدراسة أن الألبان المخزنة في 25 درجة مئوية مدة 30 يوماً وجد فيها نسبة

خمائر (5 to 6 log cfu g-1) مقارنة مع (4 log cfu g-1) في الألبان المخزنة في 5 درجة مئوية مدة 30 يوماً .

وذكرت دراسة اخرى (Mortazavian *et al.*,2006b) أن الألبان المصنعة مع بوادئ البكتريا (*L. acidophilus* and *B. lactis BB-12*) ، وتم تخزينها مدة 20 يوماً في 2 درجة مئوية أحصت عدداً أكبر من *L. acidophilus* (6.47 log cfu mL-1) مقارنة مع الألبان المخزنة في درجة 5 أو 8 (< 5.80 log cfu mL-1) ، في حين كانت *B. lactis* أكبر في الألبان المخزنة في درجة 8 مئوية (6.15 log cfu mL-1) مقارنة مع (≤ 5.80 log cfu mL-1) في درجة 2 أو 5 مئوية .

2ــ جو التخزين:

يلعب جو التخزين دوراً حيوياً في استمرار نشاط بكتريا البادئ و الــ probiotics أثناء التخزين . تفتقر (*Bifidobacterium spp or L. acidophilus*) لسلاسل نقل الالكترونات وأنزيمات الكاتلاز . لذا يتم تراكم بيروكسيد الهيدروجين المنتج من الأوكسجين داخل خلايا هذه الانواع ويسبب قتلها (Vasiljevic and Shah,2008) . كما أن إنتاج بيروكسيد الهيدروجين من قبل (*L. bulgaricus*) في وجود الأوكسجين يلعب دور مضاد جرثومي ضد الــ probiotics (Vasiljevic and Shah,2008) . يتم تعليب الألبان عموماً في أوعية ذات نسبة كبيرة للبوليسترين (HIPS) ومن مواد قابلة لنفاذ الأوكسجين (Talwalkar *et al.*,2004) والتي تملك نفاذية للأوكسجين وثاني أوكسيد الكربون من 1600 حتى 10000 (cm3 m-2 day-1 bar-1) على التوالي (Massey, 2003) . وأكد (Dave and Shah,1997c) أنه في اليوم 35 كان تركيز كل من *L. acidophilus* (6.94 log cfu g-1) and *bifidobacteria* (5.70 log cfu g-1) أكبر في الألبان المخزنة في عبوات زجاجية مقارنة مع الألبان المخزنة في أكواب البلاستيك حيث كان على التوالي (3.00 and 6.47 log cfu g-1). وتوجد *L. bulgaricus* في الألبان المخزنة في عبوات زجاجية (5 log cfu g-l <) لمدة خمس أيام بأعداد أكبر من الألبان المخزنة في أكواب بلاستيكية . وأرجع انخفاض الجدوى من هذه البكتريا إلى زيادة الأكسجين المذاب (9 جزء في المليون) نتيجة لنفاذية الهواء من خلال الأكواب البلاستيكية مقارنة مع الزجاجات (8.5 جزء في المليون) . من ناحية أخرى ، ذكر (Talwalkar *et al.*,2004) وزملائه وجود أوكسجين مذاب في اللبن المخزن في ™ Nupak (<4.29 جزء في المليون) ذات حاجز الغاز من البوليستر مقارنة مع اللبن المخزن في البوليسترين عالي التأثير (~ 58 جزء في المليون) وذلك في اليوم 42 ، ولكن لم يلاحظ أي فروق ذات دلالة إحصائية ما بين (*Bifidobacterium lactis* CSCC 1912) و(*L. bulgaricus* CSCC 2409) . وخلصوا إلى أن الأوكسجين قد يكون عاملاً هاماً لاطالة وجود *Bifidobacterium spp* في اللبن أثناء التخزين إلا ان هذا التأثير يستهدف سلالة معينة .

2-5-مراحل تصنيع اللبن الرائب:

1ــ المعاملة الأولية للحليب:

أ- الحليب كمادة أولية:

يتألف الحليب بشكل رئيسي من الماء كما يحتوي أيضاً على البروتينات ، الكربوهيدرات ، الدسم المعادن والفيتامينات ، يجب أن يتمتع الحليب المستخدم لتصنيع اللبن الرائب بالمواصفات التالية:

- أن يكون طازجاً وناتجاً من أبقار سليمة وموجود في ظروف طبيعية.
- أن يتمتع بصفات حسية مقبولة من حيث الطعم والرائحة واللون والقوام.
- أن يكون طبيعي غير مغشوش من حيث إضافة الماء أو سحب الدسم.
- ألا يحتوي على حليب السرسوب.
- ألا يحتوي على آثار المبيدات المنتقلة عن طريق الأعلاف.
- ألا يحتوي على آثار من المضادات الحيوية أو الأنزيمات أو المواد الكيميائية المثبطة للبادئ.
- أن يتمتع بصفات بكتيريولوجية جيدة (روبنسون،1997).

ب- تنقية وتصفية الحليب:

يتم في هذه العملية تخليص الحليب من الشوائب الموجودة فيه وذلك إما بالترشيح عبر قماش قطني أو كتاني ضيق الثقوب أو فوق سطح معدني مستوي مثقب. أو الفرز باستخدام الفراز الذي يعتمد على مبدأ الطرد المركزي (حرفوش ومنصور،2001).

ج- تعديل تركيب الحليب:

تهدف هذه العملية إلى زيادة محتوى الحليب من المادة الصلبة الكلية مما يؤدي إلى إنتاج لبن رائب أكثر ثباتاً ولزوجة مما يقلل من ظاهرة انفصال المصل، ويجب أن تكون نسبة المادة الصلبة الكلية 15.5-16% منها 12% مادة صلبة لادهنية ، وترفع عادةً نسبة المواد الصلبة اللادهنية في الحليب بمعدل يتراوح بين 1-3 % كما تعدل نسبة الدسم في حليب اللبن الرائب لتتراوح بين 0.1-4% (الميدع،2008).

د- إزالة الهواء:

يجب أن يكون محتوى الحليب المعد لصناعة اللبن الرائب منخفضاً قدر الإمكان من الهواء وتصبح عملية التخلية (إزالة الهواء) ضرورية عندما يتم رفع المادة الصلبة الكلية للحليب بوساطة إضافة بودرة الحليب ، أو عندما يكون الحليب حاملاً للروائح الغريبة (الميدع،2008).

ي- مضافات الحليب:

يمكن إضافة السكر أو المثبتات للحليب المعد لصناعة اللبن الرائب ، حيث يضاف السكر (الغلوكوز أو السكروز أو ما يعادلها من المحليات الصناعية) بهدف تحسين المواصفات الذوقية للبن الرائب .

أما المثبتات مثل (الجيلاتين، النشاء، البكتين، الآغار) فيمكن إضافتها بنسبة 0.1-0.5% بهدف زيادة لزوجة الخثرة ولتجنب الانفصال (Yoobmm and Siddiq,2003) .

2ــ التجنيس:

تتم مجانسة الحليب في درجة حرارة 55م° حتى80م° وضغط 10 حتى 20 ميغا باسكال 100-200 كغ/سم^2 (Chandan and Orell,2006b) ، يقلل التجنيس من حجم حبيبات الدهن وتوزيعها بشكل متجانس وبالتالي يمنع التجنيس فصل القشدة عن المزيج خلال التحضين . كما يبدل التجنيس طبيعة بعض بروتينات مصل اللبن وينتج مجموعات إضافية من السلفهيدريل (Tamime and Deeth,1999a). بالإضافة لذلك يزيد التجنيس من تفاعلات الدهون والكازئين حيث تُغلف أصغر كريات الدهن المشكلة حديثاً بالكازئين رافعة من تفاعلات بروتين مصل اللبن مع الكازئين (Tamime and Deeth,1980). هذا ويحسن التجنيس من قوام ومذاق اللبن ويقلل من ظاهرة انفصال المصل (Chandan and Orell,2006b);(Tamime and Deeth,1980) .(Tamime and Robinson, 1999a)

3ــ المعاملة الحرارية:

تطبق عملية البسترة على الحليب عند الدرجة 90-95 م° مدة 10-15 دقيقة والهدف منها:

- القضاء على الأحياء الدقيقة الممرضة الموجودة في الحليب.
- تنشيط بكتريا البادئ بسبب إتلاف المواد القاتلة للبكتريا الموجودة في الحليب الطازج مثل اللاكتينات وكذلك بسبب خفض كمية الأحياء الدقيقة الكلية الموجودة في الحليب الطازج والمعيقة لنموها.
- إحداث تحلل جزئي للبروتينات وإنتاج الأحماض الأمينية والببتيدات الضروري لنمو بكتريا البادئ مما يؤدي إلى خفض زمن التحضين ، إضافة إلى تشكل حمض الفورميك الهام لتنشيط بكتريا *L.bulgaricus* .
- إتلاف الأنزيمات المسببة لفساد الحليب وخاصة الليباز.
- حدوث تفاعل بين B – لاكتو غلوبولين وكازئين كابا لتشكيل معقد يعمل على زيادة خواص الكازئين المحبة للماء ومنع انفصال المصل .
- ترسب القسم الأعظم من بروتينات المصل مما يحسن من الخصائص الحسية للمنتج النهائي ويرفع القيمة الغذائية له .

. (Tamine and Robinson,2003)

4ــ إضافة البادئات:

يتألف بادئ اللبن الرائب من خليط لنوعين من بكتريا حمض اللبن هما: *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus bulgaricus* حيث تنمو هذه الأحياء الدقيقة في حالة تعايش فيما بينها وتسبب التخمر اللبني ، وقد وجد بأنه عند تنميتهما معاً يقومان بإنتاج كميات أكبر من حمض اللبن فيما لو تمت تنميتهما كلاً على حدة . يمكن تفسير آلية التعايش وتبادل المنفعة بين النوعين بأن البكتريا الكروية *Str. thermophilus* تنتج في البداية الحموضة مما يجعل الوسط ملائماً لنشاط البكتريا العصوية التي تنتج حمض اللبن بشكل متزايد ، كما أن الأنزيمات الناتجة عنها تستطيع تحرير بعض الأحماض الأمينية من سلسلة الكازئين وهذه الأحماض الأمينية الحرة وخاصة الفالين ضرورية جداً لتحفيز وتنشيط نمو البكتريا الكروية التي تبدأ في النشاط والنمو وإنتاج مركبات النكهة (دي أستيل) الذي يحث البكتريا العصوية على إنتاج الأسيت ألدهيد المهم للطعم والنكهة (Sharpe, 2008) . لقد ثبت علمياً بأن هذين النوعين يجب تواجدهما بنسب متساوية في البادئ وذلك للحصول على لبن جيد النوعية ، ويمكن التحكم بنسبة هذين النوعين من البكتريا بالعوامل التالية:

1ــ كمية البادئ المضافة: إن إضافة كمية كبيرة من البادئ تحسن من نمو بكتريا اللاكتيك العصوية في حين إن إضافة كمية قليلة من البادئ يحسن من نمو بكتريا اللاكتيك الكروية .

يمكن القول إن المستوى الدقيق للكمية المستخدمة في التلقيح عرضة لبعض الاختلافات إلا أن استخدام معدل 2% حجماً أو حسب تعليمات الشركة الصانعة يمكن من إنهاء التخمر خلال أربع ساعات .

2ــ درجة حرارة التحضين: درجة الحرارة المثلى لنشاط البكتريا العصوية هي 45-50م° وللبكتريا الكروية 37-42م° ولذلك فإن درجة حرارة التحضين المثلى لتعايش هذين النوعين هي 40-45م°.

3ــ المدة الزمنية اللازمة للتحضين: تسمح إطالة فترة التحضين بنمو أكثر لبكتريا اللاكتيك العصوية في حين أن فترة التحضين القصيرة تسمح بنمو أكثر لبكتريا اللاكتيك الكروية .

إن إنتاج بكتريا اللاكتيك الكروية *Str . thermophilus* من الحموضة يتناقص عند درجة الحموضة 150° D وتصبح أكثر حساسية للحموضة في حين أن بكتريا اللاكتيك العصوية *Lactobacillus bulgaricus* المشكلة بصورة رئيسية لنكهة اللبن الرائب لها قدرة على إنتاج الحموضة أعلى من 180° D ولهذا فهي المسؤولة عن إنتاج الحموضة بعد عملية التحضين (Salminen and Wright,2003) .

2-5-1- خصائص بكتريا *Streptococcus thermophilus*:

هي إيجابية الغرام وغير متحركة وسلبية الكاتلاز ، متجانسة التخمر ذات خلية بيضوية الشكل (Chandan and Orell,2006b);(Singleton and Sainsbury,1987) درجة الحرارة المثلى

لنمو هذا النوع هو 37م°ولكنها يمكن أن تنمو في نطاق درجات الحرارة من 20م° إلى 52م°. (Chandan and Orell, 2006b);(Frank and Hassan,1998) الرقم الهيدروجيني الأمثل لنموها هو 6.5 حيث يتوقف النمو عند الرقم الهيدروجيني 4.2 حتي 4.4 (Davis,1975);(Frank and Hassan,1998). تخمر الغلوكوز والفركتوز والمانوز والسكروز واللاكتوز ، وتنتج (+) L حامض اللاكتيك (Chandan and Orell,2006b). وتقوم بتفكيك اللاكتوز في اللبن إلى غلوكوز وغالاكتوز بواسطة β غالاكتوزيداز . ويمكن الاستفادة من الغلوكوز فقط باستثناء عدد قليل جداً من السلالات التي يمكن أن تستخدم أيضا الغالاكتوز (Chandan and Orell,2006b).

2-5-2- خصائص بكتريا *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*:

هي عصيات إيجابية الغرام ، سلبية الكاتلاز ، غير متحركة ، متجانسة التخمر لاهوائية/هوائية. (Chandan and Orell,2006b);(Frank and Hassan,1998) تحطم اللاكتوز إلى الغلوكوز والغالاكتوزعن طريق β - غالاكتوزيداز . وتفكك فقط الغلوكوز لإنتاج (-) D حامض اللاكتيك وبالتالي يتراكم الغالاكتوز في الوسط (Chandan and Orell,2006b) (Tamime and Robinson,1999b). ويمكن الاستفادة منها في تفكيك اللاكتوز والغلوكوز والفركتوز وبعض السلالات كما يمكن لها أن تخمر الغالاكتوز . تنمو داخل نطاق درجات الحرارة من 22 إلى 52 درجة مئوية ومع ذلك فإن درجة الحرارة المثلى لنموها هي45م° إلا أن تحضين اللبن يتم على الدرجة 43م° (Chandan and Orell,2006b) من أجل ضمان درجة الحرارة المثلى للـــ *Str. thermophilus* . الرقم الهيدروجيني الأمثل لنموها هو 5.8 ويتوقف النمو عند الرقم الهيدروجيني 3.5 حتي 3.8 (Davis,1975);(Frank and Hassan,1998) .

2-5-3- أهمية البادئات في صناعة منتجات الألبان المتخمرة:

تعتبر عملية التخمر من أقدم الطرق المعروفة لحفظ الاغذية ، وكمثال على ذلك تخمرات حمض اللبن المستخدمة في صناعة منتجات الألبان مثل الأجبان والألبان المتخمرة . تعزى عملية تخمر الحليب أو تحميضه عند تركه فترة من الزمن إلى نشاط الأحياء الدقيقة وإفرازها لأنزيمات خاصة في الوسط تدعى هذه الكائنات في مجال صناعة الألبان بالبادئات Starters ، وبالتالي فيمكن تعريف البادئ على أنه: مزرعة نقية مكونة من نوع واحد أو أكثر من البكتريا تعمل بمفردها أو بالمشاركة مع غيرها ، وتضاف عمداً إلى الحليب أو منتجاته لإحداث تغييرات مرغوبة وتحسين صفات المنتج اللبني (Ray,2004).

تتضح الأهمية الأساسية للبادئات في:

1ــ إنتاج حمض اللبن (اللاكتيك) Lactic acid نتيجة تخمر سكر الحليب (اللاكتوز) .

2ــ إنتاج مواد النكهة مثل الداي أسيتيل والأسيت الدهيد والتي يعزى إليها طعم بعض المنتجات اللبنية.

3ــ لبعض بكتريا البادئ تأثير محلل للبروتين ولبعضها الآخر القدرة على تحلل الدهون وهذا يسهم في إنضاج بعض أصناف الجبن .

4ــ تنتج بعض أنواع البادئات مواد كحولية مما يكون له أثر في الطعم المميز لكل من الكيفير والكوميس .

5ــ تعمل الظروف الحمضية في هذه المنتجات على منع نمو الميكروبات المرضية أو الميكروبات غير المرغوبة .

الصور التجارية للبادئات:

يعتمد مصنعو الألبان على شراء المزارع التجارية لبكتريا البادئ من المخابر الخاصة أو الشركات حيث توجد هذه البادئات على ثلاث صور تجارية:

أــ البادئات على الصورة السائلة (Liquid starter) .

ب ــ البادئات على الصورة المجففة (Dried starter) .

ج ــ البادئات على الصورة المجفدة (Lyophilization starter) أو المركزة المجفدة . والأخيرة يمكن استخدامها مباشرة في حوض التصنيع ، أما السائلة والمجففة أو المجفدة فلابد من إجراء تنشيط وإكثار ، ويعتمد التنشيط والإكثار على أربع مراحل وهي:

1ــ المزرعة التجارية: وهي المزرعة التي تحتوي على نوع أو أكثر من ميكروبات البادئ على صورة نقية ويشتريها الصانع من المخابر الخاصة .

2ــ المزرعة الأم: ونحصل عليها من مضاعفة المزرعة التجارية في مصنع الألبان ، وتُحضر هذه المزرعة في المصنع يومياً أو كل يومين .

3ــ المزرعة الوسيط: وهي خطوة وسيطة بين الأم وتحضير كمية البادئ النهائي .

4ــ مزرعة البادئ النهائي: وهي التي تستخدم في التصنيع وتضاف عادة بين 0.5-5% من وزن الحليب المراد تصنيعه وذلك حسب نوع المنتجات ونوع البادئ وصفاته وتعليمات الشركة الصانعة للبادئ .

صفات البادئ الجيد:

1ــ المظهر: يجب أن يكون أملس صافياً أي لايحتوي على ثقوب غازية ولايظهر على سطحه مصل منفصل ، كذلك يجب أن يكون خالياً من أي نموات فطرية أو خميرية .

2ــ القوام والتركيب: يجب أن يكون قوامه متجانساً ومتماسكاً ، أي ليس به أي تكتل ظاهر وأن يكون ناعماً قشدياً .

3ــ الرائحة: يلاحظ في البادئ الجيد خلوه من أي رائحة غير مقبولة .

4ــ الطعم: يجب أن يكون طعمه حامضياً خفيفاً ونظيفاً وخالياً من الطعوم غير المقبولة .

5ــ الحموضة: أن تتراوح حموضته بين 0.7ــ0.9% مقدرة كحمض لبن (لاكتيك) .

5ــ التحضين:

يبرد الحليب المعامل حرارياً إلى درجة حرارة التحضين ثم يضخ إلى خزانات التحضين ويضاف له البادئ بالنسبة الموصى بها من الشركة الصانعة ويحرك المزيج جيداً لضمان توزع متماثل للبادئ في الحليب ، ويستمر التحضين عند درجة الحرارة 40-45م° مدة 2-4 ساعات ، كما يجب عزل خزانات التحضين لضمان عدم تذبذب درجات الحرارة أثناء فترة التحضين ، كما تزود هذه الخزانات بمقياس pH لمراقبة تطور الحموضة ، ومن المهم جداً عدم تعريض المنتج لأي اضطراب ميكانيكي خلال الـ 2-2.5 ساعة الأخيرة والتي تكون حساسة جداً لخطر انفصال المصل (Modler *et al.*,2000) .

في هذه المرحلة يتحول اللاكتوز في الحليب إلى حمض اللبن بواسطة بكتريا البادئ وهو التغيير الأكثر أهمية الذي يحدث أثناء التحضين . كما يتم طرح نواتج استقلاب أخرى مثل الأسيت الدهيد والأسيتون وثنائي الأسيتيل وحمض الفورميك وحمض الخليك وحمض البروبيونيك أيضاً خلال التحضين والتي تساهم في إضافة نكهة مميزة للبن (Chandan and Orell,2006b). ويتكون هلام اللبن نتيجة لزعزعة الاستقرار في جزيئات الكازئين كنتيجة مباشرة لانخفاض الرقم الهيدروجيني أثناء عملية التحضين . تبدأ زعزعة الاستقرار في جزيئات الكازئين عند الرقم الهيدروجيني 4.9 حيث تصبح فوسفات الكالسيوم عندها قابلة للذوبان وتتحول الى الشكل الشاردي (الأيوني) . يذوب فوسفات الكالسيوم عند الرقم الهيدروجيني 4.6 تماماً وتكون جزيئات الكازئين عند درجة الحموضة اللازمة للتشرد . وبالتالي تشكل جزيئات الكازئين إجمالي هلام اللبن (Chandan,2006b) . يلعب التحلل البروتيني خلال التحضين دوراً حيوياً في بقاء بكتريا اللبن وإنتاج مركبات النكهة خلال التحضين بواسطة بروتين الخلية *L. bulgaricus* التي تحول الكازئين إلى عديدات ببتيد والتي يتم تحويلها لاحقاً إلى أحماض أمينية واستخدامها من قبل بكتريا اللبن (Serra *et al.*,2009) . تتمثل أهمية التحلل البروتيني في إنتاج الأحماض الأمينية الأساسية وتحسين القيمة الغذائية (من خلال تحسين التوافر البيولوجي من الأحماض الأمينية) في منتجات اللبن ، يتم عادة إيقاف التحضين عند الرقم الهيدروجيني 4.6 أو الحموضة (0.9٪ حمض اللاكتيك) (Chandan and Orell, 2006b).

العوامل المؤثرة في مرحلة التحضين:

1ــ كمية البادئ المضاف .

2ــ درجة حرارة التحضين .

3ــ فعالية بكتريا المزرعة .

مواد الطعم والنكهة المتشكلة خلال عملية التخمر اللبني:

يمكن أن تقسم مركبات النكهة إلى أربعة أقسام:

- الحموض غير الطيارة (حمض اللاكتيك ، البيرفيك ، الأكزاليك أو السكسنيك).
- الحموض الطيارة (الفورميك ، الخل ، الزبدة).
- المركبات الكربونيلية (الأسيت ألدهيد ، الأستون ، الداي أستيل).
- مركبات أخرى متنوعة (حموض أمينية ، مركبات ناتجة عن التحفيز الحراري للاكتوز أو البروتين أو الدسم) (Garver, 2004) .

6ــ التبريد:

يتم التبريد إلى 10-15م° بهدف تثبيط بكتريا البادئ والتحكم في مستوى حمض اللبن في المنتج بعد فترة التحضين ، ويجب ملاحظة أن معدل التبريد قد يؤثر على تركيب الخثرة حيث أن التبريد السريع قد يؤدي إلى انفصال المصل لذلك يتم التبريد إما في حوض التحضين نفسه (حيث تستغرق العملية حوالي 4 ساعات لخفض درجة الحرارة من 42 إلى 4م°) أو باستخدام مبادل حراري أنبوبي أو ذو ألواح ولا تستغرق العملية هنا أكثر من 20-30 دقيقة حيث يتم التبريد من 42م° إلى 15م° ثم تخفض درجة الحرارة إلى 4م°. كما يمكن أن تتم عملية التبريد عبر أربع مراحل:

- حيث يتم إدخال اللبن للتبريد ويبرد من 42-45م° حتى 35-38م°.
- يبرد اللبن من 35-38م° حتى 19-20م° بهدف إيقاف نمو بكتريا اللاكتيك وتزايدها.
- يبرد اللبن من 19-20م° حتى 10-12م° بهدف تخفيض التخمر اللبني.
- يبرد اللبن من 10-12م° حتى 4م° وهي درجة حرارة التخزين.

وعند انتهاء التبريد يجب أن يكون رقم حموضة اللبن الطبيعي 4.5 وحموضة اللبن المدعم بالفواكه 4.7 . وتعتمد فعالية التبريد على حجم الأوعية ، تصميم ومادة العبوة ، طريقة التبريد المتبعة (Tamine and Robinson,2003) .

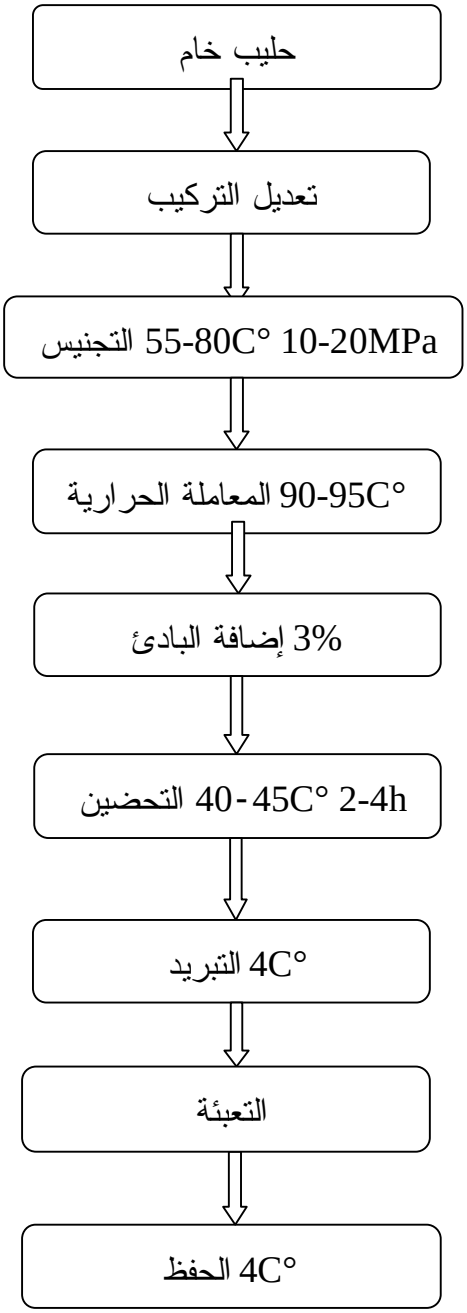
7ــ التعبئة:

تعتمد آلات تعبئة اللبن الرائب على مبدأ المستوى الحجمي ، لكن يجب الانتباه إلى أن مكابس مضخة التعبئة قد تسبب بعض التقطيع للخثرة وبالتالي انخفاض اللزوجة لذلك يوصى بخفض سرعة التعبئة واستخدام خرطوم تعبئة ذو فوهة مثقبة بثقوب كبيرة حيث أن لزوجة اللبن تنخفض قليلاً عند

التعبئة ثم تزداد بعد التخزين المبرد مدة 24 ساعة . أما عند معاملة الخثرة بشكل غير مناسب عند التعبئة فتؤدي إلى خفض اللزوجة عند التعبئة ولا يحدث لها أي زيادة بعد التخزين المبرد بل على العكس يحصل انفصال المصل ويكون القوام رخواً وغير متماسك (الميدع،2008).

8ــ الحفظ:

يتم حفظ اللبن على درجة حرارة 4-10م°عند التخزين لفترة قصيرة . أما عند التخزين لفترة طويلة فيحفظ اللبن على درجة حرارة تختلف تبعاً لمحتوى اللبن من المادة الصلبة الكلية ودرجة الحموضة وغالباً ما يكون الحفظ على درجة حرارة 1-1.2م° للبن ذو المحتوى 12-14% من المادة الصلبة الكلية ودرجة الحموضة 65°D-110 ، كما يجب أن يتم التبريد قبل 12 ساعة من تسليم اللبن للمستهلك (حرفوش ومنصور،2001). ويبين الشكل (1) : مراحل صناعة اللبن الرائب .



الشكل (1) : يبين مراحل صناعة اللبن الرائب .

2-5-4- العوامل التي تؤثرفي صفات اللبن الرائب:

1ــ نسبة المواد الصلبة في الحليب المستعمل:

يتحسن قوام اللبن الرائب ونكهته بزيادة نسبة المواد الصلبة الكلية في الحليب ، وتحدد القوانين الخاصة بكل بلد نسبة الجوامد في اللبن الرائب والتي تتراوح بين 9% في بعض أنواع اللبن الرائب وحتى 18% في أنواع أخرى . ويفضل أن تكون نسبة الجوامد الكلية حوالي 15ــ16% لإنتاج الأنواع الجيدة من اللبن الرائب . إن زيادة نسبة الجوامد اللادهنية في الحليب وبخاصة الكازئين وبروتينات المصل تعطي اللبن الرائب اللزوجة والقوام المتماسك وهذا يقلل من ظاهرة انفصال المصل (Tamine and Robinson,2003).

2ــ التجنيس:

يتم إجراء التجنيس قبل المعاملة الحرارية للحليب ، ويعمل التجنيس على تحسين التوزيع المتجانس لمكونات المزيج وزيادة لزوجة خثرة اللبن الرائب وثباتها بالإضافة إلى تحسين صفاته المذاقية . كما يقلل من خطر انفصال المصل نظراً لتحسينه قدرة ارتباط البروتينات مع الماء (Tamine and Robinson,2003).

3ــ المعاملة الحرارية:

تؤثر المعاملة الحرارية في الصفات الفيزيائية والكيمائية للحليب واللبن الرائب الناتج . ومن أهم التغيرات الفيزيوكيميائية على بنية البروتينات ، انخفاض رقم الحموضة والتأثير في الصفات الغذائية بالنسبة لبكتريا البادئ بهذه المعاملة الحرارية بحيث يحدث تشوه لبروتينات المصل ويتشكل معقد بين بيتالاكتوغلوبين وكازئين كابا مما يزيد من صفة الكازئين المحبة للماء وبالتالي تشكل خثرة ثابتة . كما تخفض المعاملة الحرارية من زمن التخثر نتيجة زيادة الحموضة ويحدث تنشيط لنمو بكتريا اللاكتيك عند معاملة الحليب بالحرارة وذلك بسبب إتلاف المواد المعيقة لنشاط مثل اللاكتينات وإنتاج الأحماض الأمينية والببتيدات الضرورية لنمو بكتريا البادئ . بالإضافة إلى تشكيل مركبات شبيهة بحمض الفورميك الهام لتنشيط بكتريا *L. Bulgaricus* . يحدث أيضاً انخفاض في القيمة الغذائية للحليب عند معاملته بالحرارة . كما يحدث تخريب لبعض الفيتامينات مثل فيتامين C وفيتامين B1,B6,B12 وحمض الفوليك وتزداد نسبة هذا الفقد مع ارتفاع محتوى الحليب من الأوكسجين (Tamine and Robinson,2003) .

4ــ نسبة البكتريا العصوية إلى البكتريا الكروية:

إن هذه النسبة تحدد صفات الطعم والقوام المرغوبة للبن المتخمر وتفضل عدة مصانع أن تكون هذه النسبة 1:1 غير أن بعضهم يفضل نسبة 2:1 أو حتى 3:1 ، يمكن التحكم بهذه النسبة عن طريق درجة حرارة التحضين ، حيث أن الحرارة المثلى لنمو كل من هذين النوعين مختلفة . رغم أنه يمكن

تنمية هذين النوعين بشكل مفرد ثم إضافتهما إلى الحليب مباشرة عند تخميره ، غير أن العملية المتبعة عادة هي تنمية هذين النوعين سوية ولمرة واحدة على الأقل قبل إضافتهما إلى الحليب وذلك لأن كلا النوعين من البكتريا يشجع نمو النوع الأخر (Elsoda and Pandiam,2002).

5ــ المعاملة الميكانيكية للبن الرائب:

يجب أن تكون المعاملات الميكانيكية للخثرة لطيفة قدر المستطاع ، حيث أن الخثرة المتشكلة في أثناء التخمير حساسة للمعاملات الميكانيكية ولهذا السبب فإن لتصميم المصنع أهمية قصوى . حيث أنه في حالة التصميم الجيد للمصنع فإن لزوجة الخثرة تنخفض قليلاً عند التعبئة ثم تزداد بعد التخزين المبرد مدة 24 ساعة ، أما عند معاملة الخثرة بشكل غير مناسب تنخفض لزوجة اللبن الرائب عند التعبئة ، ولايحدث أي زيادة لها بعد التخزين المبرد بل يحصل انفصال المصل (Elsoda and Pandiam,2002).

6ــ التبريد:

إن التبريد يعد مرحلة هامة أثناء التصنيع للحصول على خثرة متماسكة . حيث يوقف التبريد نشاط بكتريا البادئ مما يؤدي إلى وقف إنتاج الحموضة ، كما يهيئ البروتين لحفظ أكبر كمية من المصل ويفضل التبريد التدريجي على التبريد السريع المفاجئ لأنه يمنع انكماش الخثرة وتقلصها (Tamine and Robinson,2003).

2-6- القيمة الغذائية والعلاجية للبن الرائب:

يوصف الحليب بأنه غذاء طبيعي كامل ، وكذلك تتمتع منتجات التخمر بالصفات الكمية الغذائية الأساسية نفسها نظراً للتركيز الاصطفائي لمكونات الحليب بالإضافة إلى ما يقدمه التخمر المكروبي من بعد غذائي في اللبن الرائب . فحمض اللبن ، اللاكتات ، الحموض الدسمة الحرة ، الحموض الأمينية الحرة ، مركبات الكربونيل ومجموعات من المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض التي تتشكل فيها تؤثر على القيمة الغذائية لمنتجات التخمر هذا بالإضافة إلى المضادات البكتيرية الطبيعية التي لا تكون موجودة في المواد الأولية قبل التخمر بل تنتجها المزارع البكتيرية (Carlsen,2001) .

تتصف منتجات الألبان بنكهة وطعم حامضي وقيمتها الغذائية ، حيث تعد مصدراً ممتازاً للبروتين والمعادن وبخاصة الكالسيوم والفوسفور والفيتامينات عدا عن أهميتها من الناحية الطبية والعلاجية الجاذبة لكثير من الانتباه (Carlsen,2001) .

تكون كمية الفيتامينات عادةً ثابتة في منتجات التخمر اللبني بينما يمكن أن تزداد كمية الريبوفلافين بواسطة التخمر ، كذلك فإن الخصائص الحسية والذوقية المميزة لهذه المنتجات تجعل تقبل المستهلكين لها مشجعاً . تؤدي المعاملات الحرارية التي تجرى للحليب المخصص لصناعة الألبان إلى خفض كمية فيتامين C إلى الصفر تقريباً والريبوفلافين لنحو 35% .

2-6-1- القيمة الغذائية:

اللبن الرائب هو مصدر غني بالمواد المغذية مثل البروتينات والكالسيوم والفوسفور والريبوفلافين وحامض الفوليك والمغنيزيوم والزنك والنياسين . يوفر اللبن الرائب جميع الأحماض الأمينية الأساسية والفيتامينات والمعادن في أشكال حيوية . كما يوفر تناول 150 غرام من اللبن 26٪ من الاحتياجات اليومية من الكالسيوم للكبار و 41 ٪ من الاحتياجات اليومية من الكالسيوم للأطفال في عمر5 سنوات. وفي كثير من الأحيان يستكمل اللبن مع الحليب المجفف مما يجعله مصدراً جيداً للبروتين . يمكن عند إستهلاك 200 حتى 250 مل من اللبن الرائب توفير الحد الأدنى من البروتين الحيواني يومياً بما يقدر (15غ) للفرد .

إن محتوى الحليب من اللاكتوز 4.7-4.8% يزداد عند صناعة اللبن الرائب وذلك بإضافة الجوامد الكلية للحليب أو إغنائه . تنخفض هذه النسبة بعد التخمر إلى 2.5-2.6% .

إن انخفاض كمية اللاكتوز في اللبن الرائب يسمح للأشخاص الذين يعانون من مشكلة الحساسية للاكتوز(مرض وراثي) نتيجة عدم وجود انزيم اللاكتاز في أمعائهم الدقيقة ، باستعمال هذا المنتج اللبني دون حدوث الاعراض المرضية المألوفة عند استهلاكهم للحليب (تقيؤ ، انتفاخ ، بطن اسهال.....).

أثبت (Varadara,2008) حقيقة أن سهولة الهضم المحسنة كانت جزئية نتيجة نشاط الأنزيمات البكتيرية (Bــ غلاكتوسيداز) المقدمة من بكتريا حمض اللبن المستخدمة لتخمير الحليب إلى لبن (*Lactobacillus delbrueckii subsp . Bulgaricus*) . ولقد أعتبرت الأنزيمات البكتيرية المركبة من هذه البكتريا مسؤولة عن هضم اللاكتوز المحسن . وقد إفترض باحثين أن أنواع بكتريا حمض اللبن سوف تهضم اللاكتوز أكثر أو أقل نتيجة النشاط الموسع لأنزيماتهم البكتيرية . وعندما قاموا بإختبار الألبان المختلفة على سبع مواد ناقصة اللاكتاز ، وجدوا أن كل الألبان تحسن هضم اللاكتوز .

إن كمية حمض اللبن المنتج بواسطة بكتريا بادئ اللبن هي نحو 1% وهو المركب الرئيسي لجميع أنواع الألبان معطياً إياها صفاتها الأساسية . من الناحية الغذائية يجب التمييز بين صورتي حمض اللبن L(+) وتصل نسبتة خلال فترة زمنية نحو 3 ساعات إلى 0.6 % وذلك بواسطة بكتريا *Str.thermophilus* بدرجة حرارة قدرها 43م° . أما إنتاج حمض اللبن D(-) فيحدث بصورة متأخرة حيث يبدأ بعد مرور 2 ساعة ويستمر في الزيادة بإستمرار عملية التخمر كما أن درجة حرارة التخمر المرتفعة والتخزين الطويل يعملان على زيادة تركيز هذه الصورة D(-) من حمض اللبن ولكن بحساب معدل L(+)/D(-) فيجب ألا ينخفض عن 3 إلى 4 . يمكن تفضيل إنتاج الصورة L(+) من حمض اللبن عن طريق استعمال سلالات بكتيرية معينة وشروط تصنيع وتخزين مناسبة ، حيث

أن هذا المماكب يمتص عند الإنسان بسرعة تزيد 4-10 أضعاف عن سرعة إمتصاص المماكب D(-) مما يؤدي إلى تراكم وقتي لهذا الأخير .

يعود لحمض اللبن الصفات المضادة للبكتريا التي يتصف بها اللبن الرائب ويساعد على هضم الكازئين وزيادة الاستفادة من الكالسيوم (Modler and Kalab,2009) .

هنالك أيضاً أحماض عضوية أخرى مبينة بالجدول (3): تنتج عن استقلاب الأحياء الدقيقة الموجودة في اللبن الرائب وهي مقارنة مع الحليب .

الجدول (3) : الأحماض العضوية في الحليب واللبن الرائب .

نوع الحمض	الحليب mg%	اللبن الرائب mg%
حمض الفيوماريك	0.1	0.8
حمض السكسنيك	0.0	0.19
حمض البنزوئيك	0.5	0.7

(Garver,2004)

يمكن تلخيص القيمة الغذائية للبن الرائب (حرفوش ومنصور،2001) بالتالي :

1ــ اللبن الرائب أسهل هضماً من الحليب الذي صنعت منه مما يزيد الاستفادة منها ويجعلها أعلى قيمة غذائية نتيجة تحلل المكونات المعقدة إلى مركبات أقل تعقيداً.

2ــ استهلاك اللبن الرائب أفضل وسيلة لتفادي الحساسية ضد سكر الحليب لدى الأشخاص الذين يعانون من انخفاض نشاط اللاكتاز.

3ــ تقوم بكتريا البادئات باصطناع بعض الفيتامينات التابعة لمجموعة فيتامين B ولهذا تعتبر الألبان أغنى في محتواها الفيتاميني من الحليب ، فعلى سبيل المثال يزداد حمض الفوليك في الكيفير بمعدل 116 % على الأقل مقارنة مع نسبته في الحليب الطازج المستخدم في تحضير الكيفير .

4ــ تعد مصادر استثنائية للبروتين عالي النوعية والكالسيوم والفوسفور والبوتاسيوم والريبوفلافين.

5ــ انخفاض رقم الحموضة في القناة الهضمية نتيجة استهلاك الألبان الحامضية يساعد في عملية امتصاص الكالسيوم والاستفادة منه.

6ــ تعتبر الألبان أكثر قبولاً من الحليب مما يزيد قابلية استهلاك الإنسان لها وتتميز بتأثيرها المرطب والمنعش وخاصة في فصل الصيف. ويبين الجدول (4): القيمة الغذائية للبن الرائب .

الجدول (4) : القيمة الغذائية للبن الرائب

العنصر الغذائي	الكمية	العنصر الغذائي	الكمية	العنصر الغذائي	الكمية
طاقة حرارية حريرة	40	فوسفور mg P	89	نياسين mg	0.058
بروتينات gr	3.31	بوتاسيوم mg K	151	بانتوثينيك أسيد mg	0.275
مواد دسمة gr	0.88	صوديوم mg Na	105	فيتامين mg B6	0.034
كربوهيدرات gr	4.79	توتياء mg Zn	0.42	حمض الفوليك ميكروغرام	11
كالسيوم mg Ca	116	فيتامين mg C	0.98	فيتامينB12 ميكروغرام	0.219
حديد mg Fe	0.05	ثيامين mg	0.034	فيتامين A وحدة دولية	33
معنيزيوم mg Mg	11	ريبوفلافين mg	0.154		

(Garver,2004)

2-6-2- القيمة العلاجية:

يعتمد حاليًا إلى استخدام بكتريا حمض اللبن كمادة مضافة لمنع نمو البكتريا غير المرغوبة والمسببة للأمراض و يوجد حاليًا 20 سلالة من هذه البكتريا مستخدمة في العالم (Gravesen *et al.*,2002) وفي عام 1998 ، تم استخدامها رسميًا في الولايات المتحدة الأمريكية كمواد حافظة ، من أجل الحصول على منتجات لبنية خالية من جراثيم *Listeria* (Mishra *et al.*,2004) ، وفي مطلع التسعينيات بدأت مجموعة الدول الأوروبية باستخدام بكتريا حمض اللبن المعزولة طبيعيًا من الحليب الخام البقري كمواد حافظة للمنتجات اللبنية (Martirani *et al.*,2002) ، لما لهذه االبكتريا من القدرة على منع نمو جراثيم *Listeria* وجعل المنتجات اللبنية سليمة وصحية للإنسان (Benech *et al.*,2002).

وفي عام 1988 حددت منظمة الصحة العالمية WHO الحليب ومنتجاته كأهم المواد التي تنتقل عبرها جراثيم *Listeria monocytogenes* إلى الإنسان (محسن وخليل،1998) . وأكد مركز التحكم بالأمراض وتجنب حدوثها في الولايات المتحدة الأمريكية ، أن الأمراض المتسببة عن *Listeria* تتعدى 1100 حالة مرضية سنوياً ، منها 20% مرتبط بشكل مؤكد بتناول الألبان المتخمرة في الولايات المتحدة (Arestrup and Jensen,2000);(CDC,2002) .

ومن ناحية أخرى تمنع بكتريا *L.bulgaricus* نمو البكتريا القولونية المسببة للإسهال مثل (*E.coli*). ويقال أيضا أن اللبن الرائب ولبن الأسيدوفيلس يمنعان نمو عصيات السل *Mycobacteriun tuberculosis* و *E.coli* (شحاته،1997) .

أثبتت الأبحاث (Anoymous,2002) الفائدة العلاجية للبن الرائب في معالجة مرض القلب الإكليلي حيث يعمل على خفض مستويات الكوليسترول في الدم (hypocholesterolemic) وذلك بوقف تحويل الخلات (acetate) إلى كوليسترول نظراً لغياب الـــ Hydroxymethylglutarate في اللبن الرائب .

ليست فقط الكالسيوم وفيتامينات (K,D) تجعل منتجات اللبن الرائب غذاءً مناسباً للعظام وإنما احتوائها على مركبات هامة أخرى مثل اللاكتوفيرين وهو بروتين رابط للحديد يلعب دوراً هاماً في رفع نمو ونشاط خلايا الأوسيتوبلاست (osteoblasts) المسؤولة عن بناء العظام ، كما أن اللاكتوفيرين يخفض من نسبة موت هذه الخلايا بمقدار 50-70% ، كما أنه يزيد من انتشار خلايا (Chrondocytes) التي تبني الغضاريف (Oram and Reiter,2008).

بسبب ارتباطه التقليدي مع الخصائص الصحية فإن اللبن الحي والنشط أي المحتفظ بقوته الحيوية لايزال يواصل اهتمام العلماء حول العالم ، يكتشف العلماء كيف أن اللبن والبادئات الحية التي تحويها لربما لهما تأثيراً مفيداً على نظام المناعة ، وكيف قد يساعد اللبن على لعب دور في تخفيض مستويات الكوليسترول ويمنع بعض الأمراض (Gilliland *et al.*,2005). حيث يشير تقرير من جامعة تافتس (Tufts) بأن الخواص الصحية المحتملة ارتبطت بأكل اللبن بشكل مستمر بعد البروتين والكالسيوم . وطبقاً لمقالة الباحثان (Bounous and Baruchel,2003) في المجلة الأمريكية للتغذية السريرية (AJCN) قد يساعد اللبن على جعل نظام المناعة أكثر مرونة ، وإن تناول اللبن الرائب قد يساعد على حماية المنطقة المعوية ، كنتيجة يمكن توضيح أن للبن إمكانية عظيمة كعامل وقائي ضد العدوى.

أظهرت الدراسات (Fuller and Gibson,2007) أن البكتريا المفيدة الموجودة في اللبن الرائب لها قدرة على تثبيط تكون الأورام وبعض الانزيمات الضارة التي تنتجها البكتريا المرضية والتي يمكن أن تزيد من تأثير المواد المسببة للسرطان ، وهكذا فإنها تقلل من مخاطر الاصابة بسرطان الأمعاء .

كما أثبتت البحوث العلمية (Fuller and Gibson,2007) أن بكتريا اللبن الرائب المفيدة يمكن أن تقلل من الأعراض الجانبية لتعاطي المضادات الحيوية مثل الاسهال والالتهابات الطفيلية نتيجة تدمير طبقة البكتريا المفيدة في الأمعاء . والبكتريا المفيدة في اللبن يمكنها تجديد طبقة البكتريا المفيدة في الأمعاء بسرعة .

تشير الدراسة التي نشرتها مجلة (New England) الطبية في شهر آذار عام 2004 بأن التناول المفرط للحوم والأسماك يزيد من احتمالية الإصابة بالنقرس ، إلا أن تناول منتجات الألبان ينقص

كثيراً من خطر النقرس . حيث أجريت الدراسة على 47000 رجل بالغ ، حيث تبين أن الذين تناولوا اللحوم الحمراء والمأكولات البحرية بمختلف أنواعها زاد لديهم خطر النقرس بنسبة 50% . على العكس من ذلك ، فقد تبين أن الرجال الذين تناولوا كمية زائدة من منتجات الألبان انخفض خطر النقرس لديهم بنسبة 50% تقريباً .

اكتشف الباحثان (Casas and Dobrogosz,2000) في جامعة توركو بفنلندا ، أن المواد الغذائية التي تحتوي على البكتريا المفيدة مثل العصيات اللبنية تساعد على الوقاية من حالات الحساسية .

كما أكد العلماء (Gilliland *et al.*,2005) أن البكتريا الطبيعية التي تعيش بصفة مستمرة في القولون السليم تتكون عادة من حوالي 85٪ من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* و15% من بكتريا القولون. وعند حصول أي خلل في القولون كما يحدث مع كثرة وتنوعات الأغذية وسوء الهضم وسوء الامتصاص التي تؤدي إلى تراكم الغازات والتسمم المعوي والجسماني بشكل عام والامساك فيحدث زيادة في نمو وتكاثر الخميرة Candida وتناول اللبن الحاوي على *L. acidophilus* يساعد على مكافحة جميع تلك المشكلات ، وذلك عن طريق إعادة الكائنات الطبيعية بالامعاء إلى توازنها السليم .

الفصل الثالث

المواد والطرائق البحثية

Materials and Methods

3- المواد والطرائق Materials and Methods:

3-1- البادئات المستعملة:

1ــ بادئ اللبن الرائب المجفد من شركة هانسن ــ الدانمارك:
Streptococcus thermophilus,Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus (Y-180)
والمعبئة فى أكياس محكمة الاغلاق بوزن 8 غ/كيس .

2ــ بادئ البروبيوتيك البكتيري المجفد من شركة هانسن ــ الدانمارك: استخدم في هذه الدراسة نوعان من بكتريا البروبيوتيك وهي : *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)*
Lactobacillus acidophilus LA -5
والمعبأة فى أكياس محكمة الاغلاق ، يحتوي كل كيس على نوع واحد فقط بوزن 25 غ/كيس .

3-2- الإضافات:

1ــ اللاكتولوز: أُحضر اللاكتولوز (الاسم التجاري له Lactulose 61360-25G) من شركة (Sigma Aldrich,Italy) حيث استخدم بتركيز تراوح بين (3-6% W/W) وفق المصرّح به من قبل التشريع البرازيلي للألبان (ANVISA,2002).

2ــ الثوم: أحضر من السوق المحلية ، ومن ثم أزيلت القشور الجافة من الفصوص قبل الاستخدام وقشرت وطحنت باستخدام مدقة يدوية معقمة.

3ــ عصير الجزر: أُحضر من السوق المحلية ، ومن ثم أزيلت القشور الجافة قبل الاستخدام ، وعُصر الجزر باستخدام عصاره كهربائية وحددت بعض الخواص الكيميائية لعصير الجزر .

4ــ إنزيم ترانس غلوتاميناز: أُحضر إنزيم Transglutaminase من شركة ACTIVA MP صنع France وهو عبارة عن كيس محكم الإغلاق بوزن 100غ .

3-3- تصنيع اللبن الرائب Yoghurt Making:

3-3-1- تصنيع اللبن الرائب (عينات الشاهد):

تم تصنيع جميع عينات اللبن الرائب في مخبر أبحاث الألبان ــ كلية الزراعة ــ جامعة دمشق وذلك باستخدام حليب خام جيد النوعية الكيميائية والميكروبية ، حيث بُستر الحليب عند الدرجة 90م° مدة 20 دقيقة وبرد إلى درجة 45±1م° ومن ثمّ لقح بمزرعة بادئ بنسبة 3% ، ووضع في عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg ، ثم حضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6ــ4.7 وبعد التحضين بُردت العينات جميعها إلى 4م° ، وخُزنت عينات اللبن عند درجة حرارة 4م° وعند درجة تخزين 10م° وأجريت التجارب بتكرار مضاعف .

3-3-2- تصنيع اللبن الرائب مع إضافة اللاكتولوز:

حضرت العينات وفق الجدول التالي :

الجدول (5): توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة اللاكتولوز

رقم العينة	التوصيف
1	صُنع اللبن بدون إضافه اللاكتولوز كشاهد عند درجة تخزين 4م°
2	صُنع اللبن بدون إضافه اللاكتولوز كشاهد عند درجة تخزين 10م°
3	صُنع اللبن مع إضافة اللاكتولوز بنسبة 3% عند درجة تخزين 4م°
4	صُنع اللبن مع إضافة اللاكتولوز بنسبة 3% عند درجة تخزين 10م°
5	صُنع اللبن مع إضافة اللاكتولوز بنسبة 4% عند درجة تخزين 4م°
6	صُنع اللبن مع إضافة اللاكتولوز بنسبة 4% عند درجة تخزين 10م°
7	صُنع اللبن مع إضافة اللاكتولوز بنسبة 5% عند درجة تخزين 4م°
8	صُنع اللبن مع إضافة اللاكتولوز بنسبة 5% عند درجة تخزين 10م°

في البداية حضرت عينه الشاهد بدون إضافة اللاكتولوز ، وبعد ذلك تم تحضير عينات اللاكتولوز باضافة اللاكتولوز إلى الحليب المبستر تلا ذلك إضافة البادئ بنسبة 3% وذلك ضمن عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg ، وحضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6ــ4.7 وبعد التحضين تم تبريد العينات جميعها إلى4م° وخزنت عينات اللبن (7,5,3,1) عند درجة حرارة 4م° والعينات (8,6,4,2) عند درجة تخزين 10م°، وأجريت التجارب بتكرار مضاعف ونفذت جميع التحاليل في اللبن خلال الأيام 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 يوم.

3-3-3- تصنيع اللبن الرائب مع إضافة الثوم:

حضرت العينات وفق الجدول التالي :

الجدول (6): توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة الثوم

رقم العينة	التوصيف
1	صُنع اللبن بدون إضافة الثوم كشاهد عند درجة تخزين 4م°
2	صُنع اللبن بدون إضافة الثوم كشاهد عند درجة تخزين 10م°
3	صُنع اللبن مع إضافة الثوم بنسبة 0.05% عند درجة تخزين 4م°
4	صُنع اللبن مع إضافة الثوم بنسبة 0.05% عند درجة تخزين 10م°
5	صُنع اللبن مع إضافة الثوم بنسبة 0.075% عند درجة تخزين 4م°
6	صُنع اللبن مع إضافة الثوم بنسبة 0.075% عند درجة تخزين 10م°
7	صُنع اللبن مع إضافة الثوم بنسبة 0.1% عند درجة تخزين 4م°
8	صُنع اللبن مع إضافة الثوم بنسبة 0.1% عند درجة تخزين 10م°

في البداية حضرت عينه الشاهد بدون إضافة الثوم ، وبعد ذلك تم تحضير عينات الثوم وذلك باضافة الثوم إلى الحليب المبستر تلا ذلك إضافة البادئ بنسبة 3% ضمن عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg ثم حضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6ــ4.7 وبعد التحضين بردت العينات جميعها إلى 4م° ، وخزنت عينات اللبن (7,5,3,1) عند درجة حرارة 4م° والعينات (8,6,4,2) عند درجة تخزين 10م°، وأجريت التجارب بتكرار مضاعف ونفذت جميع التحاليل في اللبن خلال الأيام 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 و49 يوم.

3-3-4- تصنيع اللبن الرائب مع إضافة عصير الجزر:

حضرت العينات وفق الجدول التالي :

الجدول (7): توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة عصير الجزر

رقم العينة	التوصيف
1	صُنع اللبن بدون إضافة عصير الجزر كشاهد عند درجة تخزين 4م°
2	صُنع اللبن بدون إضافة عصير الجزر كشاهد عند درجة تخزين 10م°
3	صُنع اللبن مع إضافة عصير جزر بنسبة 0.5% عند درجة تخزين 4م°
4	صُنع اللبن مع إضافة عصير جزر بنسبة 0.5% عند درجة تخزين 10م°
5	صُنع اللبن مع إضافة عصير جزر بنسبة 1% عند درجة تخزين 4م°
6	صُنع اللبن مع إضافة عصير جزر بنسبة 1% عند درجة تخزين 10م°
7	صُنع اللبن مع إضافة عصير جزر بنسبة 1.5% عند درجة تخزين 4م°
8	صُنع اللبن مع إضافة عصير جزر بنسبة 1.5% عند درجة تخزين 10م°

في البداية حضرت عينه الشاهد بدون إضافة عصير الجزر ، وبعد ذلك تم تحضير عينات عصير الجزر وذلك باضافة عصير الجزر إلى الحليب المبستر وبعدها تم إضافة البادئ بنسبة 3% ضمن عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg ، ثم حضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6ــ4.7، وبعد التحضين بردت العينات جميعها إلى 4م°، ثم تم تخزين عينات اللبن (7,5,3,1) عند درجة حرارة 4م° والعينات (8,6,4,2) عند درجة تخزين 10م° وأجريت التجارب بتكرار مضاعف ، ونفذت جميع التحاليل في اللبن خلال الأيام 1 و7 و14 و21 و28 و35 يوم.

3-3-5- تصنيع اللبن الرائب مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز:

حضرت العينات وفق الجدول التالي :

الجدول (8): توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز

رقم العينة	التوصيف
1	صُنع اللبن بدون إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز كشاهد عند درجة تخزين 4م°
2	صُنع اللبن بدون إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز كشاهد عند درجة تخزين 10م°
3	صُنع اللبن مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.01% عند درجة تخزين 4م°
4	صُنع اللبن مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.01% عند درجة تخزين 10م°
5	صُنع اللبن مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.03% عند درجة تخزين 4م°
6	صُنع اللبن مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.03% عند درجة تخزين 10م°
7	صُنع اللبن مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.05% عند درجة تخزين 4م°
8	صُنع اللبن مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.05% عند درجة تخزين 10م°

في البداية حضرت عينه الشاهد بدون إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز ، وبعد ذلك تم تحضير العينات المضاف لها الإنزيم مع البادئ . يتم تنفيذ هذه الطريقة من خلال تحضين الحليب مع إنزيم ترانس غلوتاميناز حسب النسب المدونة اعلاه على درجة 50م° مدة ساعة واحدة . ثم يتم تثبيط الأنزيم حرارياً وذلك بالتسخين إلى درجة 75م°. ثم يتم تصنيع اللبن من هذا الحليب بتلقيحه بمزارع البادئ بنسبة 3% وذلك في عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg . ثم حضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6ــ4.7 وبعد التحضين تم تبريد العينات جميعها إلى4م° ثم تم تخزين عينات اللبن (7,5,3,1) عند درجة حرارة 4م° و(8,6,4,2) عند درجة تخزين 10م° وأجريت التجارب بتكرار مضاعف ونفذت جميع التحاليل في اللبن خلال الأيام 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 و49 يوم.

3-3-6- تصنيع اللبن الرائب مع إضافة بكتريا البروبيوتيك:

حضرت العينات وفق الجدول التالي :

الجدول (9): توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل مع إضافة بكتريا البروبيوتيك

رقم العينة	التوصيف
1	صُنع اللبن بدون إضافة بكتريا البروبيوتيك كشاهد عند درجة تخزين 4م°
2	صُنع اللبن بدون إضافة بكتريا البروبيوتيك كشاهد عند درجة تخزين 10م°
3	صُنع اللبن مع إضافة *Lactobacillus acidophilus LA-5* عند درجة تخزين 4م°
4	صُنع اللبن مع إضافة *Lactobacillus acidophilus LA-5* عند درجة تخزين 10م°
5	صُنع اللبن مع إضافة *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* عند درجة تخزين 4م°
6	صُنع اللبن مع إضافة (*Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12*عند درجة تخزين 10م°
7	صُنع اللبن مع إضافة *B.animalis subsp lactis (Bb12*) + *L.acidophilus LA-5* عند درجة تخزين 4م°
8	صُنع اللبن مع إضافة *B.animalis subsp lactis (Bb12*) + *L.acidophilus LA-5* عند درجة تخزين 10م°

في البداية حضرت عينه الشاهد بدون إضافة البروبيوتيك ، وبعد ذلك تم تحضير عينات اللبن المضاف لها البروبيوتيك بنسبة 1% مع البادئ بنسبة 3% وذلك في عبوات معقمة مع غطاء محكم ذات سعة 1kg ، ثم حضنت العينات جميعها عند الدرجة 45±1 درجة مئوية مدة 4 ساعات للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6ــ4.7 وبعد التحضين تم تبريد العينات جميعها إلى 4م° ، وخزنت عينات اللبن (7,5,3,1) عند درجة حرارة 4م° و(8,6,4,2) عند درجة تخزين 10م° وأجريت التجارب بتكرار مضاعف ، ونفذت جميع التحاليل في اللبن خلال الأيام 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 يوم.

3-3-7- تصنيع اللبن الرائب بطريقة التصنيع المعدلة:

نفذت هذه الطريقة من خلال بسترة الحليب على درجة حرارة 90 م° لمدة 20 دقيقة وتبريده إلى درجة حرارة 60 م° ، بعد ذلك نُقل الحليب المبستر إلى عبوات بلاستيكية ملقحة مسبقاً بالبادئ بنسبة 3%، حيث أغلقت العبوات جيداً وأبقيت على درجة الحرارة نفسها 60 م° لمدة خمس دقائق وبعد ذلك بُرد الحليب إلى درجة حرارة 45 م° وحضن على هذه الدرجة للحصول على خثرة متماسكة بدرجات pH 4.6-4.7 ، وبعد التحضين بردت العينات جميعها إلى 4م° ، وخزنت عينات اللبن (3,1) عند درجة حرارة 4 م° والعينات (4,2) عند درجة تخزين 10م° ، وأجريت التجارب بتكرار مضاعف ونفذت جميع التحاليل في اللبن خلال الأيام 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 يوم.

الجدول (10): توصيف عينات اللبن المستخدمة في التحليل بطريقة التصنيع المعدلة

رقم العينة	التوصيف
1	صُنع اللبن بالطريقة العادية كشاهد عند درجة تخزين 4م°
2	صُنع اللبن بالطريقة العادية كشاهد عند درجة تخزين 10م°
3	صُنع اللبن بطريقة التصنيع المعدلة عند درجة تخزين 4م°
4	صُنع اللبن بطريقة التصنيع المعدلة عند درجة تخزين 10م°

3-4- تحضير مزرعة البادئ التجارية والبروبيوتيك وتضاعف عددها:

حضرت مزرعة البادئ التجارية باستخدام حليب ذو نوعية جيدة لإنتاج اللبن ، وبالاستعانة ببادئ خاص بتصنيع اللبن والمؤلف من (*Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* و*Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*) من شركة هانسن (الدانمارك) ، حيث تم تحضير المزرعة الأم من البادئ التجاري باستخدام حليب خالي الدسم ذو نوعية جيدة وبمواصفات عالية ، وذلك بوضع حوالي 100 مل حليب خالي الدسم في زجاجة وإغلاقها جيداً ، وتسخن زجاجة الحليب بمحتوياتها على الدرجة 90م° مدة 30 دقيقة بعدها تبرد لدرجة حرارة التحضين وهي 42-45م°.

أُضيف بعد ذلك إلى الحليب المعقم الموجود في الزجاجة السابقة كمية من البادئ التجاري بالنسبة الموصى بها من الشركة الصانعة وحضنت زجاجة الحليب الملقحة على الدرجة 42-45 م° لمدة 4 ساعات حتى تخثر الحليب ، بعد ذلك بردت إلى درجة حرارة الغرفة العادية لمدة 30 دقيقة ، ومن ثم نقلت الزجاجة إلى البراد بدرجة 4م° حتى اليوم التالي (يسمى الناتج بالمزرعة الأم) .

في اليوم التالي نُقل جزء من المزرعة الأم بنسبة 3% إلى زجاجة حليب سعتها 100 مل حاوية على حليب خال الدسم ، معقمة ومبردة كالسابقة إلى درجة حرارة التحضين (يسمى هذا الناتج بالمزرعة الوسيط) (سليق وزملائه،2009)، استخدمت هذه المزرعة في تلقيح الحليب المعد للإنتاج بنسبة 3% .

تم تنشيط بكتريا البروبيوتيك من شركة هانسن (الدانمارك) *Lactobacillus acidophilus LA-5* و*Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* من خلال مرحلتين اثنتين استخدم في الاولى حليب مجفف خالي الدسم المعاد تشكيله بنسبة 12% اضيف له 0.05% من L-cysteine – HCL (من شركة Sigma أمريكا) كملتقط للأكسجين ومصدر للنيتروجين و1.2% (وزن/حجم) من مستخلص الخميرة و2% (وزن /حجم) من سكر الغلوكوز ، وسخن بحرارة 90 م° لمدة نصف ساعة ثم برد الى الدرجة 37 م° ، تلا ذلك اضافة 1غ من بكتريا البروبيوتيك إلى 100 مل للحليب المعاد تشكيله وحضن الحليب فى حاضنة لاهوائيه عند الدرجة 37 م° مدة 4 ساعات . (Dave and Shah,1997);(Ong *et al.*,2006);(Ong *et al.*,2007) .

أما المرحلة الثانية فتُنقل كمية 1ml من الحليب الملقح السابق إلى حليب مجفف خالي الدسم المعاد تشكيله بنسبة 12% اضيف له 0.05% من L-cysteine – HCL و1.2% (وزن/حجم) من مستخلص الخميرة و2% (وزن/حجم) من سكر الغلوكوز ومعامل حرارياً ويحضن الحليب مرةً اخرى فى ظروف لاهوائيه بدرجة حرارة 37م° مدة 4 ساعات وبعد ذلك يحفظ مبرداً لحين الاستعمال .

3-5 - التحليل الميكروبيولوجي Microbiological analysis:

3-5-1- تحضير التخفيفات العشرية:

تم تحضير التخفيفات العشرية عن طريق مجانسة وبشكل هادئ للعينة المراد دراستها ومن ثم وبواسطة ماصة معقمة تم أخذ 10 غ من العينة ووضعت في دورق معقم يحوي 90 مل محلول التخفيف المعقم تريبتون مع الماء (الذي يتألف من تريبتون كازئين Tryptic casein 0.5 غ ، ببتون لحم Peptone meat 0.5 غ ، ماء مقطر Distilled water 1000 مل) . حضر بإذابة التريبتون والببتون في الماء ووزع في دوارق بمعدل 90 مل وأنابيب اختبار بمعدل 9 مل وعقم على الدرجة 121م° مدة 20 دقيقة .

يتم مجانسة الدورق السابق لمدة 1 دقيقة ومن ثم يكمل الحجم أو الوزن حتى 100 من محلول التخفيف نفسه حيث نحصل على تخفيف قدره 10^{-1} وهو مايسمى بالمعلق الأم . ثم يتم إضافة 1 مل من المعلق الأم وبواسطة ماصة معقمة إلى أنبوب يحوي 9 مل من محلول التخفيف السابق المعقم ومزج مدة 10 دقائق في محرك اهتزازي فنحصل على تخفيف قدره 10^{-2} ينقل من جديد 1 مل من الأنبوب السابق إلى أنبوب جديد حاوٍ على 9 مل محلول مخفف معقم ويتابع بالخطوات السابقة نفسها لنحصل على التخفيفات العشرية المطلوبة .

3-5-2- عد بكتريا حمض اللبن وبكتريا البروبيوتيك:

1ــ تعداد بكتريا *Streptococcus thermophilus*:

تم احصاء تعداد بكتريا *Streptococcus thermophilus* بإستخدام بيئة M17 من شركة Sigma أمريكا . حيث أذيبت البيئة في الماء المقطر بواسطة التسخين والتحريك ثم تركت لتبرد قليلاً وتم ضبط الــ pH حتى ليكون حوالي 7.1 وعقمت على درجة 121م° مدة 20 دقيقة .

بعد أن أصبحت البيئة جاهزة ومعقمة ، يوضع في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً والملقحة بالبكتريا المطلوبة ويسكب فوقها حوالي 15 مل من البيئة المسالة والمحافظ على حرارتها حوالي 45ــ46م° ، تمزج ثم تترك لتتجمد وتحضن الأطباق بدرجة حرارة 45م° مدة 48 ساعة ويتم ملاحظة المستعمرات المتشكلة وإجراء عملية العدَ لها .

2ــ تعداد بكتريا *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* :

تم احصاء تعداد بكتريا *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* بإستخدام بيئة MRS (Man,Rogosa,Sharpe) أغار من شركة Sigma أمريكا . حيث أذيبت البيئة في الماء بالتسخين والتحريك حتى الغليان وضبطت pH البيئة بوساطة حمض الخل (الاسيتيك) Acetic acid حتى أصبح الــpH حوالي 5.4±0.1 وعقمت بدرجة حرارة 121م° لمدة 20 دقيقة . بعد ذلك وضع في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً والملقحة بالبكتريا المطلوبة

وسكب فوقها حوالي 15 مل من البيئة المسالة والمحافظ على حرارتها حوالي 45ــ46م° ، وبعد المزج تركت لتتجمد البيئة وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م° مدة 72 ساعة وذلك بوضع الأطباق في جرة الظروف اللاهوائية أي أن التحضين تم في ظروف لاهوائية وبعد انقضاء فترة التحضين اللازمة 3 أيام عدت المستعمرات المتشكلة .

3ــ تعداد بكتريا *Lactobacillus acidophilus LA-5*:

تم احصاء تعداد بكتريا *Lactobacillus acidophilus LA-5* بإستخدام بيئة MRS (Man,Rogosa,Sharpe) أغار من شركة Sigma أمريكا . حيث أذيبت البيئة في الماء بالتسخين والتحريك حتى الغليان مع إضافة 0.05% من L-cysteine – HCL وضبطت pH البيئة بوساطة حمض الخل (الاسيتيك) Acetic acid حتى أصبح حوالي 5.4±0.1 وعقمت بدرجة حرارة 121م° مدة 20 دقيقة . بعد ذلك تم وضع في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً والملقحة بالبكتريا المطلوبة وسكب فوقها حوالي 15 مل من البيئة المسالة والمحافظ على حرارتها حوالي 45-46م°، وبعد المزج تركت لتتجمد وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م° مدة 72 ساعة وذلك بوضع الأطباق في جرة الظروف اللاهوائية أي أن التحضين تم في ظروف لاهوائية وبعد انقضاء فترة التحضين اللازمة 3 أيام تم عد المستعمرات المتشكلة .

4ــ تعداد بكتريا (*Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12*):

تم احصاء تعداد بكتريا (*Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12* بإستخدام البيئة المتصلبة Bifidus Selective Medium Agar (pH 6.8)(Hartemink *et al.*,1996) (Aguilar *et al.*,2008). والمضاف لها 116 ملغرام/لتر من BSM supplement من شركة Sigma أمريكا ، وهو عبارة عن خليط من المضادات الحيوية يمنع نمو الميكروبات الاخرى ويكون لون المستعمرة على هذه البيئة بنفسجي ولكن عندما تقل مركبات النيتروجين في الوسط يكون لون المستعمرة وردي (حسب تعليمات الشركة الصانعة Sigma) وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37م° بظروف لاهوائية لمدة 3 ايام. وذلك بإستخدام الحاضنة اللاهوائية المزودة بمضخة لسحب الأوكسجين وضخ غاز CO_2 وN_2 من إسطوانات خاصة بكل غاز .

3-5-3- الفحوصات الميكروبية العامة:

أجريت الفحوصات الميكروبية التالية (Yousef and Carlstom,2003):

1ــ تعداد الخمائر والفطور:

تم احصاء تعداد الخمائر والفطور باستخدام بيئة Potato Dextrose Agar من شركة Biolife إيطاليا . حيث اذيبت البيئة في الماء بالتسخين والتحريك حتى الغليان وتم ضبط pH البيئة حتى أصبح حوالي 5.5-6.0 ثم عقمت بدرجة حرارة 121 م° مدة 15 دقيقة ، بعد ذلك وضعت في أطباق

بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً والملقحة بالبكتريا المطلوبة وسكب فوقها حوالي 15 مل من البيئة المسالة والمحافظ على حرارتها حوالي 45-46م° ، وبعد المزج تترك لتتجمد وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25م° لمدة 4 أيام وبعد انقضاء فترة التحضين تم عد المستعمرات المتشكلة مع الأخذ بعين الأعتبار الأطباق الحاوية بين 30-300 مستعمرة .

2ــ العد الكلي للأحياء الدقيقة:

تم إجراء العد الكلي للأحياء الدقيقة باستخدام بيئة الأغار المغذي Nuterient Agar من شركة Scharlau Chemie – اسبانيا. وحضنت بدرجة 31±1م° لمدة 72 ساعة .

3ــ الكشف والعد لبكتريا الكوليفورم الكلية:

تم الكشف والعد لبكتريا الكوليفورم الكلية باستخدام بيئة الأغار البنفسجي الأحمر والأصفر (Violet Red Bile Agar V.R.B.A) من شركة Scharlau Chemie – اسبانيا. حيث حضرت البيئة وفق تعليمات الشركة الصانعة مع ملاحظة أن هذه البيئة لاتتحمل التعقيم الشديد لذا وجب استخدام أنابيب ودوارق معقمة بشكل مسبق . بعد ذلك تم وضع في أطباق بتري 1 مل من كل من التخفيفات العشرية المحضرة سابقاً والملقحة بالبكتريا المطلوبة وسكب فوقها حوالي 15 مل من البيئة المسالة والمحافظ على حرارتها حوالي 45-46 م° ، ومزجت جيداً وتركت لتتجمد وبعد تجمد البيئة تسكب مرة ثانية 4-5 مل من البيئة المعقمة نفسها فوق كل طبق حتى تتشكل طبقة جديدة من البيئة وتترك الأطباق مرة أخرى لتجمد وبعد تجمد الأطباق قلبت وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م° مدة 24 ساعة وبعد انقضاء فترة التحضين تم عد المستعمرات المتشكلة ذات اللون الأحمر الأرجواني والمحاطة بهالة بنفسجية ناتجة عن ترسيب أملاح الصفراء .

4ــ عد بكتريا الــ E.coli أو الكوليفورم البرازية:

تم عد بكتريا الــ E.coli أو الكوليفورم البرازية باستخدام البيئة السابقة نفسها (Violet Red Bile Agar V.R.B.A) من شركة Scharlau Chemie – اسبانيا، ولكن باستخدام درجة تحضين قدرها 44.5م° لمدة 24 ساعة ، فالمستعمرات النامية والتي قطرها 0.5 ملم أو أقل وذات لون أحمر أرجواني عدت الــ E.coli.

3-5-4- الفحوصات الميكروبية التأكيدية:

أجريت الفحوصات التأكيدية التالية (Yousef and Carlstom,2003):

1ــ فحص الصباغة بصبغة غرام لمعرفة شكل البكتريا (عصوية أو كروية) وهل موجبة الصباغة أو سالبة.

2ــ فحص الكتاليز للتأكد من هوية بكتريا البادئ وبكتريا البروبيوتيك باستخدام 3% من H_2O_2 من شركة (Scharlau Chemie - اسبانيا).

3ــ فحص الحركة للتأكد من هوية بكتريا البادئ **و**بكتريا البروبيوتيك باستخدام بيئة MIO agar من شركة (Scharlau Chemie - اسبانيا).

3-6- التحليل الكيميائي Chemical analysis:

3-6-1- الإختبارات الكيميائية للبادئات:

1ــ تقدير الحموضة للبادئ:

تم تقدير الحموضة للبادئ مقدره كحمض اللبن (lactic acid) وذلك بالمعايره باستخدام ماءآت الصوديوم ذي عيارية (0.1 N) (من شركة Gainland chemical ــ بريطانيا) حتى يتغير لون المشعر(الفينول فتالئين) من عديم اللون الى اللون الوردي ويستمر بقاء اللون اكثر من 30 ثانية (AOAC,2002).

2ــ اختبار درجة نشاط البادئ:

تم تقديرها وذلك بوضع 10 مل من حليب فرز معاد تشكيله بنسبة 10-12% في دورق مخروطي مغطى بسدادة من القطن وعومل حرارياً بدرجة حرارة 90 م° لمدة 30 دقيقة ، ثم بُرد إلى الدرجة 37 م° ولُقح بحوالي 3% من البادئ المستخدم في تصنيع اللبن الرائب ، تلا ذلك تحضين الاطباق على الدرجة 37م° مدة 2.5 ساعة . وبعد انتهاء فترة التحضين قدرت الحموضة المتشكلة كنسبة مئوية لحمض اللبن ، وكانت درجة نشاط البادئ جيدة لان درجة الحموضة كانت أعلى من 0.4% (سليق وزملائه،2009).

3ــ اختبار إنتاج البادئ لمواد النكهة المختلفة:

أهم مواد النكهة التي يتم إنتاجها من قبل بكتريا البادئ هي الدي اسيتيل Diacetyl والاسيتيل ميثيل كاربينول acetyl methyl carbinol وجرى الاختبار كمايلي:

أُخذ 2.5 مل من البادئ ووُضع في دورق مخروطي ، أضيف إليه كمية قليلة من الكرياتين Creatine و2.5 مل من محلول ماءات الصوديوم تركيزه 4% ورج جيداً ، وبعد ذلك ترك الدورق فترة من الزمن لحين ملاحظة ظهور لون وردي على سطح الدورق الذي يدل على وجود مواد مُكسبة للطعم والنكهة (AOAC,2002).

3-6-2- التحليل الكيميائي للحليب:

حددت خواصه الكيميائية وفق جهاز MILK SKAN ــ ألمانيا . كما تم إجراء الفحوصات الكيميائية التالية للتأكد من دقة النتائج:

1ــ تقدير نسبة المادة الجافة الكلية: حيث قدرت بتجفيف العينة بالفرن العادي عند 130م° لحين ثبات الوزن (مدة ثلاث ساعات) (AOAC,2002) .

2ــ تقدير نسبة الحموضة الكلية: تم تقدير الحموضة الكلية مقدره كحمض اللبن (lactic acid) وذلك بالمعايره باستخدام ماءآت الصوديوم ذي عيارية (0.1 N) (من شركة Gainland chemical

بريطانيا) حتى يتغير لون المشعر(الفينول فتالئين) من عديم اللون الى اللون الوردي ويستمر بقاء اللون اكثر من 30 ثانية (AOAC,2002).

3ــ تقدير نسبة البروتين الكلي: قدر بطريقة كلداهل والتى تتلخص بتحويل النيتروجين البروتيني إلى كبريتات الامونيا وذلك بهضم العينة بحمض الكبريتيك المركز والعوامل المساعدة ومن ثم تحرير الامونيا بواسطة ماءآت الصوديوم المركزة حيث قطرت بواسطة البخار الى دورق يحتوي حمض البوريك مكونة معه بورات الامونيوم ثم تجرى عملية المعايرة مع حمض الهيدروكلوريك (AOAC,2002) .

4ــ تقدير نسبة الدهن في الحليب: باستخدام أنبوبة جربر مدرج من الصفر وحتى 10 . (kindstedt and Fox,1991).

5ــ تم قياس قيم pH الحليب: باستخدام مقياس pH الرقمي (WTW pH-3510,UK) . حسب (AOAC,2002) .

3-6-3- التحليل الكيميائي لعصير الجزر المستخدم:

قدرت المادة الصلبة الكلية والرطوبة والــpH والحموضة القابلة للمعايرة بنفس الطرق المستخدمة لقياس الحليب وذلك وفق (AOAC,2002) ، أما بالنسبة للسكريات فقد قيست وفق (الوزير،2011).

3-6-4- التحليل الكيميائي لعينات اللبن الرائب المصنع:

تم قياس قيم pH اللبن باستخدام مقياس pH الرقمي (WTW pH-3510,UK) . حسب (AOAC,2002) ، وذلك خلال فترات التخزين .

3-7- تقييم الخصائص الحسية Sensory analysis:

قيمت العينات حسياً عن طريق لجنة مؤلفة من 20 عضو باستخدام مقياس التقييم الحسي من Hedonic Scale حيث أعطيت كل صفة من الصفات الحسية درجة من 1 إلى 9 (Lawless and Heymann,1999). لجميع الخصائص (القوام،الرائحة، الطعم،اللون،القبول كمنتج). ويبين الشكل (2): استمارة اختبار العينات حسياً من قبل اللجنة .

جامعة دمشق

كلية الزراعة ــ علوم الأغذية

إختبار تذوق للعينات اللبن الرائب من قبل اشخاص متذوقين

عزيزي المتذوق أمامك عينات من اللبن الرائب يرجى تقييمها حسياً من حيث القوام (1ــ9)، الرائحة (1ــ9) ، الطعم (1ــ9) ، اللون (1ــ9) ، القبول كمنتج (1ــ9) وفقاً لــ**Hedonic Scale** .

رقم العينة	القوام	الرائحة	الطعم	اللون	القبول كمنتج
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

ملاحظات : .....

.....

شكراً لحضوركم

الشكل (2): استمارة التقييم الحسي من قبل مختصين .

3-8- التحليل الإحصائي Statistical analysis:

أجري التحليل الإحصائي للبيانات باستخدام تحليل التباين (ANOVA) وحسبت قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى ثقة (P<5%) ، بواقع ثلاثة مكررات لكل تجربة ، وأجريت جميع التجارب باستخدام برنامج SPSS 16.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4- النتائج والمناقشة Results and Discussion:

4-1- نتائج تحليل الحليب الخام المستخدم:

يبين الجدول (11): التركيب الكيميائي للحليب الخام المستخدم في تحضير عينات اللبن الرائب . كما يبين الجدول (12): نتائج التحليل الميكروبيولوجي .

الجدول (11): 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

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

الجدول (12): نتائج التحليل الميكروبيولوجي للحليب الخام المستخدم في تحضير عينات اللبن

درجة حرارة الحليب/ م	التعداد العام خلية/مل	الكوليفورم خلية/مل	E.coli خلية/مل
12	10×6.7^{5}	10×2.6^{4}	10×3.2^{3}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدولين (11) و(12): ان التركيب الكيميائي للحليب المستخدم كانت جيدة ، بينما في مايتعلق بالتحليل الميكروبيولوجي نلاحظ وجود اعداد من الأحياء الدقيقة وبكتريا الكوليفورم والـــE.coli وهذا عائد إلى ضعف شروط النظافة أثناء الحلابة وعدم تبريد الحليب إلى درجة حرارة منخفضة 4م° مباشرة بعد الحلابة ، وكذلك في أدوات الحلابة نفسها وأوعية نقل الحليب فضلاً عن عدم الإهتمام بنظافة القائمين على عملية الحلابة وتأكد خلوهم من الأمراض يسهم في رفع الحمولة الجرثومية للحليب الخام (OIE,2002). ويمكن تخفيض الحمولة الجرثومية من خلال عملية البسترة للحليب.

4-2- نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة اللاكتولوز:

4-2-1- نتائج التحليل الميكروبيولوجي:

الجدول (13): نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*Streptococcus thermophilus* +*Lactobacillus bulgaricus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة اللاكتولوز خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

القوة الحيوية للبادئ (خلية /غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)						
	1	7	14	21	28	35	42
شاهد/ 4م°	10×1.3^{8}	10×2.7^{7}	10×5.5^{5}	-	-	-	-
3% لاكتولوز/ 4م°	10×1.4^{8}	10×4.7^{7}	10×1.9^{7}	10×1.8^{7}	10×5.4^{6}	-	-
4% لاكتولوز/4م°	10×1.4^{8}	10×6.9^{7}	10×5.0^{7}	10×4.3^{7}	10×9.7^{6}	10×4.2^{6}	-
5% لاكتولوز/ 4م°	10×1.4^{8}	10×8.8^{7}	10×6.7^{7}	10×5.4^{7}	10×9.8^{6}	10×8.7^{6}	10×5.9^{6}
شاهد /10م°	10×1.3^{8}	10×2.5^{7}	10×4.6^{5}	-	-	-	-
3% لاكتولوز/10م°	10×1.2^{8}	10×2.5^{7}	10×1.8^{7}	10×1.7^{7}	10×4.5^{6}	-	-
4% لاكتولوز/10م°	10×1.3^{8}	10×6.3^{7}	10×4.8^{7}	10×3.7^{7}	10×7.9^{6}	10×3.1^{6}	-
5% لاكتولوز/10م°	10×1.4^{8}	10×8.0^{7}	10×6.0^{7}	10×4.6^{7}	10×8.8^{6}	10×7.6^{6}	10×3.2^{6}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (13): أن كل العينات في اليوم الاول كانت لها قوه حيوية بحدود $10\times1.3^{8}\pm0.1$ خلية/غرام نظراً لتماثل ظروف تحضير العينات . بالنسبة لعينات الشاهد عند الدرجة 4م° و10م° انخفضت القوة الحيوية بعد 14 يوم من التخزين حيث وصلت إلى 10×5.5^{5} و10×4.6^{5} (عينات الشاهد على التوالي) . بينما في العينات التي كانت نسبة إضافة اللاكتولوز 3% عند درجة تخزين 4م°و10م° انخفضت القوة الحيوية للبادئ بدرجة اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مده 28 يوم حيث وصلت إلى (10×5.4^{6} و10×4.5^{6}) خلية/غرام على التوالي. أما العينات التي كانت نسبة إضافة اللاكتولوز 4% فقد كان نسبة انخفاض القوة الحيوية بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا عن طريق إضافة 4% الوصول إلى (10×4.2^{6} و10×3.1^{6}) خلية/غرام على التوالي بعد 35 يوم من التخزين وكانت النتائج أفضل من إضافة اللاكتولوز بنسبة 3% . أما العينات التي كانت نسبة إضافة اللاكتولوز 5% فقد كان الانخفاض في القوة الحيوية اقل بكثير من عينات الشاهد واستطاع اللاكتولوز بنسبة 5% المحافظة على قوة حيوية للبن مدة 42 يوم حيث

وصلت إلى (10×5.9^{6} و10×3.2^{6}) خلية/غرام على التوالي . وبالتالي كانت النتائج أفضل من اضافة اللاكتولوز بنسبة 3% و4% .

يمكن تفسير ذلك إلى أن نسبة اللاكتولوز المضافة في العينات كانت كافية لتحسين جودة تخمر الحليب مما سمح باستمرار بكتريا البادئ لفترات أطول ، وهذا يتوافق مع الدراسات (Ricardo,2010); (Mattila – Sandholm *et al.*,2002);(Ouwehand *et al.*,1999) .

ويبين الجدول (14): نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن الشاهد ومع إضافة اللاكتولوز ، وعند إجراء تحليل ميكروبيولوجي لبكتريا الكوليفورم والـــE.coli لوحظ خلو جميع العينات من بكتريا الكوليفورم والـــ E.coli .

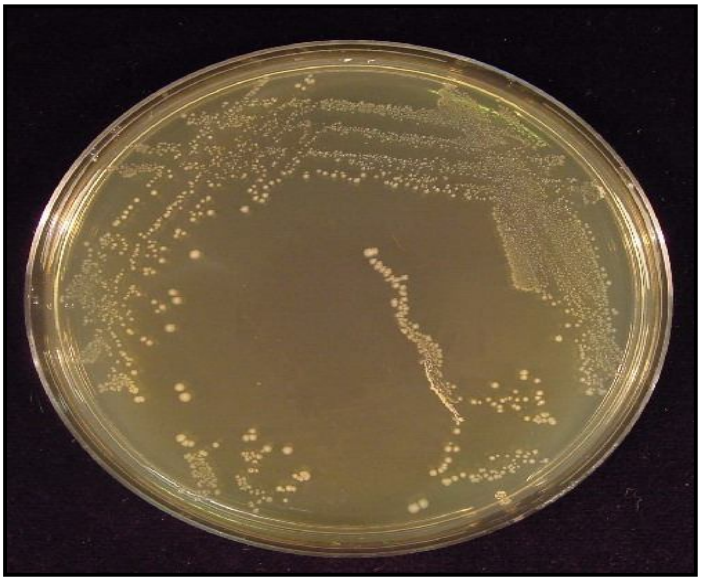
الجدول (14): نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة اللاكتولوز خلال فترات التخزين (خلية/غرام)

عدد الخمائر والفطور (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)						
	1	7	14	21	28	35	42
شاهد/4م°	10×3.8^{4}	10×4.5^{4}	10×6.8^{4}	–	–	–	–
3% لاكتولوز/4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–	–
4% لاكتولوز/4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–
5% لاكتولوز/4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
شاهد /10م°	10×4.3^{4}	10×6.2^{4}	10×7.6^{4}	–	–	–	–
3% لاكتولوز/10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–	–
4% لاكتولوز/10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–
5% لاكتولوز/10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL

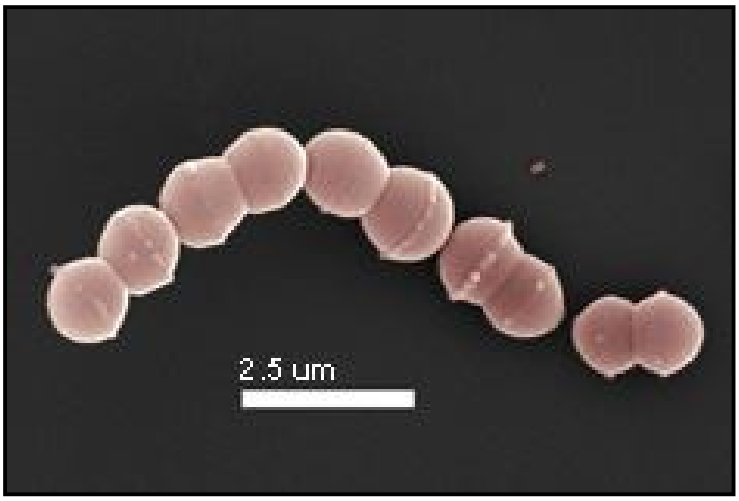
- **NIL** : تشير إلى عدم وجود أي خمائر أو فطور .
- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (14) : وجود الخمائر والفطور فقط في تجربة الشاهد عند الدرجة 4م° و10م° وخلو جميع العينات الحاوية على اللاكتولوز منها . حيث ان اللاكتولوز تقتل الخمائر والفطور الموجوده دون أن تأثر في بكتريا البادىء .

كما وبينت نتائج الفحوصات التأكيدية لبكتريا *Streptococcus thermophilus* أنها إيجابية الغرام وغير متحركة وسلبية الكاتلاز والصوره (1): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Streptococcus thermophilus* فى بيئة M17 والصوره (2): تبين شكل بكتريا *Streptococcus thermophilus* تحت المجهر.



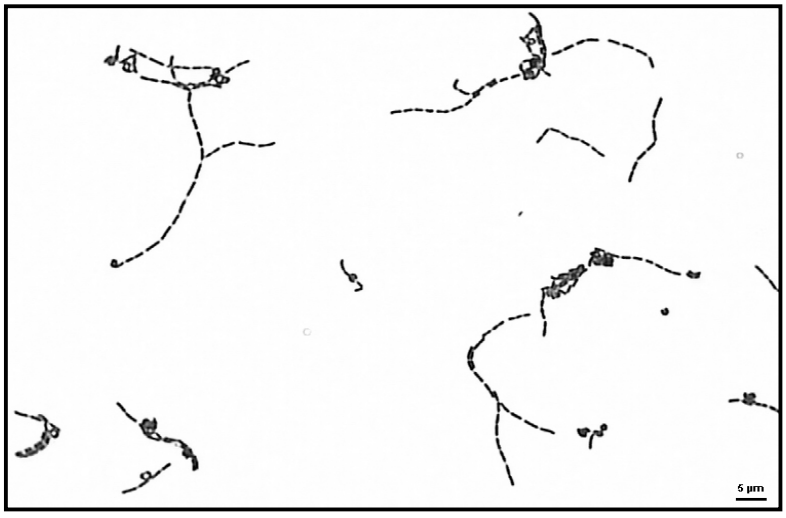
الصوره (1): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Streptococcus thermophilus*.



الصوره (2): تبين شكل بكتريا *Streptococcus thermophilus* تحت المجهر.

كما وبينت نتائج الفحوصات التأكيدية لبكتريا *Lactobacillus bulgaricus* أنها إيجابية الغرام وغير متحركة وسلبية الكاتلاز والصوره (3): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* فى بيئة MRS (Man,Rogosa,Sharpe) والصوره (4): تبين شكل بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* تحت المجهر.

الصوره (3): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* .



الصوره (4): تبين شكل بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* تحت المجهر

4-2-2- نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة اللاكتولوز أثناء فترات التخزين:

الجدول (15): تغير الـــpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة اللاكتولوز

نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم) / pH						
	1	7	14	21	28	35	42
شاهد/4م°	4.60 ± 0.03^{a}	4.57 ± 0.02^{b}	4.41 ± 0.01^{c}	-	-	-	-
3%لاكتولوز/4م°	4.61 ± 0.01^{ab}	4.59 ± 0.01^{ab}	4.57 ± 0.01^{a}	4.51 ± 0.02^{c}	4.44 ± 0.03^{c}	-	-
4%لاكتولوز/4م°	4.61 ± 0.02^{ab}	4.60 ± 0.01^{a}	4.58 ± 0.02^{a}	4.55 ± 0.01^{ab}	4.51 ± 0.01^{a}	4.45 ± 0.02^{a}	-
5%لاكتولوز/4م°	4.62 ± 0.01^{b}	4.60 ± 0.03^{a}	4.58 ± 0.04^{a}	4.56 ± 0.01^{a}	4.53 ± 0.02^{a}	4.51 ± 0.01^{a}	4.44 ± 0.02^{a}
شاهد/10م°	4.60 ± 0.02^{ab}	4.54 ± 0.01^{c}	4.40 ± 0.01^{c}	-	-	-	-
3%لاكتولوز/10م°	4.60 ± 0.03^{ab}	4.56 ± 0.01^{bc}	4.54 ± 0.02^{b}	4.52 ± 0.02^{c}	4.41 ± 0.01^{d}	-	-
4%لاكتولوز/10م°	4.60 ± 0.01^{ab}	4.58 ± 0.02^{ab}	4.55 ± 0.01^{ab}	4.53 ± 0.01^{bc}	4.52 ± 0.02^{a}	4.44 ± 0.02^{a}	-
5%لاكتولوز/10م°	4.60 ± 0.01^{ab}	4.58 ± 0.01^{ab}	4.55 ± 0.02^{ab}	4.54 ± 0.03^{ab}	4.52 ± 0.01^{a}	4.49 ± 0.01^{ab}	4.42 ± 0.03^{a}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، وتشير الاختلافات بين الاحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين العينات عند مستوى ثقة 5%.

يلاحظ من الجدول (15): أن كل العينات تم ايقاف التحضين لها عند قيمة pH قريبه من 0.01±4.61 أي أن جميع العينات تخثرت وتحولت إلى لبن رائب . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م° و10م° لم تعد صالحة للإستهلاك بعد 14 يوم من التخزين مع ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . بينما في العينات التي كانت نسبة إضافة اللاكتولوز 3% لوحظ انخفاض قيمة الـــpH بشكل اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على مواصفاتها مده 28 يوم حيث لم تعد العينات صالحة للإستهلاك بالإضافة إلى ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . أما العينات التي تم إضافة اللاكتولوز بنسبة 4% فقد كان نسبة انخفاض الـــpH بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنْا عن طريق إضافة اللاكتولوز بنسبة 4% عند درجة تخزين 4م°و10م° الوصول إلى قيمة الـــpH 0.02±4.45 و0.02±4.44 على التوالي ولم تعد العينات صالحة للإستهلاك بعد 35 يوم من التخزين . أما العينات التي كانت نسبة إضافة اللاكتولوز 5% فقد كان الانخفاض في قيمة الـــpH اقل بكثير من عينات الشاهد ، واستطاع اللاكتولوز بنسبة 5% المحافظة على اللبن الرائب مدة 42 حيث وصلت قيمة الـــpH إلى 0.02±4.44 و0.03±4.42 على التوالي . حيث أن زيادة

كمية اللاكتولوز المضافة خفضت من سرعة إنخفاض قيمة الـــpH وعملت كواقي للوسط وهذا يتوافق مع ماوجده سابقا (Bongaerts *et al.*,2005);(Moreira *et al.*,2000) .

4-2-3- نتائج التقييم الحسي:

تم إجراء تقييم حسي لعينات اللبن المحضرة بإضافة اللاكتولوز ، ومقارنتها مع عينة الشاهد وذلك خلال فترات التخزين 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 يوم ، والجدول (16) 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 and Heymann,1999).

الجدول (16) : نتائج التقييم الحسي للبن المحضر من دون إضافة اللاكتولوز ومع الإضافه

نوع المعاملة	أول يوم تخزين				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
3%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
4%لاكتولوز/4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
5%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
شاهد/10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
3%لاكتولوز/10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
4%لاكتولوز/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
5%لاكتولوز/10م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 7 أيام				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
3%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c
4%لاكتولوز/4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
5%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 d	7.25 d
شاهد/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
3%لاكتولوز/10م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c
4%لاكتولوز/10م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 a
5%لاكتولوز/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 d	7.25 d

نوع المعاملة	زمن التخزين 14 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
3%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
4%لاكتولوز/4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
5%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
شاهد/10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
3%لاكتولوز/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
4%لاكتولوز/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
5%لاكتولوز/10م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 21 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
3%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
4%لاكتولوز/4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 c
5%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
3%لاكتولوز/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
4%لاكتولوز/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
5%لاكتولوز/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 28 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
3%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
4%لاكتولوز/4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
5%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 c	6.50 d
3%لاكتولوز/10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
4%لاكتولوز/10م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	6.00 b	7.25 c
5%لاكتولوز/10م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 c	6.50 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 35 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
4%لاكتولوز/4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
5%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 b	6.50 b
4%لاكتولوز/10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
5%لاكتولوز/10م°	9.00 a	6.00 b	5.00 c	4.00 a	6.00 d

نوع المعاملة	زمن التخزين 42 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
5%لاكتولوز/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
5%لاكتولوز/10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a

- كل قراءة تمثل المتوسط الحسابي لـ 20 قراءة ، ويشير الاختلاف في الأحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 5%.

يتضح من الجدول (16):

1ـ في مايتعلق بالقوام كانت عينات الشاهد بالإضافة إلى العينات المضاف إليها اللاكتولوز بنسب مختلفة ذات قوام جيد جداً ولم تؤدي إضافة اللاكتولوز إلى نتائج سلبية على القوام بل حافظت على قوام جيد جداً طوال فترات التخزين .

2ـ أثرت إضافة اللاكتولوز في رائحة اللبن الرائب بشكل معنوي مع زيادة نسبته ، ولم يكن هناك اختلاف كبير في درجات التقييم بين التخزين عند الدرجة 4م° والدرجة 10م° . ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 (ضعيف) بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها اللاكتولوز على درجات تقييم أعلى 8 (جيد) للعينات ذو نسبة إضافة لاكتولوز3 % و4% بينما كان درجة التقييم 7 (متوسط) للعينات ذو نسبة إضافة لاكتولوز 5% بعد 14 يوم من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها لاكتولوز محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم في حين لم تعد صالحة للاستهلاك عينات الشاهد في ذلك اليوم.

3ـ كان طعم اللاكتولوز واضح في جميع العينات حيث انخفضت درجة التقييم للطعم مع زيادة نسبة اللاكتولوز المضافة ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها لاكتولوز على درجات تقييم أعلى 8 للعينات ذو نسبة إضافة لاكتولوز 3% و4% بينما كان درجة التقييم 7 للعينات ذو نسبة إضافة لاكتولوز 5% بعد 14 يوم من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها لاكتولوز محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم بينما كان طعم عينات الشاهد سيئ .

4ـ استطاعت عينات اللاكتولوز ذو نسبة إضافة 3% المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 28 يوم بعدها لم تعد صالحة للإستهلاك . أما العينات ذو نسبة إضافة لاكتولوز 4% فقد حافظت على مواصفات مقبولة حتى 35 يوماً بعدها لم تعد صالحة للإستهلاك ، في حين أن العينات ذو نسبة إضافة لاكتولوز 5% حافظت على مواصفات مقبولة حتى 42 يوم بعدها لم تعد صالحة للإستهلاك.

5ــ نظراً لتأثير اللاكتولوز على رائحة وطعم اللبن الرائب سلباً كلما أزدادت نسبة اضافته لذلك لم يكن من المقبول حسياً اضافة نسب أعلى من 5% .

4-3- نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة الثوم:

4-3-1- نتائج التحليل الميكروبيولوجي:

الجدول (17): نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*Streptococcus thermophilus* +*Lactobacillus bulgaricus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة الثوم خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

القوة الحيوية للبادئ (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)							
	1	7	14	21	28	35	42	49
شاهد/ 4م°	10×1.3^{8}	10×2.2^{7}	10×5.0^{5}	–	–	–	–	–
0.05% ثوم/ 4م°	10×1.4^{8}	10×4.2^{7}	10×1.4^{7}	10×1.3^{7}	10×6.2^{6}	10×5.0^{6}	–	–
0.075% ثوم/ 4م°	10×1.4^{8}	10×6.4^{7}	10×4.5^{7}	10×3.8^{7}	10×9.4^{6}	10×6.7^{6}	10×3.7^{6}	–
0.1% ثوم/ 4م°	10×1.4^{8}	10×8.3^{7}	10×6.2^{7}	10×4.9^{7}	10×9.8^{6}	10×8.2^{6}	10×5.4^{6}	10×5.4^{6}
شاهد/ 10م°	10×1.3^{8}	10×2.0^{7}	10×4.1^{5}	–	–	–	–	–
0.05% ثوم/ 10م°	10×1.4^{8}	10×2.0^{7}	10×1.3^{7}	10×1.2^{7}	10×4.4^{6}	10×4.1^{6}	–	–
0.075% ثوم/ 10م°	10×1.4^{8}	10×5.8^{7}	10×4.3^{7}	10×3.2^{7}	10×7.4^{6}	10×5.3^{6}	10×2.6^{6}	–
0.1% ثوم/ 10م°	10×1.4^{8}	10×7.5^{7}	10×5.5^{7}	10×4.1^{7}	10×8.3^{6}	10×7.1^{6}	10×3.2^{6}	10×2.7^{6}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (17): أن كل العينات كانت لها قوه حيوية بحدود $10\times1.3^{8}\pm0.1$ خلية/غرام في اليوم الأول نظراً لتماثل ظروف تحضير العينات . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م° و10م° انخفضت فيها القوة الحيوية بعد 14 يوم من التخزين حيث وصلت إلى 10×5.0^{5} و10×4.1^{5} خلية/غرام (عينات الشاهد على التوالي) . بينما في العينات التي كانت نسبة إضافة الثوم 0.05% عند الدرجة تخزين 4م° و10م° انخفضت فيها القوة الحيوية للبادئ بدرجة اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مده 35 يوم حيث وصلت إلى (10×5^{6} و10×4.1^{6}) خلية/غرام على التوالي . أما العينات التي تحتوي 0.075% فقد كان نسبة انخفاض القوة الحيوية بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا الوصول إلى (10×3.7^{6} و10×2.6^{6}) خلية/غرام على التوالي بعد 42 يوم من التخزين وكانت النتائج أفضل من عند إضافة الثوم بنسبة 0.05% . أما العينات التي تحوي

0.1% فقد كان الانخفاض في القوة الحيوية اقل بكثير من عينات الشاهد واستطاع الثوم بنسبة 0.1% المحافظة على قوة حيوية للبن الرائب مدة 49 يوم حيث وصلت إلى (5.4×10^{6} و2.7×10^{6}) خلية/غرام على التوالي . يمكن تفسير ذلك إلى أن نسبة الثوم المضافة في العينات كانت كافية لكبح نمو الخمائر والعفن مما سمح باستمرار بكتريا البادئ لفترات أطول وهذا ماتثبته النتائج الموضحة في الجدول (18) ، وعند إجراء التحليل الميكروبيولوجي لبكتريا الكوليفورم والـــE.coli لوحظ خلو جميع العينات من بكتريا الكوليفورم والـــ E.coli . لذلك يمكن اعتبار الثوم كعنصر مفضل ومضاد للمكروبات ذو أصل طبيعي ، وذكر (Rees *et al.*,2009) أن المستخلص المائي للثوم المجفف والمجمد (Allium sativum) قد ثبط العديد من البكتريا والخمائر والفطريات والفيروسات كما وتم تقرير النشاط المثبط للثوم ضد العفن من قبل العديد من الباحثين . كما تتوافق النتائج مع الدراسة التي اجريت من قبل (Gundogdu *et al.*,2009) .

الجدول (18): نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة الثوم خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

عدد الخمائر والفطور (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)							
	1	7	14	21	28	35	42	49
شاهد/ 4م°	4×10^{4}	4.5×10^{4}	6.8×10^{4}	–	–	–	–	–
0.05% ثوم/ 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–	–
0.075% ثوم/ 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–
0.1% ثوم/ 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
شاهد/ 10م°	4×10^{4}	6.2×10^{4}	7.6×10^{4}	–	–	–	–	–
0.05% ثوم/ 10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–	–
0.075%ثوم/ 10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–
0.1% ثوم/ 10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL

- **NIL** : تشير إلى عدم وجود أي خمائر أو فطور .
- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (18) : وجود الخمائر والفطور فقط في تجربة الشاهد عند الدرجة 4م° و10م° وخلو جميع العينات الحاوية على الثوم منها وهذا يتوافق مع التفسير المدون اعلاه .

4-3-2- نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة الثوم أثناء فترات التخزين:

الجدول (19): تغير الـــpH عند درجة تخزين 4 م°و10 م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة الثوم

نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم) / pH							
	1	7	14	21	28	35	42	49
شاهد/ 4م°	4.61 ± 0.03^{a}	4.58 ± 0.02^{b}	4.42 ± 0.01^{c}	-	-	-	-	-
0.05% ثوم/ 4م°	4.62 ± 0.01^{ab}	4.60 ± 0.01^{ab}	4.58 ± 0.01^{a}	4.52 ± 0.02^{c}	4.48 ± 0.01^{b}	4.45 ± 0.03^{c}	-	-
0.075% ثوم/ 4م°	4.62 ± 0.02^{ab}	4.61 ± 0.01^{a}	4.59 ± 0.02^{a}	4.56 ± 0.01^{ab}	4.52 ± 0.01^{a}	4.50 ± 0.02^{ab}	4.46 ± 0.02^{a}	-
0.1% ثوم/ 4م°	4.63 ± 0.01^{b}	4.61 ± 0.03^{a}	4.59 ± 0.04^{a}	4.57 ± 0.01^{a}	4.54 ± 0.02^{a}	4.52 ± 0.01^{a}	4.48 ± 0.02^{a}	4.45 ± 0.02^{a}
شاهد/ 10 م°	4.61 ± 0.02^{ab}	4.55 ± 0.01^{c}	4.41 ± 0.01^{c}	-	-	-	-	-
0.05% ثوم/10م°	4.61 ± 0.03^{ab}	4.57 ± 0.01^{bc}	4.55 ± 0.02^{b}	4.53 ± 0.02^{c}	4.46 ± 0.02^{b}	4.42 ± 0.01^{d}	-	-
0.075%ثوم/10م°	4.61 ± 0.01^{ab}	4.59 ± 0.02^{ab}	4.56 ± 0.01^{ab}	4.54 ± 0.01^{bc}	4.53 ± 0.02^{a}	4.48 ± 0.02^{b}	4.45 ± 0.02^{a}	-
0.1% ثوم/10م°	4.61 ± 0.01^{ab}	4.59 ± 0.01^{ab}	4.56 ± 0.02^{ab}	4.55 ± 0.03^{ab}	4.53 ± 0.01^{a}	4.50 ± 0.01^{ab}	4.47 ± 0.01^{a}	4.43 ± 0.03^{a}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، وتشير الاختلافات بين الاحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين العينات عند مستوى ثقة 5%.

يلاحظ من الجدول (19): أن كل العينات تم ايقاف التحضين عند درجة pH قريبه من 4.61±0.01 أي أن جميع العينات تخثرت وتحولت إلى لبن . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م° و10م° لم تعد صالحة للإستهلاك بعد 14 يوم من التخزين مع ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات (عينات الشاهد على التوالي) . بينما في العينات التي كان نسبة إضافة الثوم 0.05% لوحظ انخفاض قيمة الـــpH اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على مواصفاتها مدة 35 يوم. حيث لم تعد العينات صالحة للإستهلاك بالإضافة إلى ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . أما العينات التي تم إضافة 0.075% ثوم كان نسبة انخفاض الـــpH بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا عن طريق إضافة 0.075% عند الدرجة 4م° و10م° الوصول إلى الـــpH 4.46±0.02 و4.45±0.02 على التوالي ولم تعد العينات صالحة للإستهلاك بعد 42 يوم من التخزين. أما العينات التي تحتوي 0.1% ثوم فقد كان الانخفاض في قيمة الـــpH اقل بكثير من عينات الشاهد واستطاع الثوم بنسبة 0.1% المحافظة على اللبن الرائب مدة 49 يوماً حيث وصلت قيمة الـــpH إلى 4.45±0.02 و4.43±0.03 على التوالي . حيث أن زيادة نسبة الثوم المضافة خفضت من سرعة

إنخفاض درجة الحموضة أوالـــpH وعملت كواقي للوسط ولم تؤثر اختلاف درجة حرارة التخزين على قيمة الـــ pH وربما يفسر ذلك بأن بكتريا البادئ يكون نشاطها ضعيفاً عند درجة حرارة 10م° وأقل وهذا يتوافق مع (Bonczar *et al.*,2002);(Gandhi and Ghodekar,2008) .

4-3-3- نتائج التقييم الحسي:

تم إجراء تقييم حسي لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة الثوم ، ومقارنتها مع عينة الشاهد وذلك خلال فترات التخزين 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 و49 يوم ، والجدول (20) 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 and Heymann,1999).

الجدول (20) : نتائج التقييم الحسي للبن الرائب المحضر من دون إضافة الثوم ومع الإضافه

نوع المعاملة	أول يوم تخزين				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.05% ثوم/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.075% ثوم/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
0.1% ثوم/ 4م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.05% ثوم/ 10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.075%ثوم/ 10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 7 أيام				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
0.05% ثوم/ 4م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c
0.075% ثوم/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
0.1% ثوم/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 d	7.25 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
0.05% ثوم/ 10م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c
0.075%ثوم/ 10م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 a
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 d	7.25 d

نوع المعاملة	زمن التخزين 14 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.05% ثوم/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
0.075% ثوم/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
0.1% ثوم/ 4م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.05% ثوم/ 10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
0.075%ثوم/ 10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 21 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.05%ثوم/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
0.075%ثوم/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 c
0.1%ثوم/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
0.05% ثوم/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
0.075%ثوم/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 28 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.05%ثوم/ 4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
0.075%ثوم/ 4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
0.1%ثوم/ 4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 c	6.50 d
0.05% ثوم/ 10م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 b	6.75 b
0.075%ثوم/ 10م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	6.00 b	7.25 c
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 c	6.50 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 35 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.05%ثوم/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.075%ثوم/ 4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 b	6.50 b
0.1%ثوم/ 4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 b	6.50 b
0.05% ثوم/ 10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.075%ثوم/ 10م°	9.00 a	6.00 b	5.00 c	5.00 b	6.25 c
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	6.00 b	5.00 c	4.00 a	6.00 d

نوع المعاملة	زمن التخزين 42 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.075%ثوم/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.1%ثوم/ 4م°	9.00 a	5.00 b	5.00 b	5.00 b	6.00 b
0.075%ثوم/ 10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	5.00 b	5.00 b	4.00 a	5.75 c
نوع المعاملة	زمن التخزين 49 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.1%ثوم/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.1% ثوم/ 10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a

- كل قراءة تمثل المتوسط الحسابي لـــ 20 قراءة ، ويشير الاختلاف في الأحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 5%.

يتضح من الجدول (20) :

1ــ في مايتعلق بالقوام كانت عينات الشاهد بالإضافة إلى العينات المضاف إليها ثوم بنسب مختلفة ذات قوام جيد جداً ولم تؤدي إضافة الثوم إلى نتائج سلبية على القوام بل حافظت على قوام جيد جداً طوال فترات التخزين .

2ــ كانت رائحة الثوم غير واضحة في العينات ذو نسبة إضافة الثوم 0.05% ولذلك كانت درجة التقييم موافقة لعينات الشاهد 9 (جيد جداً) ، بينما كانت رائحة الثوم واضحة في العينات ذو نسبة إضافة الثوم 0.075% وهي أكثر وضوحاً في العينات ذو نسبة إضافة ثوم 0.1% ولذلك كانت درجة التقييم اقل ، ولم يكن هناك اختلاف كبير في درجات التقييم بين التخزين عند الدرجة 4م° والدرجة 10م°. ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 (ضعيف) بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها ثوم على درجات تقييم أعلى 8 (جيد) للعينات ذو نسبة إضافة ثوم 0.05% و0.075% بينما كان درجة التقييم 7 (متوسط) للعينات ذو نسبة إضافة ثوم 0.1% بعد 14 يوم من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها ثوم محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم حيث لم تعد صالحة للاستهلاك عينات الشاهد في ذلك اليوم.

3ــ كان طعم الثوم غير واضح في العينات ذو نسبة إضافة الثوم 0.05% ولذلك كانت درجة التقييم موافقة لعينات الشاهد 9 ، بينما كان طعم الثوم واضح في العينات ذو نسبة إضافة الثوم 0.075% وهي أكثر وضوحاً في العينات ذو نسبة إضافة ثوم 0.1% ولذلك كانت درجة التقييم اقل. ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 بعد 14 يوم من

التخزين وحافظت باقي العينات المضاف لها ثوم على درجات تقييم أعلى 8 للعينات ذو نسبة إضافة ثوم 0.05% و0.075% بينما كان درجة التقييم 7 للعينات ذو نسبة إضافة ثوم 0.1% بعد 14 يوم من التخزين. واستمرت العينات المضاف لها ثوم محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم بينما كان طعم عينات الشاهد سيئ .

4ــ كان القبول الإجمالي عند العينات التي كان نسبة إضافة الثوم 0.05% أكثر رغبة عند المقيمين وذلك لعدم وجود طعم أو رائحة للثوم في العينات مقارنة مع نسب الأضافة الأعلى .

5ــ استطاعت عينات الثوم ذو نسبة إضافة 0.05% المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 35 يوم بعدها لم تعد صالحة للاستهلاك . أما العينات ذو نسبة إضافة الثوم 0.075% فقد حافظت على مواصفات مقبولة حتى 42 يوماً بعدها لم تعد صالحة للاستهلاك ، في حين أن العينات ذو نسبة إضافة الثوم 0.1% حافظت على مواصفات مقبولة حتى 49 يوم بعدها لم تعد صالحة للاستهلاك .

4-4- نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة عصير الجزر:

4-4-1- نتائج التحليل الميكروبيولوجي:

الجدول (21): نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*Streptococcus thermophilus* +*Lactobacillus bulgaricus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة عصير الجزر خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

القوة الحيوية للبادئ (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)					
	1	7	14	21	28	35
شاهد/ 4م°	10×1.3^{8}	10×2.2^{7}	10×5.0^{5}	–	–	–
0.5%عصير جزر/4م°	10×1.4^{8}	10×5.2^{7}	10×2.4^{7}	10×2.3^{7}	10×6.2^{6}	–
1%عصير جزر/4م°	10×1.4^{8}	10×7.4^{7}	10×5.5^{7}	10×4.8^{7}	10×9.4^{6}	10×7.7^{6}
1.5%عصير جزر/ 4م°	10×1.4^{8}	10×9.3^{7}	10×7.2^{7}	10×5.9^{7}	10×9.8^{6}	10×8.2^{6}
شاهد/ 10م°	10×1.3^{8}	10×2.0^{7}	10×4.1^{5}	–	–	–
0.5%عصير جزر/10م°	10×1.4^{8}	10×3.0^{7}	10×2.3^{7}	10×2.1^{7}	10×5.4^{6}	–
1%عصير جزر/10م°	10×1.3^{8}	10×6.8^{7}	10×5.3^{7}	10×4.2^{7}	10×8.4^{6}	10×6.3^{6}
1.5%عصير جزر/10م°	10×1.4^{8}	10×8.5^{7}	10×6.5^{7}	10×5.4^{7}	10×9.3^{6}	10×7.1^{6}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (21): أن كل العينات كانت لها قوه حيوية بحدود $10\times1.3^{8}\pm0.1$ خلية/غرام في اليوم الاول نظراً لتماثل ظروف تحضير العينات . بالنسبة لعينات الشاهد عند الدرجة 4م° و10م° انخفضت القوة الحيوية بعد 14 يوم من التخزين حيث وصلت إلى 10×5.0^{5} و10×4.1^{5} خلية/غرام

(عينات الشاهد على التوالي). بينما في العينات التي كان نسبة إضافة عصير الجزر 0.5% عند درجة تخزين 4م° و10م° انخفضت فيها القوة الحيوية للبادئ بدرجة اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مده 28 يوم حيث وصلت إلى (6.2×10^6 و5.4×10^6) خلية/غرام على التوالي. أما العينات التي تحوي 1% عصير الجزر فقد كانت نسبة انخفاض القوة الحيوية بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا الوصول إلى (7.7×10^6 و6.3×10^6) خلية/غرام على التوالي بعد 35 يوم من التخزين وكانت النتائج أفضل من إضافة عصير الجزر بنسبة 0.5% . أما العينات التي تحوي 1.5% عصير جزر فقد كان الانخفاض في القوة الحيوية اقل بكثير من عينات الشاهد واستطاع عصير الجزر بنسبة 1.5% المحافظة على قوة حيوية للبن الرائب مدة 35 يوم حيث وصلت إلى (8.2×10^6 و7.1×10^6) خلية/غرام على التوالي بنتيجة أفضل من عصير الجزر بنسبة 1%. يمكن تفسير ذلك إلى أن نسبة عصير الجزر المضافة في العينات كانت كافية لكبح نمو الخمائر والعفن مما سمح باستمرار بقاء بكتريا البادئ لفترات أطول وهذا ماتثبته النتائج الموضحة في الجدول (22) . وعند إجراء التحليل الميكروبيولوجي لبكتريا الكوليفورم والـــE.coli لوحظ خلو جميع العينات من بكتريا الكوليفورم والـــ E.coli . لذلك يمكن اعتبار عصير الجزر كعنصر مفضل وذلك لإحتواءه على مضادات حيوية طبيعية بالإضافة إلى محتواه الغني من الريبوفلافين والكاروتينات ومنها بيتا كاروتين التي تنتج الاجسام المضادة للمكروبات ذو أصل طبيعي . وهذه النتائج تتوافق مع الدراسات التي اجريت من قبل (Yousef.,2000);(Shibario *et al.*,2008);(Aly *et al.*,2004) .

الجدول (22): نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة عصير الجزر خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

عدد الخمائر والفطور (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)					
	1	7	14	21	28	35
شاهد/ 4م°	4×10^4	4×10^4	6.8×10^4	–	–	–
0.5%عصير جزر/4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
1%عصير جزر/4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
1.5%عصير جزر/ 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
شاهد/ 10م°	4×10^4	6.2×10^4	7.6×10^4	–	–	–
0.5%عصير جزر/10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
1%عصير جزر/10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
1.5%عصير جزر/10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL

- **NIL** : تشير إلى عدم وجود أي خمائر أو فطور .
- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (22) : وجود الخمائر والفطور فقط في تجربة الشاهد عند الدرجة 4م° و10م° وخلو جميع العينات الحاوية على عصير الجزر وهذا يتوافق مع التفسير المدون اعلاه .

4-4-2- نتائج التحليل الكيميائي لعصير الجزر المستخدم:

يبين الجدول (23): نتائج تحليل عصير الجزر المضاف إلى عينات اللبن الرائب التي تم تصنيعها.

الجدول (23): التركيب الكيميائي لعصير الجزر المضاف إلى عينات اللبن المحضرة

التحليل	النتيجة
السكريات %	%3.57
المادة الصلبة الكلية %	%8.44
الرطوبة %	%91.56
pH	5.77
الحموضة القابلة للمعايرة %	%2.54

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

4-4-3- نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة عصير الجزر أثناء فترات التخزين:

الجدول (24): تغير الـــpH عند درجة تخزين 4 م° و10 م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة عصير الجزر

	زمن التخزين (يوم) / pH					
نوع المعاملة	**1**	**7**	**14**	**21**	**28**	**35**
شاهد/ 4م°	$4.61^{a}\pm0.02$	$4.58^{a}\pm0.01$	$4.42^{b}\pm0.02$	-	-	-
0.5%عصير جزر/4م°	$4.60^{a}\pm0.01$	$4.58^{ab}\pm0.02$	$4.56^{b}\pm0.02$	$4.50^{c}\pm0.01$	$4.46^{d}\pm0.01$	-
1%عصير جزر/4م°	$4.61^{a}\pm0.02$	$4.59^{ab}\pm0.01$	$4.57^{bc}\pm0.01$	$4.54^{c}\pm0.02$	$4.50^{d}\pm0.03$	$4.48^{d}\pm0.03$
1.5%عصير جزر/ 4م°	$4.62^{a}\pm0.01$	$4.59^{ab}\pm0.01$	$4.57^{bc}\pm0.02$	$4.55^{cd}\pm0.02$	$4.52^{de}\pm0.02$	$4.49^{e}\pm0.03$
شاهد/ 10م°	$4.61^{a}\pm0.01$	$4.55^{b}\pm0.02$	$4.41^{c}\pm0.01$	-	-	-
0.5%عصير جزر/10م°	$4.60^{a}\pm0.01$	$4.55^{b}\pm0.02$	$4.53^{bc}\pm0.02$	$4.51^{c}\pm0.01$	$4.44^{d}\pm0.03$	-
1%عصير جزر/10م°	$4.60^{a}\pm0.02$	$4.57^{ab}\pm0.02$	$4.54^{bc}\pm0.02$	$4.52^{c}\pm0.01$	$4.51^{c}\pm0.01$	$4.46^{d}\pm0.02$
1.5%عصير جزر/10م°	$4.61^{a}\pm0.02$	$4.57^{b}\pm0.01$	$4.54^{bc}\pm0.02$	$4.53^{c}\pm0.01$	$4.51^{cd}\pm0.01$	$4.48^{d}\pm0.03$

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، وتشير الاختلافات بين الاحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين العينات عند مستوى ثقة 5%.

يلاحظ من الجدول (24): أن كل العينات تم ايقاف التحضين عند قيمة pH قريبه من 4.61±0.01 في اليوم الأول أي أن جميع العينات تخثرت وتحولت إلى لبن . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م° و10م° لم تصبح صالحة للإستهلاك بعد 14 يوم من التخزين مع ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . بينما في العينات التي كانت نسبة إضافة عصير الجزر 0.5% لوحظ انخفاض قيمة الـــpH اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على مواصفاتها مدة 28 يوم . حيث لم تعد العينات صالحة للإستهلاك بالإضافة إلى ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . أما العينات التي تم إضافة 1% عصير الجزر كان نسبة انخفاض الـــpH بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا عن طريق إضافة 1% من عصير الجزر عند الدرجة 4م° و10م° الوصول إلى قيمة الـــpH 4.48±0.03 و4.46±0.02 على التوالي ولم تعد العينات صالحة للإستهلاك بعد 35 يوم من التخزين . أما العينات التي تحوي 1.5% عصير جزر فقد كان الانخفاض في قيمة الـــpH اقل بكثير من عينات الشاهد ، واستطاع عصير الجزر بنسبة 1.5% المحافظة على اللبن الرائب مدة 35 يوم حيث وصلت قيمة الـــpH إلى 4.49±0.03 و4.48±0.03 على التوالي .

يلاحظ أن زيادة كمية عصير الجزر المضافة خفضت من سرعة إنخفاض قيمة الـــpH وعملت كواقي للوسط ولم تؤثر اختلاف درجة حرارة التخزين في قيمة الـــ pH وربما يفسر ذلك بأن بكتريا البادئ يكون نشاطها ضعيفاً عند درجة حرارة 10م° وأقل وهذا يتوافق مع نتائج سابقة لتأثير درجة الحرارة (Bonczar *et al.*,2002);(EL-Dieb *et al.*,1997);(Nyati,2000).

4-4-4- نتائج التقييم الحسي:

تم إجراء تقييم حسي لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة عصير الجزر ، ومقارنتها مع عينة الشاهد وذلك خلال فترات التخزين 1 و7 و14 و21 و28 و35 يوم ، والجدول (25) 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 and Heymann,1999).

الجدول (25): نتائج التقييم الحسي للبن الرائب المحضر من دون إضافة عصير الجزر ومع الإضافه

نوع المعاملة	أول يوم تخزين				
	القوام	اللون	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.5%عصير جزر/4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
1%عصير جزر/4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
1.5%عصير جزر/ 4م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
1%عصير جزر/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
1.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 7 أيام				
	القوام	اللون	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
0.5%عصير جزر/4م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c
1%عصير جزر/4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
1.5%عصير جزر/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 d	7.25 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
0.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c
1%عصير جزر/10م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 a
1.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 d	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 14 يوم				
	القوام	اللون	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.5%عصير جزر/4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
1%عصير جزر/4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
1.5%عصير جزر/ 4م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
1%عصير جزر/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
1.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d

نوع المعاملة	زمن التخزين 21 يوم				
	القوام	اللون	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.5%عصير جزر/4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
1%عصير جزر/4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 c
1.5%عصير جزر/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
0.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
1%عصير جزر/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
1.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 28 يوم				
	القوام	اللون	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.5%عصير جزر/4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
1%عصير جزر/4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
1.5%عصير جزر/ 4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 c	6.50 d
0.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
1%عصير جزر/10م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	6.00 b	7.25 c
1.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 c	6.50 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 35 يوم				
	القوام	اللون	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
1%عصير جزر/4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
1.5%عصير جزر/ 4م°	9.00 a	5.00 b	5.00 b	5.00 b	6.00 b
1%عصير جزر/10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
1.5%عصير جزر/10م°	9.00 a	5.00 b	5.00 b	4.00 a	5.75 c

- كل قراءة تمثل المتوسط الحسابي لـــ 20 قراءة ، ويشير الاختلاف في الأحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 5%.

يتضح من الجدول (25):

1ــ في مايتعلق بالقوام كانت عينات الشاهد بالإضافة إلى العينات المضاف إليها عصير جزر بنسب مختلفة ذات قوام جيد جداً ولم تؤدي إضافة عصير الجزر إلى نتائج سلبية على القوام بل حافظت على قوام جيد جداً طوال فترات التخزين .

2ــ كان لون عصير الجزر غير واضح في العينات ذو نسبة إضافة عصير الجزر 0.5% ولذلك كانت درجة التقييم موافقة لعينات الشاهد 9 (جيد جداً) ، بينما كان لون عصير الجزر واضح في العينات ذو نسبة إضافة عصير الجزر 1% وهو أكثر وضوحاً في العينات ذو نسبة إضافة عصير

الجزر1.5% ولذلك كانت درجة التقييم اقل ، ولم يكن هناك اختلاف كبير في درجات التقييم بين التخزين عند الدرجة 4م° والدرجة 10م° . ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 (ضعيف) بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها عصير جزر على درجات تقييم أعلى 8 (جيد) للعينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 0.5% و 1% بينما كان درجة التقييم 7 (متوسط) للعينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 1.5% بعد 14 يوم من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها عصير جزر محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم حيث لم تعد صالحة للاستهلاك عينات الشاهد في ذلك اليوم.

3ــ كان طعم عصير الجزر غير واضح في العينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 0.5% ولذلك كانت درجة التقييم موافقة لعينات الشاهد 9 ، بينما كان طعم عصير الجزر واضح في العينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 1% وهي أكثر وضوحاً في العينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 1.5% ولذلك كانت درجة التقييم اقل . ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها عصير جزر على درجات تقييم أعلى 8 للعينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 0.5% و1% بينما كان درجة التقييم 7 للعينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 1.5% بعد 14 يوم من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها عصير جزر محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم بينما كان طعم عينات الشاهد سيئ .

4ــ كان القبول الإجمالي عند العينات التي كان نسبة إضافة عصير جزر 0.5% أكثر رغبة عند المقيمين وذلك لعدم وجود طعم أو لون لعصير الجزر في العينات مقارنة مع نسب الأضافة الأعلى .

5ــ استطاعت عينات عصير الجزر ذو نسبة إضافة 0.5% المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 28 يوم بعدها اصبحت غير صالحة للاستهلاك . أما العينات ذو نسبة إضافة عصير جزر 1% و1.5% فقد حافظت على مواصفات مقبولة حتى 35 يوماً بعدها اصبحت غير صالحة للاستهلاك .

4-5- نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز:

4-5-1- نتائج التحليل الميكروبيولوجي:

الجدول (26): نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*Streptococcus thermophilus* +*Lactobacillus bulgaricus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

القوة الحيوية للبادئ (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)							
	1	7	14	21	28	35	42	49
شاهد/ 4م°	10×1.3^{8}	10×2.3^{7}	10×5.1^{5}	–	–	–	–	–
0.01% ترانس غلوتاميناز / 4م°	10×1.4^{8}	10×6.1^{7}	10×3.5^{7}	10×3.2^{7}	10×8.1^{6}	10×6.8^{6}	–	–
0.03% ترانس غلوتاميناز/ 4م°	10×1.4^{8}	10×8.2^{7}	10×6.4^{7}	10×5.8^{7}	10×9.7^{6}	10×8.5^{6}	10×6.7^{6}	10×5.5^{6}
0.05% ترانس غلوتاميناز/ 4م°	10×1.3^{8}	10×9.1^{7}	10×8.2^{7}	10×6.7^{7}	10×9.9^{6}	10×8.9^{6}	10×7.4^{6}	10×6.4^{6}
شاهد/ 10م°	10×1.3^{8}	10×2.1^{7}	10×4.2^{5}	–	–	–	–	–
0.01% ترانس غلوتاميناز/10م°	10×1.4^{8}	10×5.0^{7}	10×3.3^{7}	10×3.1^{7}	10×7.4^{6}	10×6.2^{6}	–	–
0.03% ترانس غلوتاميناز/10م°	10×1.3^{8}	10×7.8^{7}	10×6.3^{7}	10×5.2^{7}	10×9.4^{6}	10×7.8^{6}	10×6.6^{6}	10×5.1^{6}
0.05% ترانس غلوتاميناز/10م°	10×1.4^{8}	10×8.9^{7}	10×7.9^{7}	10×6.3^{7}	10×9.3^{6}	10×8.4^{6}	10×7.1^{6}	10×6.2^{6}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (26): أن كل العينات كانت لها قوه حيوية بحدود $10\times1.3^{8}\pm0.1$ خلية/غرام في اليوم الاول نظراً لتجانس ظروف تحضير العينات . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م° و10م° انخفضت فيها القوة الحيوية بعد 14 يوم من التخزين حيث وصلت إلى 10×5.1^{5} و10×4.2^{5} خلية/غرام (عينات الشاهد على التوالي). بينما في العينات التي كانت نسبة إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز 0.01% عند الدرجة تخزين 4م° و10م° انخفضت فيها القوة الحيوية للبادئ بدرجة اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مده 35 يوم حيث وصلت إلى (10×6.8^{6} و10×6.2^{6}) خلية/غرام على التوالي. أما العينات التي تحتوي 0.03% إنزيم ترانس غلوتاميناز فقد كانت نسبة انخفاض القوة الحيوية بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا الوصول إلى (10×5.5^{6} و10×5.1^{6}) خلية/غرام على التوالي بعد 49 يوم من التخزين وكانت النتائج أفضل من إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.01% . أما العينات التي تحوي 0.05% فقد كان الانخفاض في القوة الحيوية اقل بكثير من عينات الشاهد واستطاع الإنزيم بنسبة 0.05% المحافظة على قوة

حيوية للبن الرائب مدة 49 يوم حيث وصلت إلى (10×6.4^{6} و10×6.2^{6}) خلية/غرام على التوالي. يمكن تفسير ذلك إلى أن نسبة إنزيم ترانس غلوتاميناز المضافة في العينات كانت كافية لتحسين جودة تخمر الحليب وإعادة تغير بنية وتشكيل البروتينات في الوسط ادى ذلك لزيادة كمية المغذيات لبكتريا البادئ بالإضافة لذلك فإن إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز تؤدي إلى ازدياد لزوجة اللبن وانخفاض ظاهرة خروج المصل بشكل كبير مما سمح باستمرار بكتريا البادئ لفترات أطول . حيث تتوافق النتائج مع الدراسات التي اجريت من قبل (Beatriz *et al.*,2006) بينما تختلف مع (Farnsworth *et al.*,2009) حيث تمكن من الوصول الى مايقارب 60 يوم من التخزين وذلك عن طريق زيادة النسبة المضافة من الانزيم ولكن ذلك يؤدي إلى زيادة التكلفة الإقتصادية للمنتج . وقد وجد خلو العينات المضاف إليها إنزيم ترانس غلوتاميناز من الخمائر والفطور وهذا ماتثبته النتائج الموضحة في الجدول (27) وعند إجراء التحليل الميكروبيولوجي لبكتريا الكوليفورم والـــE.coli لوحظ خلو جميع العينات من بكتريا الكوليفورم والـــ E.coli.

الجدول (27): نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

عدد الخمائر والفطور (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)							
	1	7	14	21	28	35	42	49
شاهد/ 4م°	10×3.8^{4}	10×4.5^{4}	10×6.8^{4}	–	–	–	–	–
0.01% ترانس غلوتاميناز / 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–	–
0.03% ترانس غلوتاميناز/ 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
0.05% ترانس غلوتاميناز/ 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
شاهد/ 10م°	10×4.3^{4}	10×6.2^{4}	10×7.6^{4}	–	–	–	–	–
0.01% ترانس غلوتاميناز/ 10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	–	–
0.03% ترانس غلوتاميناز/ 10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
0.05% ترانس غلوتاميناز/ 10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL

- **NIL** : تشير إلى عدم وجود أي خمائر أو فطور .
- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (27): وجود الخمائر والفطور فقط في تجربة الشاهد عند الدرجة 4م° و10م° وخلو جميع العينات الحاوية على انزيم ترانس غلوتاميناز وهذا يتوافق مع التفسير المدون اعلاه .

4-5-2- نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز أثناء فترات التخزين:

الجدول (28): تغير الـــpH عند درجة تخزين 4م°و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز

نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم) / pH							
	1	7	14	21	28	35	42	49
شاهد/ 4م°	4.61 ± 0.03^{a}	4.58 ± 0.02^{b}	4.42 ± 0.01^{c}	-	-	-	-	-
0.01%إنزيم/ 4م°	4.63 ± 0.01^{ab}	4.61 ± 0.01^{ab}	4.59 ± 0.01^{a}	4.54 ± 0.02^{c}	4.49 ± 0.01^{b}	4.46 ± 0.03^{c}	-	-
0.03%إنزيم/ 4م°	4.63 ± 0.02^{ab}	4.62 ± 0.01^{a}	4.60 ± 0.02^{a}	4.58 ± 0.01^{ab}	4.54 ± 0.01^{a}	4.53 ± 0.02^{ab}	4.49 ± 0.01^{a}	4.45 ± 0.02^{a}
0.05%إنزيم/ 4م°	4.63 ± 0.01^{b}	4.62 ± 0.03^{a}	4.59 ± 0.04^{a}	4.59 ± 0.01^{a}	4.54 ± 0.02^{a}	4.52 ± 0.01^{a}	4.50 ± 0.02^{a}	4.46 ± 0.01^{a}
شاهد/ 10م°	4.60 ± 0.02^{ab}	4.55 ± 0.01^{c}	4.41 ± 0.01^{c}	-	-	-	-	-
0.01%إنزيم/ 10م°	4.61 ± 0.02^{b}	4.59 ± 0.01^{bc}	4.58 ± 0.02^{b}	4.54 ± 0.02^{c}	4.48 ± 0.02^{b}	4.44 ± 0.01^{d}	-	-
0.03%إنزيم/ 10م°	4.62 ± 0.01^{ab}	4.60 ± 0.02^{ab}	4.58 ± 0.01^{a}	4.57 ± 0.01^{b}	4.53 ± 0.01^{a}	4.49 ± 0.01^{a}	4.48 ± 0.02^{a}	4.44 ± 0.02^{a}
0.05%إنزيم/10م°	4.61 ± 0.01^{ab}	4.61 ± 0.01^{ab}	4.59 ± 0.02^{ab}	4.57 ± 0.03^{ab}	4.54 ± 0.01^{a}	4.51 ± 0.01^{ab}	4.47 ± 0.01^{a}	4.43 ± 0.03^{a}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، وتشير الاختلافات بين الاحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين العينات عند مستوى ثقة 5%.

يلاحظ من الجدول (28): أن كل العينات تم ايقاف التحضين عند درجة pH قريبه من 4.61±0.01 أي أن جميع العينات تخثرت وتحولت إلى لبن . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م°و10م° لم تعد صالحة للإستهلاك بعد 14 يوم من التخزين مع ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات (عينات الشاهد على التوالي) . بينما في العينات التي كان نسبة إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز 0.01% لوحظ انخفاض قيمة الـــpH اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على مواصفاتها مدة 35 يوم . حيث لم تعد العينات بعد ذلك صالحة للإستهلاك بالإضافة إلى ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . أما العينات التي تم إضافة 0.03% إنزيم ترانس غلوتاميناز كان نسبة انخفاض الـــpH بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا عن طريق إضافة 0.03% عند الدرجة 4م° و10م° الوصول إلى الـــpH 4.45±0.02 و4.44±0.02 على التوالي ولم تعد العينات صالحة للإستهلاك بعد 49 يوم من التخزين . أما العينات التي تحتوي 0.05% إنزيم ترانس غلوتاميناز فقد كان الانخفاض في قيمة الـــpH اقل بكثير من عينات الشاهد واستطاع الإنزيم بنسبة 0.05% المحافظة على اللبن الرائب مدة 49 حيث وصلت قيمة الـــpH إلى 4.46±0.01

و4.43±0.03 على التوالي . حيث أن زيادة نسبة إنزيم ترانس غلوتاميناز المضافة خفضت من سرعة إنخفاض درجة الحموضة أو الـــpH وعملت كواقي للوسط (Farnsworth *et al.*,2009) ولم تؤثر اختلاف درجة حرارة التخزين على قيمة الـــ pH وربما يفسر ذلك بأن بكتريا البادئ يكون نشاطها ضعيفاً عند درجة حرارة 10م° وأقل وهذا يتوافق مع (Bonczar *et al.*,2002);(Farnsworth *et al.*,2009) .

4-5-3- نتائج التقييم الحسي:

تم إجراء تقييم حسي لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز، ومقارنتها مع عينة الشاهد وذلك خلال فترات التخزين 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 و49 يوم ، والجدول (29) 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 and Heymann,1999).

الجدول (29) : نتائج التقييم الحسي للبن الرائب المحضر من دون إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز ومع الإضافه

نوع المعاملة	أول يوم تخزين				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.01%إنزيم/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
شاهد/ 10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.01%إنزيم/ 10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
نوع المعاملة	زمن التخزين 7 أيام				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 b
0.01%إنزيم/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	8.00 a	8.75 a
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 b	9.00 a
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
شاهد/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
0.01%إنزيم/ 10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	8.00 b	8.75 a
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	9.00 a	8.00 b	9.00 a	8.75 a
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	8.00 b	9.00 a	9.00 a	8.75 a

نوع المعاملة	زمن التخزين 14 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.01%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 c	8.00 c	9.00 d	8.50 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
0.01%إنزيم/ 10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	8.00 a	8.00 c	8.00 d	8.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 21 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.01%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 c
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 c	8.25 d
0.01%إنزيم/ 10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 b	8.00 b
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	8.00 b	7.00 b	7.00 b	7.75 b
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	8.00 b	7.00 b	8.00 c	8.00 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 28 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.01%إنزيم/ 4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 a	8.00 a
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	8.00 b	7.00 b	8.00 c	8.00 d
0.01%إنزيم/ 10م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 b	6.75 b
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	8.00 a	7.00 a	7.00 b	7.75 c
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	8.00 b	7.00 b	8.00 c	8.00 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 35 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.01%إنزيم/ 4م°	9.00 a	6.00 a	5.00 a	5.00 a	6.25 a
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
0.01%إنزيم/ 10م°	9.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	6.00 a
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 c	7.00 b	7.50 c
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 c	7.00 a	7.50d

نوع المعاملة	زمن التخزين 42 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	6.00 a	6.00 a	6.00 a	6.75 a
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 b	7.25 b
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	6.00 a	5.00 a	6.00 a	6.50 a
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	7.00 b	6.00 b	6.00 a	7.00 c
نوع المعاملة	زمن التخزين 49 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
0.03%إنزيم/ 4م°	9.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	6.00 a
0.05%إنزيم/ 4م°	9.00 a	6.00 a	5.00 a	5.00 a	6.25 a
0.03%إنزيم/ 10م°	9.00 a	5.00 a	4.00 a	5.00 a	5.75 a
0.05%إنزيم/10م°	9.00 a	5.00 a	5.00 a	5.00 a	6.00 a

- كل قراءة تمثل المتوسط الحسابي لـــ 20 قراءة ، ويشير الاختلاف في الأحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 5%.

يتضح من الجدول (29):

1ــ في مايتعلق بالقوام كانت عينات الشاهد بالإضافة إلى العينات المضاف إليها إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسب مختلفة ذات قوام جيد جداً ولم تؤدي إضافة الإنزيم إلى نتائج سلبية على القوام بل حافظت على قوام جيد جداً طوال فترات التخزين .

2ــ لم تؤثر إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز على رائحة اللبن الرائب ، ولم يكن هناك اختلاف كبير في درجات التقييم بين التخزين عند الدرجة 4م° والدرجة 10م° . ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 (ضعيف) بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها إنزيم ترانس غلوتاميناز على درجات تقييم أعلى 8 (جيد) للعينات ذو نسبة إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز 0.01% و0.03% و0.05% واستمرت العينات المضاف لها إنزيم ترانس غلوتاميناز محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم حيث لم تعد صالحة للاستهلاك عينات الشاهد في ذلك اليوم.

3ــ لم تؤثر إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز على طعم اللبن الرائب ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها إنزيم ترانس غلوتاميناز على درجات تقييم أعلى 8 للعينات ذو نسبة إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز 0.01% و0.03% و0.05% بعد 14 يوم من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها إنزيم ترانس غلوتاميناز محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم بينما كان طعم عينات الشاهد سيئ .

4ــ كان القبول الإجمالي عند جميع العينات ولم يلاحظ فوارق كبيره في درجات التقييم عند اختلاف نسب إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز .

5ــ استطاعت العينات المضاف لها إنزيم ترانس غلوتاميناز ذو نسبة إضافة 0.01% المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 35 يوماً بعدها لم تعد صالحة للاستهلاك ، في حين أن العينات ذو نسبة إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز 0.03 % و 0.05% حافظت على مواصفات مقبولة حتى 49 يوم بعدها لم تعد صالحة للاستهلاك .

4-6- نتائج تصنيع اللبن الرائب مع إضافة بكتريا البروبيوتيك:

4-6-1- نتائج التحليل الميكروبيولوجي:

الجدول (30): نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*Streptococcus thermophilus* +*Lactobacillus bulgaricus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بإضافة بكتريا البروبيوتيك خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

القوة الحيوية للبادئ (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)					
	1	7	14	21	28	35
شاهد/ 4م°	10×2.3^{8}	10×2.2^{7}	10×5.0^{5}	-	-	-
L.acidophilus LA-5/4م°	10×2.4^{8}	10×1.4^{8}	10×5.4^{7}	10×3.7^{7}	10×8.3^{6}	10×4.1^{6}
B.animalis subsp lactis (*Bb12*)/4م°	10×2.4^{8}	10×1.3^{8}	10×4.8^{7}	10×3.6^{7}	10×7.4^{6}	10×3.7^{6}
LA-5+ *Bb(12)* / 4م°	10×2.3^{8}	10×1.2^{8}	10×3.6^{7}	10×3.5^{7}	10×6.6^{6}	10×2.3^{6}
شاهد/ 10م°	10×2.4^{8}	10×2.0^{7}	10×4.1^{5}	-	-	-
L.acidophilus LA-5/10م°	10×2.2^{8}	10×1.2^{8}	10×4.3^{7}	10×3.4^{7}	10×6.4^{6}	10×3.8^{6}
B.animalis subsp lactis (*Bb12*)/10م°	10×2.3^{8}	10×1.1^{8}	10×4.2^{7}	10×3.2^{7}	10×6.1^{6}	10×2.5^{6}
LA-5+ *Bb(12)*/10م°	10×2.2^{8}	10×1.0^{8}	10×3.4^{7}	10×3.1^{7}	10×5.3^{6}	10×2.1^{6}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (30): أن كل العينات كانت لها قوه حيوية بحدود $10\times2.3^{8}\pm0.1$ خلية/غرام في اليوم الاول نظراً لتماثل ظروف تحضير العينات . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة 4م° و10م° انخفضت القوة الحيوية بعد 14 يوم من التخزين حيث وصلت إلى 10×5.0^{5} و10×4.1^{5} خلية/غرام (عينات الشاهد على التوالي) . بينما في العينات التي اضيف لها البروبيوتيك *L.acidophilus LA-5* عند درجة تخزين 4م°و10م°. انخفضت فيها القوة الحيوية للبادئ بدرجة اقل من عينات الشاهد

واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مدة 35 يوم حيث وصلت إلى(4.1×10^6 و3.8×10^6) خلية/غرام على التوالي . أما العينات التي تحوي *B.animalis subsp lactis (Bb12)* فقد كانت نسبة انخفاض القوة الحيوية بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا الوصول إلى (3.7×10^6 و2.5×10^6) خلية/غرام على التوالي بعد 35 يوم من التخزين وكانت النتائج أقل من إضافة *L.acidophilus LA-5* لوحدها. أما العينات التي تحوي *L.acidophilus LA-5*+ *B.animalis subsp lactis (Bb12)* فقد كان الانخفاض في القوة الحيوية اقل بكثير من عينات الشاهد واستطاعت العينات التي اضيف لها البروبيوتيك *L.acidophilus LA-5*+ *B.animalis subsp lactis (Bb12)* المحافظة على قوة حيوية للبن الرائب مدة 35 يوم حيث وصلت إلى (2.3×10^6 و2.1×10^6) خلية/غرام على التوالي بنتيجة أقل فيما لو اضيف كل نوع على حدا . يمكن تفسير ذلك إلى أن أنواع البروبيوتيك المضافة في العينات كانت كافية لتحسين جودة تخمر الحليب وكبح نمو الخمائر والعفن مما سمح باستمرار بقاء بكتريا البادئ لفترات أطول وهذا ماتثبتة النتائج الموضحة في الجدول (31) . كما لوحظ خلو جميع العينات من بكتريا الكوليفورم والـ E.coli .

الجدول (31): نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإضافة بكتريا البروبيوتيك خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

عدد الخمائر والفطور (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)					
	1	7	14	21	28	35
شاهد/ 4م°	4×10^4	4.5×10^4	6.8×10^4	–	–	–
***L.acidophilus LA-5*/4م°**	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
***B.animalis subsp lactis*) *(Bb12*/4م°**	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
***LA-5*+ (*Bb(12*) / 4م°**	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
شاهد/ 10م°	4×10^4	6.2×10^4	7.6×10^4	–	–	–
***L.acidophilus LA-5*/10م°**	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
***B.animalis subsp lactis*) *(Bb12*/10م°**	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
***LA-5*+ (*Bb(12*)/10م°**	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL

- **NIL** : تشير إلى عدم وجود أي خمائر أو فطور .
- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

من الجدول (31): نلاحظ عدم تواجد للخمائر والفطور في العينات المضاف لها بروبيوتيك ويمكن أن يفسر ذلك الى أن أنواع من بكتريا البروبيوتيك تنتج مضادات بكتيرية مثل الباكتريوسين تقضي على الخمائر والعفن دون أن تؤثر في بكتريا البادئ وهذه النتائج تتوافق مع الدراسات التي اجريت من قبل (Mattila–Sandholm *et al.*,2002);(Ouwehand *et al.*,1999);(Shibario *et al.*,2008) . (Shah,1999)

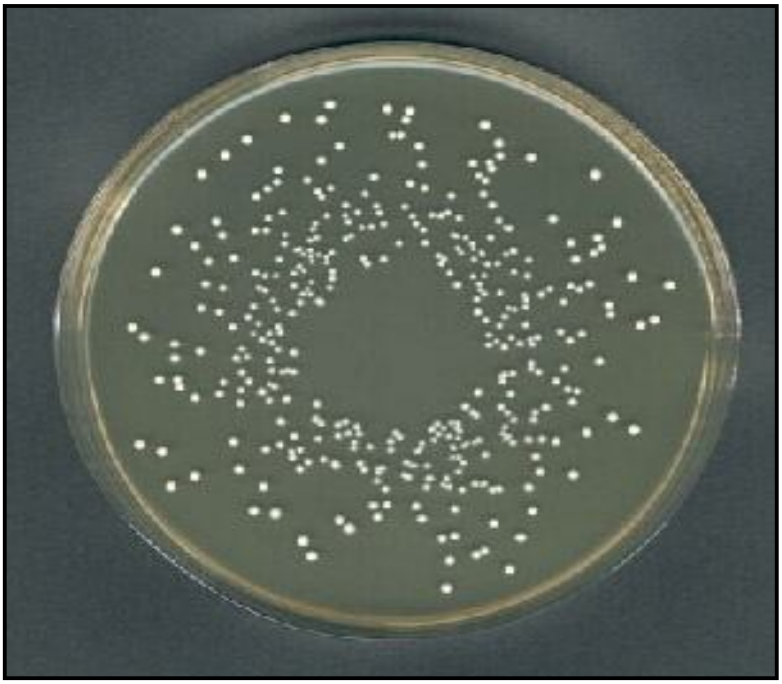
الجدول (32): نتائج تحليل تعداد بكتريا البروبيوتيك *Lactobacillus acidophilus LA-5* لعينات اللبن الرائب المحضره خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)					
	1	7	14	21	28	35
شاهد/ 4م°	-	-	-	-	-	-
***L.acidophilus LA-5*/4م°**	3.5×10^{8}	3.2×10^{8}	5.4×10^{7}	3.8×10^{7}	8.2×10^{6}	7.1×10^{6}
***B.animalis subsp lactis (Bb12)*/4م°**	-	-	-	-	-	-
***LA-5*+ *(Bb(12)* / 4م°**	3.4×10^{8}	2.9×10^{8}	4.8×10^{7}	2.9×10^{7}	7.8×10^{6}	6.8×10^{6}
شاهد/ 10م°	-	-	-	-	-	-
***L.acidophilus LA-5*/10م°**	3.4×10^{8}	3.0×10^{8}	5.1×10^{7}	3.1×10^{7}	7.8×10^{6}	6.9×10^{6}
***B.animalis subsp lactis (Bb12)*/10م°**	-	-	-	-	-	-
***LA-5*+ *(Bb(12)*/10م°**	3.4×10^{8}	2.2×10^{8}	4.5×10^{7}	2.4×10^{7}	7.3×10^{6}	6.4×10^{6}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (32): أن كل العينات كان لها تعداد بكتريا البروبيوتيك $3.5\times10^{8}\pm0.1$ خلية/غرام في اليوم الاول نظراً لتماثل ظروف تحضير العينات . في العينات التي اضيف لها *L.acidophilus LA-5* عند درجة تخزين 4م°و10م° انخفضت فيها تعداد البكتريا اثناء التخزين واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مده 35 يوم حيث وصلت إلى (7.1×10^{6} و6.9×10^{6}) خلية/غرام على التوالي . أما العينات التي تحوي *L.acidophilus LA*-5+ *B.animalis subsp lactis (Bb12)* فقد كان الانخفاض في تعداد البكتريا لنوع *L.acidophilus LA*-5 اكثر واستطاعت العينات المحافظة على القوة الحيوية مدة 35 يوم حيث وصلت إلى (6.8×10^{6} و6.4×10^{6}) خلية/غرام على التوالي.

كما وبينت نتائج الفحوصات التأكيدية لبكتريا *Lactobacill acidophilus LA-5* ان هذه البكتريا سالبة لفحص الكتاليز وغير مكونة للابوغ وغير متحركة وعصوية الشكل وموجبة الصباغة ذات لون ابيض شفاف وصغيرة الحجم وغير منتظمة الحواف ، والصوره (5): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Lactobacill acidophilus LA-5* فى بيئة MRS (Man,Rogosa,Sharpe) والصوره (6): تبين شكل بكتريا *Lactobacill acidophilus LA-5* تحت المجهر.



الصوره (5): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Lactobacill acidophilus LA-5* .

الصورة (6): تبين شكل بكتريا *Lactobacill acidophilus LA-5* تحت المجهر.

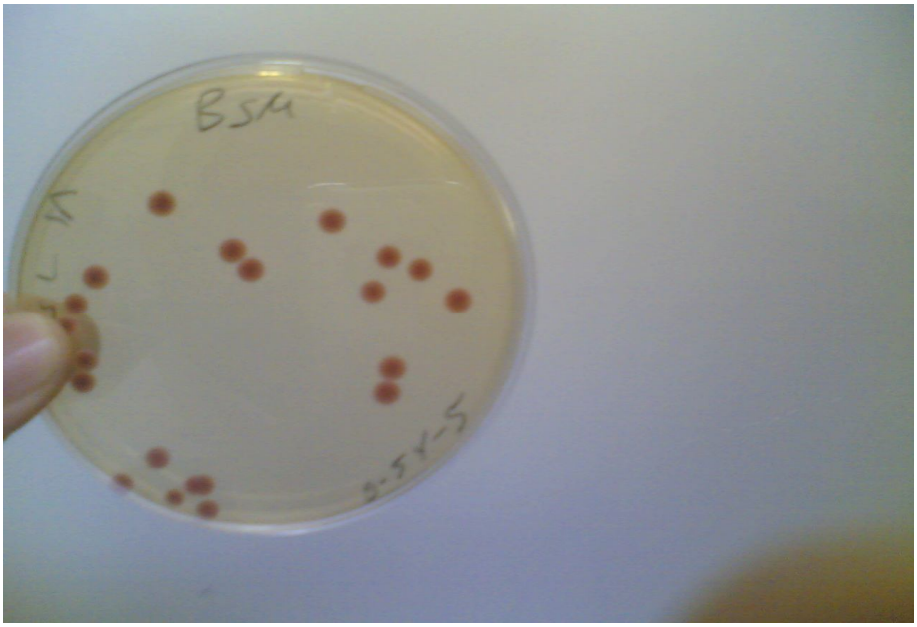
الجدول (33): نتائج تحليل تعداد بكتريا البروبيوتيك *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* لعينات اللبن الرائب المحضره خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)					
	1	7	14	21	28	35
شاهد/ 4م°	-	-	-	**-**	**-**	**-**
***L.acidophilus LA-5*/4م°**	-	-	-	**-**	**-**	**-**
***B.animalis subsp lactis (Bb12)*/4م°**	$^{8}10\times3.5$	$^{8}10\times2.1$	$^{7}10\times4.4$	$^{7}10\times2.2$	$^{6}10\times7.0$	$^{6}10\times6.4$
***LA-5* + *Bb(12)* / 4م°**	$^{8}10\times3.4$	$^{8}10\times 2.0$	$^{7}10\times4.3$	$^{7}10\times2.1$	$^{6}10\times6.7$	$^{6}10\times6.2$
شاهد/ 10م°	-	-	-	-	-	**-**
***L.acidophilus LA-5*/10م°**	-	-	-	**-**	**-**	**-**
***B.animalis subsp lactis (Bb12)*/10م°**	$^{8}10\times3.4$	$^{8}10\times2.0$	$^{7}10\times4.1$	$^{7}10\times1.8$	$^{6}10\times6.6$	$^{6}10\times6.3$
***LA-5* + *Bb(12)*/10م°**	$^{8}10\times3.4$	$^{8}10\times1.8$	$^{7}10\times3.5$	$^{7}10\times2.0$	$^{6}10\times6.5$	$^{6}10\times6.1$

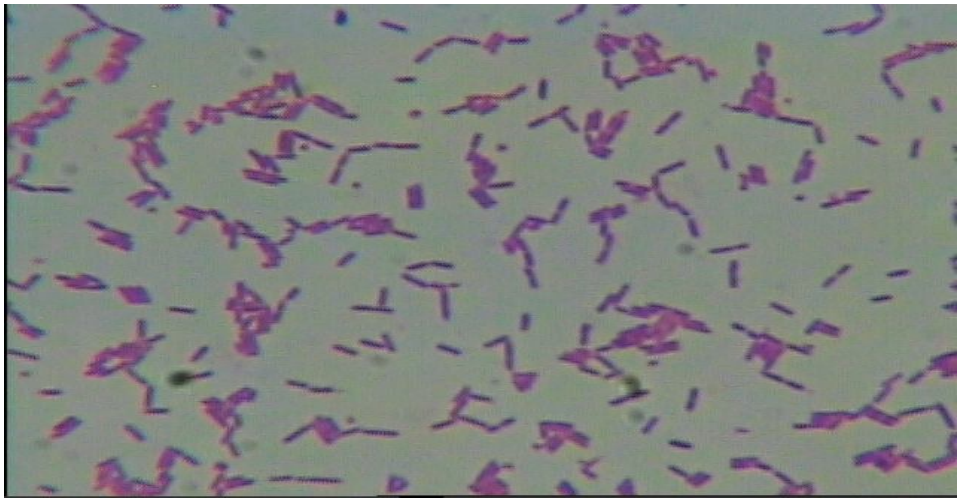
- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (33): أن كل العينات كانت لها تعداد بكتريا البروبيوتيك بحدود $3.5\times10^{8}\pm0.1$ خلية/غرام في اليوم الاول نظراً لتجانس ظروف تحضير العينات . في العينات التي اضيف لها البروبيوتيك من النوع *B.animalis subsp lactis (Bb12)* عند درجة تخزين 4م°و10م° انخفضت فيها تعداد البكتريا اثناء التخزين واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مده 35 يوم حيث وصلت إلى (6.4×10^{6} و6.3×10^{6}) خلية/غرام على التوالي . أما العينات التي تحوي *L.acidophilus LA*-5 +*B.animalis subsp lactis (Bb12)* فقد كان الانخفاض في تعداد البكتريا لنوع *B.animalis subsp lactis (Bb12)* اكثر واستطاعت العينات المحافظة على القوة الحيوية للنوع مدة 35 يوم حيث وصلت إلى (6.2×10^{6} و6.1×10^{6}) خلية/غرام على التوالي.

يمكن توضيح أن سلالة البروبيوتيك المستعملة والرقم الهيدروجيني pH ودرجة حرارة التخزين والمحتوى من الاوكسجين الذائب ، ووجود بيروكسيد الهيدروجين وتركيز المواد الايضية الناتجه (حمض اللبن والخل) ، وتوفر المتطلبات الغذائية ومستوى التلقيح ، وكذلك مستوى الرطوبة من العوامل المهمة التي تؤثر في حيوية واعداد بكتريا البروبيوتيك خلال فترة التخزين . (Ananta *et al.*, 2005);(Desmond *et al.*,2000) ;(Shah, 2000) . كما وبينت نتائج الفحوصات التأكيدية ان بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* غير مفرزة لأنزيم الكتاليز وغير مكونة للابوغ وغير متحركة وعصوية الشكل وموجبة غرام ، والصوره (7): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp lactis(Bb12)* في بيئة Bifidus Selective Medium Agar والصوره (8): تبين شكل بكتريا *Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* تحت المجهر.



الصوره (7): تبين شكل مستعمرات بكتريا *Bifidobacterium. lactis (Bb12)* .



الصوره (8): تبين شكل بكتريا *Bifidobacterium.lactis(Bb12)* تحت المجهر.

4-6-2- نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بإضافة بكتريا البروبيوتيك أثناء فترات التخزين:

الجدول (34): تغير الـــpH عند درجة تخزين 4 م° و10 م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة بكتريا البروبيوتيك

	زمن التخزين (يوم) / Ph						
نوع المعاملة	1	7	14	21	28	35	42
شاهد/ 4م°	4.61^{a}±0.02	4.58^{a}±0.01	4.42^{b}±0.02	-	-	-	
L.acidophilus LA-5/4م°	4.61^{a}±0.01	4.59^{ab}±0.02	4.57^{b}±0.02	4.51^{c}±0.01	4.47^{d}±0.01	4.45^{d}±0.02	4.42^{b}±0.02
B.animalis subsp lactis/4م°	4.62^{a}±0.02	4.60^{ab}±0.01	4.58^{bc}±0.01	4.55^{c}±0.02	4.51^{d}±0.03	4.49^{d}±0.03	4.41^{b}±0.01
LA-5+ (Bb(12) / 4م°	4.62^{a}±0.01	4.60^{ab}±0.01	4.58^{bc}±0.02	4.56^{cd}±0.02	4.53^{de}±0.02	4.45^{e}±0.03	4.42^{bc}±0.01
شاهد/ 10م°	4.61^{a}±0.01	4.55^{b}±0.02	4.41^{c}±0.01	-	-	-	-
L.acidophilus LA-5/10م°	4.61^{a}±0.01	4.56^{b}±0.02	4.54^{bc}±0.02	4.50^{c}±0.01	4.46^{d}±0.03	4.44^{d}±0.02	4.41^{bc}±0.01
B.animalis subsp lactis/10م°	4.61^{a}±0.02	4.58^{ab}±0.02	4.55^{bc}±0.02	4.53^{c}±0.01	4.50^{c}±0.01	4.47^{d}±0.02	4.40^{bc}±0.01
LA-5+ (Bb(12)/10م°	4.62^{a}±0.02	4.58^{b}±0.01	4.55^{bc}±0.02	4.54^{c}±0.01	4.52^{cd}±0.01	4.44^{d}±0.03	4.41^{bc}±0.01

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، وتشير الاختلافات بين الاحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين العينات عند مستوى ثقة 5%.

يلاحظ من الجدول (34): أن كل العينات تم ايقاف التحضين عند قيمة pH قريبه من 4.61±0.01 أي أن جميع العينات تخثرت وتحولت إلى لبن . بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م° و10م° لم تعد صالحة للإستهلاك بعد 14 يوم من التخزين مع ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات. بينما في العينات التي اضيف لها البروبيوتيك *L.acidophilus LA-5* لوحظ انخفاض قيمة الـــpH اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على مواصفاتها مدة 35 يوم . حيث لم تعد العينات صالحة للإستهلاك عند 42 يوم ، بالإضافة إلى ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . أما العينات التي تم إضافة البروبيوتيك (*B.animalis subsp lactis (Bb12*) كانت نسبة انخفاض الـــpH بدرجة اقل من عينات الشاهد واستطعنا عن طريق إضافة البروبيوتيك (*B.animalis subsp lactis (Bb12*) عند الدرجة 4م° و10م° الوصول إلى قيمة الـــpH 4.49±0.03 و4.47±0.02 على التوالي ولم تعد العينات صالحة للإستهلاك بعد 35 يوم من التخزين. أما العينات التي تحوي *B.animalis subsp lactis (Bb12)+L.acidophilus LA-5* فقد كان الانخفاض في قيمة الـــpH اقل بكثير من عينات الشاهد ، واستطاع *L.acidophilus LA*-5 +(*B.animalis subsp lactis (Bb12* المحافظة على اللبن الرائب مدة 35 يوم حيث وصلت قيمة الـــpH إلى 4.45±0.03 و4.44±0.03 على التوالي . ولم تؤثر اختلاف درجة حرارة التخزين على

قيمة الـــ pH وربما يفسر ذلك بأن بكتريا البادئ يكون نشاطها ضعيفاً عند درجة حرارة 10م° وأقل وهذا يتوافق مع (Bonczar *et al*.,2002).

4-6-3- نتائج التقييم الحسي:

تم إجراء تقييم حسي لعينات اللبن الرائب المحضرة بإضافة بكتريا البروبيوتيك ، ومقارنتها مع عينة الشاهد وذلك خلال فترات التخزين 1 و7و14 و21 و28 و35 و42 يوم ، والجدول (35) 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 and Heymann,1999).

الجدول (35) : نتائج التقييم الحسي للبن الرائب المحضر بإضافة بكتريا البروبيوتيك

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

نوع المعاملة	زمن التخزين 14 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
L.acidophilus LA-5/4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
B.animalis subsp lactis (Bb12)/4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
LA-5+ (*Bb(12)* / 4م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
شاهد/ 10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
L.acidophilus LA-5/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
B.animalis subsp lactis (Bb12)/10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	7.00 c	8.00 c
LA-5+ (*Bb(12)*/10م°	9.00 a	7.00 c	7.00 c	6.00 d	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 21 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
L.acidophilus LA-5/4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
B.animalis subsp lactis (Bb12)/4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	7.00 b	8.00 c
LA-5+ (*Bb(12)* / 4م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
L.acidophilus LA-5/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
B.animalis subsp lactis (Bb12)/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
LA-5+ (*Bb(12)*/10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	6.00 c	7.25 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 28 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
L.acidophilus LA-5/4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	8.00 a	7.75 a
B.animalis subsp lactis (Bb12)/4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
LA-5+ (*Bb(12)*/4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	7.00 c	7.00 d
L.acidophilus LA-5/10م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
B.animalis subsp lactis (Bb12)/10م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	6.00 b	7.25 c
LA-5+ (*Bb(12)*/10م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 c	6.75 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 35 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
L.acidophilus LA-5/4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	8.00 a	7.75 a
B.animalis subsp lactis (Bb12)/4م°	9.00 a	600. a	7.00 a	7.00 a	7.25 a
LA-5+ (*Bb(12)*/4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 c	6.75 d
L.acidophilus LA-5/10م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
B.animalis subsp lactis (Bb12)/10م°	9.00 a	7.00 a	600. a	6.00 b	7.00 c
LA-5+ (*Bb(12)*/10م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	6.00 c	6.75 d

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

- كل قراءة تمثل المتوسط الحسابي لـــ 20 قراءة ، ويشير الاختلاف في الأحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 5%.

يتضح من الجدول (35):

1ــ في ما يتعلق بالقوام كانت عينات الشاهد بالإضافة إلى العينات المضاف إليها البروبيوتيك بأنواع مختلفة ذات قوام جيد جداً ولم تؤدي إضافة البروبيوتيك إلى نتائج سلبية على القوام بل حافظت على قوام جيد جداً طوال فترات التخزين .

2ــ كان 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 4م° والدرجة 10م° . ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 (ضعيف) بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها البروبيوتيك على درجات تقييم أعلى 8 (جيد) للعينات التي اضيف لها البروبيوتيك من النوع *L.acidophilus LA-5* أو *B.animalis subsp lactis (Bb12)* بينما كان درجة التقييم 7 (متوسط) للعينات التي اضيف لها البروبيوتيك من النوعين بنفس العينة *B.animalis subsp lactis (Bb12)*+*L.acidophilus LA*-5 بعد 14 يوم من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها البروبيوتيك محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم في حين لم تعد صالحة للإستهلاك عينات الشاهد في ذلك اليوم.

3ــ 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 اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 بعد 14 يوم من التخزين ، وحافظت باقي العينات المضاف لها البروبيوتيك على درجات تقييم أعلى 8 للعينات التي اضيف لها البروبيوتيك من النوع *L.acidophilus LA-5* أو *B.animalis subsp lactis (Bb12)* بينما كانت درجة التقييم 7 للعينات التي اضيف لها *B.animalis subsp lactis (Bb12)*+*L.acidophilus LA*-5 بعد 14 يوم

من التخزين . واستمرت العينات المضاف لها البروبيوتيك محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم بينما كان طعم عينات الشاهد سيئ .

4ــ استطاعت العينات المضاف لها البروبيوتيك المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 35 يوماً من التخزين بعدها أصبحت غير صالحة للإستهلاك .

5ــ لاحظنا أن العينات المضاف لها بكتريا البروبيوتيك من النوع *L.acidophilus LA-5* نالت إعجاب اللجنة من حيث الطعم والنكهة مقارنة مع العينات الاخرى وذلك عائد للمواصفات التي يضيفها هذا النوع من البكتريا على طعم ونكهة اللبن الرائب .

4-7- نتائج تصنيع اللبن الرائب بطريقة التصنيع المعدلة:

4-7-1- نتائج التحليل الميكروبيولوجي:

الجدول (36): نتائج تحليل القوة الحيوية لبكتريا البادئ (*Streptococcus thermophilus* +*Lactobacillus bulgaricus*) لعينات اللبن الرائب المحضره بطريقة التصنيع المعدلة خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

القوة الحيوية للبادئ (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)						
	1	7	14	21	28	35	42
شاهد/ 4م°	10×1.3^{8}	10×2.7^{7}	10×5.5^{5}	–	–	–	–
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	10×1.4^{8}	10×7.8^{7}	10×6.2^{7}	10×5.4^{7}	10×8.8^{6}	10×7.7^{6}	10×4.8^{6}
شاهد /10م°	10×1.3^{8}	10×2.5^{7}	10×4.6^{5}	–	–	–	–
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	10×1.3^{8}	10×7.4^{7}	10×5.8^{7}	10×4.6^{7}	10×8.1^{6}	10×7.4^{6}	10×4.2^{6}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

يلاحظ من الجدول (36): أن كل العينات كانت لها قوه حيوية بحدود $10\times1.3^{8}\pm0.1$ خلية/غرام في اليوم الاول نظراً لتجانس ظروف تحضير العينات . بالنسبة لعينات الشاهد عند الدرجة 4م° و10م° انخفضت القوة الحيوية بعد 14 يوم من التخزين حيث وصلت إلى 10×5.5^{5} و10×4.6^{5} (عينات الشاهد على التوالي) . بينما في العينات التي تم تصنيعها بطريقة التصنيع المعدلة عند درجة تخزين 4م°و10م° انخفضت القوة الحيوية للبادئ بدرجة اقل من عينات الشاهد واستمرت العينات محافظة على قوتها الحيوية مده 42 يوم حيث وصلت إلى (10×4.8^{6} و10×4.2^{6}) خلية/غرام على التوالي.

وهذا يتوافق مع دراسة (Tamime and Deeth,2008) وبالمقارنة مع اللبن المصنع بالطريقة العادية فإن فترة صلاحية هذا اللبن مع الإحتفاظ بالقوة الحيوية للبادئ قد وصلت إلى ما يقارب 42

يوم . بينما استمر مدة 14 يوم للبن العادي المخزن بنفس الظروف وهذا عائد إلى القضاء الكامل على الفطور والخمائر في اللبن المصنع بطريقة المعدلة . وهذا ماتثبتة النتائج الموضحة بالجدول (37) . كما لوحظ خلو جميع العينات من بكتريا الكوليفورم والـــ E.coli .

الجدول (37): نتائج تحليل الخمائر والفطور لعينات اللبن المحضره بإستخدام طريقة التصنيع المعدلة خلال فترات التخزين (خلية /غرام)

عدد الخمائر والفطور (خلية/غ) / نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم)						
	1	7	14	21	28	35	42
شاهد/ 4م°	3.8×10^4	4.5×10^4	6.8×10^4	—	—	—	—
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL
شاهد /10م°	4.3×10^4	6.2×10^4	7.6×10^4	—	—	—	—
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL	NIL

- **NIL** : تشير إلى عدم وجود أي خمائر أو فطور .
- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، ولايوجد فروقات معنوية عند مستوى الثقة ($p>0.05$).

في الجدول (37): نلاحظ خلو العينات المصنعة بطريقة المعدلة من الخمائر والفطور ويمكن تفسير ذلك أن الحرارة المستخدمة عند تحضير اللبن بطريقة المعدلة يقضي على الخمائر والفطور الممكن تواجدها في عبوات اللبن .

4-7-2- نتائج تغير الـــpH لعينات اللبن المحضر بطريقة التصنيع المعدلة أثناء فترات التخزين:

الجدول (38): تغير الـــpH عند درجة تخزين 4م° و10م° لعينات اللبن الرائب المحضرة بطريقة التصنيع المعدلة

نوع المعاملة	زمن التخزين (يوم) / pH						
	1	7	14	21	28	35	42
شاهد/ 4م°	4.60 ± 0.03^{a}	4.57 ± 0.02^{b}	4.41 ± 0.01^{c}	-	-	-	-
التصنيع المعدلة/ 4م°	4.62 ± 0.01^{b}	4.61 ± 0.03^{a}	4.59 ± 0.01^{a}	4.57 ± 0.01^{a}	4.54 ± 0.02^{a}	4.52 ± 0.01^{a}	4.45 ± 0.02^{a}
شاهد /10م°	4.60 ± 0.02^{ab}	4.54 ± 0.01^{c}	4.40 ± 0.01^{c}	-	-	-	-
التصنيع المعدلة/10م°	4.61 ± 0.01^{ab}	4.59 ± 0.01^{ab}	4.56 ± 0.02^{ab}	4.55 ± 0.03^{ab}	4.53 ± 0.01^{a}	4.50 ± 0.01^{ab}	4.43 ± 0.01^{a}

- كل نتيجة تمثل المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات ، وتشير الاختلافات بين الاحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية بين العينات عند مستوى ثقة 5%.

يلاحظ من الجدول (38): أن كل العينات تم ايقاف التحضين لها عند قيمة pH قريبه من 4.61±0.01 أي أن جميع العينات تخثرت وتحولت إلى لبن رائب. بالنسبة لعينات الشاهد عند درجة تخزين 4م° و10م° لم تعد صالحة للإستهلاك بعد 14 يوم من التخزين مع ملاحظة رائحة وطعم الحموضة العالية في العينات . أما العينات التي صُنعت بطريقة التصنيع المعدلة فقد كان الانخفاض في قيمة الـــpH اقل بكثير من عينات الشاهد ، واستطعنا بطريقة التصنيع المعدلة المحافظة على اللبن الرائب مدة 42 يوم حيث وصلت قيمة الـــpH إلى 4.45±0.02 و4.43±0.01 على التوالي . وهذا يتوافق مع دراسة (Tamime and Deeth,2008) حيث لوحظ ارتفاع الحموضة أثناء تخزين اللبن العادي بنسبة كبيرة مما هو في اللبن المصنع بالطريقة المعدلة . ولم تؤثر اختلاف درجة حرارة التخزين على قيمة الـــ pH وربما يفسر ذلك بأن بكتريا البادئ يكون نشاطها ضعيفاً عند درجة حرارة 10م° وأقل وهذا يتوافق مع (Bonczar *et al.*,2002) .

4-7-3- نتائج التقييم الحسي:

تم إجراء تقييم حسي لعينات اللبن المحضرة بطريقة التصنيع المعدلة ، ومقارنتها مع عينة الشاهد وذلك خلال فترات التخزين 1 و7 و14 و21 و28 و35 و42 يوم ، والجدول (39) 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 and Heymann,1999).

الجدول (39) : نتائج التقييم الحسي للبن المحضر بالطريقة العادية وطريقة التصنيع المعدلة

نوع المعاملة	أول يوم تخزين				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
شاهد /10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a	9.00 a
نوع المعاملة	**زمن التخزين 7 أيام**				
	القوام	**الرائحة**	**الطعم**	**القبول كمنتج**	**المتوسط الحسابي**
شاهد/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c
شاهد /10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	9.00 a	9.00 c	9.00 c	9.00 c	9.00 c

نوع المعاملة	زمن التخزين 14 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
شاهد/ 4م°	8.00 a	4.00 a	4.00 a	5.00 a	5.25 a
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
شاهد /10م°	8.00 a	4.00 a	4.00 a	5.00 a	5.25 a
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	9.00 a	8.00 b	8.00 b	8.00 b	8.25 b
نوع المعاملة	زمن التخزين 21 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	9.00 a	8.00 a	8.00 a	8.00 a	8.25 a
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	9.00 a	7.00 b	7.00 b	7.00 b	7.50 b
نوع المعاملة	زمن التخزين 28 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	7.00 a	7.50 a
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	9.00 a	7.00 a	7.00 a	6.00 b	7.25 c
نوع المعاملة	زمن التخزين 35 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	9.00 a	6.00 b	6.00 b	5.00 b	6.50 b
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	9.00 a	6.00 b	5.00 c	4.00 a	6.00 d
نوع المعاملة	زمن التخزين 42 يوم				
	القوام	الرائحة	الطعم	القبول كمنتج	المتوسط الحسابي
طريقة التصنيع المعدلة/ 4م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a
طريقة التصنيع المعدلة /10م°	9.00 a	4.00 a	4.00 a	4.00 a	5.25 a

- كل قراءة تمثل المتوسط الحسابي لـــ 20 قراءة ، ويشير الاختلاف في الأحرف ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى ثقة 5%.

يتضح من الجدول (39):

1ــ في مايتعلق بالقوام كانت عينات الشاهد بالإضافة إلى العينات المصنعة بالطريقة التصنيع المعدلة ذات قوام جيد جداً وذلك طوال فترات التخزين .

2ــ في مايتعلق بالرائحة لم يكن هناك اختلاف كبير في درجات التقييم بين التخزين عند الدرجة 4م° والدرجة 10م° . ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 (ضعيف) بعد 14 يوم من التخزين ، واستمرت العينات المصنعة بالطريقة التصنيع المعدلة محافظة

على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم حيث لم تعد عينات الشاهد في ذلك اليوم صالحة للإستهلاك .

3ــ أما بالنسبة للطعم ومع ملاحظات درجات التقييم لدى تخزين العينات فقد اعطت عينات الشاهد الدرجة 4 بعد 14 يوم من التخزين ، واستمرت العينات المصنعة بالطريقة التصنيع المعدلة محافظة على درجات أعلى خلال فترة التخزين بعد 14 يوم بينما كان طعم عينات الشاهد سيئ .

4ــ كان القبول الإجمالي عند جميع العينات ولم يلاحظ فوارق كبيره في درجات التقييم .

5ــ استطاعت العينات المصنعة بالطريقة التصنيع المعدلة المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 42 يوم بعدها لم تعد صالحة للإستهلاك .

الإستنتاجات *Conclusions* :

1ــ اكدت النتائج أن إضافة اللاكتولوز والثوم والجزر وإنزيم ترانس غلوتاميناز وبكتريا البروبيوتيك كل بمفرده لها تأثير حافظ للبن لفترة أطول مقارنة مع الشاهد . وكذلك الأمر بالنسبة إلى طريقة التصنيع المعدلة .

2ــ ان إضافة اللاكتولوز بنسبة 3% كانت كافية للمحافظة على القوة الحيوية مدة 28 يوم دون التغيير في طعم ورائحة اللبن . كما استطاعت المحافظة على المواصفات الأخرى دون أن يتعرض للفساد لنفس الفترة . وإن زيادة النسبة إلى 4% أو 5% تسبب تدني في المواصفات الحسية .

3ــ لم يحدث فوارق كبيرة في النتائج لدى التخزين عند الدرجة 4 م° والدرجة 10م° عند إستخدام الإضافات أو تغير شروط التصنيع التكنولوجية .

4ــ ان إضافة الثوم بنسبة 0.05% كانت كافية للمحافظة على القوة الحيوية مدة 35 يوم دون التغيير في طعم ورائحة اللبن الرائب . كما استطاعت المحافظة على المواصفات الأخرى دون أن يتعرض للفساد لنفس الفترة . وإن زيادة النسبة عن ذلك تزيد في مدة الصلاحية ولكنها يصبح الطعم واضحاً.

5ــ ان إضافة عصير الجزر بنسبة 0.5% كانت كافية للمحافظة على القوة الحيوية مدة 28 يوم دون التغيير في طعم ولون اللبن الرائب . كما استطاعت المحافظة على المواصفات الأخرى دون أن يتعرض للفساد لنفس الفتره . وإن زيادة النسبة عن ذلك تزيد في مدة الصلاحية ولكنها يصبح اللون وطعم عصير الجزر واضحاً.

6 استطاعت العينات المضاف لها إنزيم ترانس غلوتاميناز ذو نسبة إضافة 0.01% المحافظه على القوة الحيوية للبادئ حتى 35 يوماً بعدها لم تعد صالحة للإستهلاك ، في حين أن العينات ذو نسبة إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز 0.03 % و 0.05% حافظت على القوة الحيوية للبادئ حتى 49 يوم بعدها لم تعد صالحة للإستهلاك .

7ــ اكدت النتائج ان إضافة بكتريا البروبيوتيك كانت كافية للمحافظة على القوة الحيوية مدة 35 يوم دون التغيير الكبير في طعم ورائحة اللبن الرائب . كما استطاعت المحافظة على المواصفات الأخرى دون أن يتعرض للفساد لنفس الفتره .

8ــ استطاعت العينات المصنعة بالطريقة التصنيع المعدلة المحافظه على مواصفات مقبولة حتى 42 يوم بعدها لم تعد صالحة للإستهلاك .

التوصيات *Recommendations* :

1ــ تقترح الدراسة إضافة اللاكتولوز بنسبة 3% كونها اعطت نتائج إيجابية دون التأثير في طعم ورائحة اللبن حيث تتوافق هذه النسبة مع النسبة المصرّح بها من قبل التشريع البرازيلي للألبان (ANVISA,2002).

2ــ إضافة الثوم بنسبة 0.05% كونها اعطت نتائج إيجابية دون التأثير في طعم ورائحة اللبن الرائب.

3ــ إضافة عصير الجزر بنسبة 0.5% كونها اعطت نتائج إيجابية دون التأثير في طعم ولون اللبن الرائب .

4ــ تقترح الدراسة إضافة إنزيم ترانس غلوتاميناز بنسبة 0.01-0.05% كونها اعطت نتائج إيجابية دون التأثير في طعم ورائحة اللبن .

5ــ إضافة بكتريا البروبيوتيك من الأنواع *Lactobacillus acidophilus LA-5* و*Bifidobacterium animalis subsp lactis (Bb12)* كونها اعطت نتائج إيجابية مع محافظتها على تقييم جيد في طعم ورائحة اللبن الرائب . إضافة لفوائدها المعروفة على الصحة العامة .

6ــ تطبيق طريقة التصنيع المعدلة في مصانع الألبان .

7ــ توصي الدراسة باستخدام طرق لإطالة فترة صلاحية اللبن الرائب التي تبقي على القوة الحيوية لبكتريا البادئ للاستفادة من صفات اللبن الصحية والعلاجية .

8ــ دراسة إضافة انواع اخرى من بكتريا البروبيوتيك الى اللبن الرائب ومعرفة تأثير هذه الإضافة على القوة الحيوية لبكتريا البادئ .

تؤكد هذه الملاحظات على فكرة استخدام الإضافات وتغيير شروط التصنيع التكنولوجية التقليدية في إعداد الألبان كوسيلة لتأمين الحفظ وتمديد العمر الافتراضي لها مع الإحتفاظ بقيمته الحيوية والعلاجية ومن خلال هذه الدراسات استطعنا إنتاج أنواع جديده من اللبن الرائب يحتفظ بنوعية مقبولة خلال فتره تخزين لاتقل عن 4 أسابيع ، وتشير النتائج إلى أن أنواع الإضافات وطرق التصنيع التكنولوجية التي تم اختبارها في هذه الدراسة ذات احتمالية كبيرة من شأنها أن تسهم في تطوير تكنولوجيا إنتاج الألبان.

المراجع باللغة العربية

1. آر.كي . روبنسون ،1997- ميكروبيولوجيا الحليب ومنتجاتة .الجز الثاني ، منشورات جامعة الملك سعود ، ترجمة إبراهيم المهيزع وآخرون .
2. الميدع ، إلياس ، 2008- الألبان ومنتجاتها القسم النظري .الطبعة الأولى ، منشورات كلية الزراعة ، جامعة البعث ،342 .
3. اللوزي ، سالم ،2003- دراسة عن تطوير إنتاج وتصنيع وتسويق الألبان لدى صغار المزارعين في الوطن العربي . منشورات المنظمة العربية للتنمية الزراعية الخرطوم .
4. الوزير ، دريد ،2011 - تقانة الخضار والفواكة القسم العملي.الطبعة الأولى ، منشورات كلية الهندسة الكيميائية والبترولية – قسم الهندسة الغذائية ، جامعة البعث ، 232 .
5. بريشة ، جابر ، زهران ، أحمد ،2002-الأغذية المتخمرة وعلاقتها بصحة الإنسان . منشورات الهيئة المصرية العامة للكتاب .1:(13-15) .
6. حرفوش ، محسن ، منصور ، أحمد ،2001- تكنولوجيا ألبان (3).الطبعة الأولى ، منشورات كلية الزراعة ، جامعة تشرين ، 344 .
7. سليق ، سمير ، طيفور ، أنطون ، أبو يونس ، عهد ،2009- تكنولوجيا الألبان القسم العملي.الطبعة الأولى ، منشورات كلية الزراعة ، جامعة دمشق ، 121 .
8. شحاته ، عبده السيد،1997- تكنولوجيا الجبن (الأسس العلمية) . منشورات المكتبة الأكاديمية جامعة القاهرة .
9. عربش ، شفيق ،2010-المجموعة الإحصائية السنوية . منشورات المكتب المركزي للإحصاء في دمشق .
10. محسن ، مهدي ، خليل ، محمود ،1998- الليستريا ومخاطرها في المواد الغذائية . منشورات مجلة المهندس الزراعي العربي . 36:(52-54) .

المراجع باللغة الأنجليزية

1. Adhikari,K.;Mustapha,A.;Grun,U.,(2000)-Viability of microencapsulated bifidobacteria in set yoghurt during refrigerated storage.J.Dairy Science.,83(1):1946-1951.
2. Adriano,G.daCruz.;Jose´ deA.F.;Faria., Ariene G.F.;Van Dender.,(2007)-Packaging system and probiotic dairy foods.Food Research International.,10(3):1-6.
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.,(2002)- ANVISA. Legislação. VisaLegis. Resolução RDC n.2, de 7 de janeiro. Aprova o regulamento técnico de substâncias bioativase probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. DiarioOficial da União, Brasilia .
4. Aguilar,G.S.;Dawson,H.;Restrepo,M.;Andrews,K.;Vinyard,B.,Joseph, F.,(2008)-Detection of *Bifidobacterium animalis subsp Lactis (Bb12)* inhentestine after Feeding of Sow and Their piglets.Applied and Environment Microbiology.,74(20):6338 – 6347.
5. Aider,M.;de Halleux D.,(2007)-Isomerization of lactose and lactulose production: review.Trends in Food Science and Technology.,18(34): 356-364.
6. Ainaz,A.;Ehsani,M.R.,(2008)-Probiotic survival in yogurt made from ultrafiltered skim milk during refrigeration storage. Research Journal of BiologicalScience.,3(10):1163-1165.ajiaminoacids.com.(2010). Retrieved 5th May, 2010 from http://www.ajiaminoacids.com/product/l-cysteine%20hydrochloride%20monohydrate.aspx?MaterialNo=30341.
7. Alander,M.;Matto,J.;Kneif,W.;Johansson,M.;Kogler,B.;Crittenden,R., (2001)- Effect of galacto-oligosaccharide supplementation on human faecal microoflora and on survive and persistence of *Bifidobacterium lactis Bb12* in gastrointestinal tract.,International Dairy Journal.,11(8):817-825.
8. Aly,S.;E.A.Galal.;Neimat,A.;Elewa.,(2004)-Carrot Yoghurt: Sensory, Chemical,Microbiological Properties and Consumer Acceptance. Pakistan Journal of Nutrition .,3 (6): 322-330.
9. Aly,A.,(2007)-Characterization of a Bacteriocin-Like Inhibitory Substance Produced by *Lactobacillus plantarum* Isolated from Egyptian Home-Made Yogurt. Science. Asia.,Vol.33(5):313-319.
10. Ananta,E.;Volkert,M.;Knorr,D.,(2005)-Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus GG*,Journal Dairy Science.,1(8):399-409.
11. Ando, H.;Adachi,M;Umeda,K.;Matsuura,A.;Nonaka,M.;Uchio,R.;Tanaka H and Motoki M.,(1989)-Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms.Agricultural and Biological Chemistry.,53(3):2613–2617.

12. Ankri,S.;Mirelman,D.,(1999)-Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes Infect.,1(8):125-129.
13. Anonymous,D.,(2002)-Morinaga Milk Industry finds whey protein lowers cholesterol in human.Comline:Biotechnology and Medical Industry of Japan.,Vol.10(5):31.
14. Arestrup,F.M.;Jensen,N.,(2000)-Development of penicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Denmark and other countries.J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.,Vol.47(7):99-103.
15. Arunachalm,K.D.,(1999)-Role of *bifidobacteria* in nutrition,medicine and technology. Nutr. Res.,19(6):1559-1597.
16. Association of Official Analytical Chemists (AOAC).,(2002)- Official Methods of Analysis,16th Edition.Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington,Virginia.,USA.
17. Ballongue, J.,(2004)- *Bifidobacteria* and Probiotic Action. In Salmien,S., Wright,A.V.,Ouwehand, A., (Eds.), *Lactic Acid Bacteria* Microbiological and Functional Aspects New York, US: Marcel Dekker Inc. pp.,67-123.
18. Banerjee,M.;Sarkar,P.K.,(2003)-Inhibitory effect of garlic on bacterial pathogens from spices.World J. Microbiol. Biotechnol.,19(8):565-569.
19. Beatriz,C.;Patricia,F.;Ulrich,K.;Martin,B.,(2006)- Effect of the protein addition on the structure of set style and stirred yoghurt with and without the use of transglutaminasea.,Food Engineering Department,Pontificia Universidad Catolica de Valparaíso,Waddington 716 Valparaiso, USA .
20. Bell,C.;Neaves,P.;Williams,A.P.,(2005)-Food Microbiology and Laboratory Practice. (1st ed). Oxford, U.K.:Blackwell Publishing Ltd. p. 21 – 39.
21. Benech,O.;Kheadr,E.; Laridir, R.,(2002)-Inhibition of Listeria innocua in yogurt by Addition of Nisin Z in Liposomes or by In Situ Production in Mixed Culture. Appl Environ Microbiol,Vol.68(7):3683-3690.
22. Berhoud,H.;Chavagnat,.F.;Haueter,M.;Casey,M.G.,(2005)-Comparison of partial gene sequences encoding aphophoketolase for the identification bifidobcteria, Lebensmittel Wissenschafiund –Technologe,38(1):101-105.
23. Birollo,G.A.;Reinheimer,J.A.;Vinderola C.G.,(2000)-Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. Food Res. Int.,33(5):799-805.
24. Blickstad,E.;Enfors,S.O.;Molin,G.,(2008)-Effect of hyperbaric carbon dioxide pressure on the microbial flora of yogurt stored at 4 or 14Cº. J. Appl. Bacteriol.,50(6):493-504.
25. Bolduc,M-P.;Bazinet,L.;Lessard,J.;Chapuzat,J-M.;Vuillemard,J-C, (2006)-Electrochemical modification of the redox potential of pasteurized milk and its evolution during storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry,54 (13):4651-4657.

26. Bonczar,G.;Wszolek,M.;Siuta,A.,(2002)-The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from cow milk.Food Chem.,79(7):85-91.
27. Bongaerts,G.;Severijnenb,R.;Timmerman,H.,(2005)- Effect of antibiotics, prebiotics and probiotics in treatment for hepatic encephalopathy. Medical Hypotheses.,64(5):64–68.
28. Bouhnik,Y.;Raskine,L.;Simoneau,G.;Paineau,D;Bornet,F.,(2006)-The capacity of short chain fructo-oligosaccharides to stimulate faecal *bifidobacteria* adose response relationship study in healthy humans, Nutrition Journal.,5(5):8.
29. Bounous,G.,Baruchel,S.,(2003)-Whey proteins as a food supplement in HIV-seropositive individuals. Clinical Investigative Medicine,Vol.1(7):24-29.
30. Boylston,T.D.;Vinderola,C.G.;Reinheimer,d.A.,(2004)-Incorporation of *bifidobacterium* into cheese challenges and rewards, International Dairy Journal.,14(7):375-387.
31. BulletinFIL/IDF.,(2003)-Cultured dairy foods in human nutrition.Doc. 1:59.
32. Carlsen,B.,(2001)-The role of lactic bacteria in the prevention and the treatment of diseases.The Nutrition Digest of Essential Nutrients, (B.CARLSEN) published by:Enerex Botanicals,Volume1,Canada,164-165.
33. Casas,I.;Dobrogosz,W.,(2000)-Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad spectrum protection against disease in humans and animals. Microbial Ecology of Health Diseases.,Vol.12(6):24-28.
34. CDC(Centre for Disease Control and Prevention).,(2002)-Draft Assessment of the Relative Riske to Public Health from Foodborne Listeria monocytogenes Among Selected Categories of Ready to Eat .
35. CFR 131.200.,(2009)-Electronic Code of Federal Regulation, Title 21, Volume 2, Chapter 1. Retrieved 6th Nov., 2009 from .
36. Champagne, CP.;Gardner,NJ.;Roy,D.,(2005)-Challenges in the addition of probiotic cultures to foods.Crit Rev,Food Science Nutrition,4(5):,61-84.
37. Chandan,R.C.,(2006a)-History and consumption trends. In Chandan, R.C. (Ed.), Manufacturing yogurt and fermented milks, (1st ed) (pp. 3-15). Oxford U.K.: Blackwell Publishing Ltd.
38. Chandan,R.C.,(2006b)-Milk composition,physical and processing characteristics.In Chandan,R.C.(Ed.),Manufacturing yogurt and fermented milks, (1st ed) (pp. 17-40). Oxford U.K.: Blackwell Publishing Ltd.
39. Chandan,R.C.;Orell,K.R.,(2006b)-Principles of yogurt processing.In Chandan, R.C. (Ed.), Manufacturing yogurt and fermented Milks, (1st ed) (pp. 195-209). Oxford U.K.: Blackwell Publishing Ltd.

40. Charteries,W.P.;Kelly,P.M.;Morelli,and Collins,K.,(1997)- Selective detection,numeration and identifaction of potentially probiotics *Lactobacillus* and *Bifidobacteria* species in mixed bacterial population. Food Micro.,35(1):1-27.
41. Cheftel,J.C.,(2005)-Effect of high hydrostatic pressure on food constituents: an overview. in: High Pressure and Biotechnology. (eds. C. Balny, R. Hayashi,K.Heremans,P.Masson).Colloque INSERM,John Libbey Eurotext Ltd.London.,Vol 224(7):195-209.
42. Chen,J.H.;Hotchkiss, J. H.,(2003)-Growth of Listeria monocytogenes and Clostridium sporogenes in cottage cheese in modified atmosphere packaging. J. Dairy Science.,76(8):972-977.
43. Cheng,R.,Sandine,W.E.,(1989)-Growth characteristics of *Bifidobacteria* species in whey base medium,Journal of Dairy Science.,72(8):148 .
44. Choi,H.S.,Kosikowski,F.V.,(2005)-Sweetened plain and flavored carbonated yogurt beverages. J. Dairy Science.,68(8):613-619.
45. Chou, L.S.,Weimer,B..,(1999)- Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Science.,82(1):23-31.
46. Dainty,R.H.,(2001)-The control and evaluation of spoilage.J.Food Technol.,6(7):209-224.
47. Daniels,J.A.;Krishnamurthi,R.;Rizvi,S.S.H.,(2005)-A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality.J.Food Prot.,48(5):532-537.
48. Dave,R.I.;Shah ,N.P.,(1997)-Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures.Intl.J. Dairy.,7(3) :31-41.
49. Dave,R.I.;Shah,N.P.,(1997a)- Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. International Dairy Journal,7(6): 435-443.
50. Dave,R.I.;Shah,N.P.,(1997c)-Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal,7(1): 31-41.
51. Dave,R.;Shah,N.P.,(1998)-Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J Dairy Science.,81(8): 8-16.
52. Davidson,P.M.;Juneja,V.K.,(2009)-Antimicrobial agents . in Food Additives. A. L. Branen,P. M. Davidson, and S. Salminen, ed. Marcel Dekker, New York, NY.Pages 83-137.
53. David, K.;Persis,S.,(2000)- The stability and shelf-life of food Published by Woodhead Publishing Limited Abington Hall, Abington Cambridge CB1 6AH England Published in North and South America by CRC Press LLC 2000 Corporate Blvd, NWBoca Raton FL 33431.,USA.

54. Davis,J.G.,(1975)-The microbiology of yoghurt.In Carr,J.G.,Cutting, C.V.,Whiting,G.C.(Ed), *Lactic Acid Bacteria* in Beverages and Food, (pp. 245-263). New York, NY, USA:Academic Press Inc.
55. De Ancos,B.;Cano, P.M.;Gmez R.,(2000)-Characteristics of stirred low-fat yoghurt as affected by high pressure. Int. Dairy J.,10(8):105-111.
56. De Brabandere,A.G.;De Baerdemaeker,J.G.,(2009)-Effects of process conditions on the pH development during yoghurt fermentation. J. Food Eng.,41(7):221-227.
57. Desmond,C.;Ross,R.P.;callaghan,E.;Fitzgerald,G.;Stanton,C.,(2000)-survival of *Lactobacillus paracasei NFBC 338* in spray-dried powder cantaining gum acaciaI,Journal Microbiological.,93(7):1003-1011.
58. Dickinson,E.,(1997)-Enzymic crosslinking as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization.Trends in Food Science and Technology.,10(6):333–339.
59. Doleyres,Y.;Lacroi,X.,(2005)-Technologies with free and immobilized Improved for probiotics *bifidobacteria* production and protection, International Dairy Jaurnal.,15(7):973 - 988.
60. Donkor,O.N.;Henriksson,A.;Vasiljevic,T.;Shah,N.P.,(2006)-Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. International Dairy Journal.,16(10):1181-1189.
61. Donkor,O.N.;Nilmini,S.L.I.;Stolic,P.;Vasiljevic,T.;Shah,P.,(2007)-Survival and activity of selected probiotic organisms in set type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal.,17(5): 657-665.
62. Dorant,E.; van den Brandt,P.A.;Goldbohm,R.A.;Hermus,R.J.;Sturmans, F.,(1993)-Garlic and its significance for the prevention of cancer in humans: a critical view. Br. J.Cancer.,67(6): 424- 429.
63. EL-Dieb,S.;AbdAl-Fattah,M.D.;AbdAl-Fattah,S.D.;(1997)-The antibacterial and antifungal effect of carrot.Journal of Food Biotechnolge.,22(2):155-162.
64. Elsoda,M.;Pandiam,A.,(2002)- Recent developments in Yogurt ripening . J.Dairy Science,Vol.74(6):23-17 .
65. ERS(Economic Research Service).,(2009)-U.S.Department ofAgriculture. Retrieved 3rd Dec., 2009 from.
66. Faergemand,M.;Otte,J.,;Qvist,K.B.,(1998b)-Cross-linking of Mwhey proteins by enzymatic oxidation. Journal of Agricultural and Food Chemistry.,46(6):1326–1333.
67. Faergemand,M.;Murray,B.S.;Dickinson,E.;Qvist,K.B.,(1999a)-Cross-linking of adsorbed casein films with transglutaminase.International Dairy Journal.,9(5):343–346.
68. Fairbairn,D. J.;B. A. Law.,(2006)- Proteinases of psychrotrophic bacteria: their production, properties, effects, and control. J.Dairy Res.,53(7):139-177.

69. FAO/WHO,Guidelines for the evaluation of probiotics in food, Joint FAO/WHO,(2002)-working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, ON, Canada, April 30th andMay1st.
70. Farnsworth,J.P;J.Lia,G.M.;Hendricks,b.;M.R.Guoa.,(2009)-Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of yogurt.Small Ruminant Research.,65(6):113-121.
71. Ferragut,V.;Martinez.,V.M.;Trujillo,A.J.;Guamis,B.,(2000)- Properties of yoghurts made from whole milk treated by high pressure. Milchwissenschaft.,55(7):267-269.
72. Fesus,L.;Piacentini, M.,(2002)-Transglutaminase 2:anenigmatic enzyme with diverse functions. Trends in Biochemical Sciences.,27(8):534–539.
73. Foley, J.et al.,(2009)-Hydrocolloid Stabilisation and Heat Treatment For Prolonging Shelf life of Drinking Yogurt and Cultured Butter Milk. Irish Journal of Food Science and Technology,13(7):43-50 .
74. Frank,J.F.;Hassan,A.N.,(1998)-Starter cultures and their use. In Marth, E.H;Steele, J.L.(Eds.), Applied Dairy Microbiology, (1st ed) (pp. 131-172). New York, NY, USA: Marcel Dekker, Inc.
75. Fuller,R.;Gibson,S.,(2007)-Modification of the intestinal flora using probiotics and prebioticss.Scandinavian J.Gastroenterology,Vol.32(6):28-31.
76. Gandhi,D.N.;Ghodekar,D.R.,(2008)-Antibacterial activity of garlic extract against *lactic acid bacteria* and contaminants of fermented milks. Indian J. Dairy Science.,41(9): 511-512.
77. Garver,K.,(2004)-Purification and amino acid sequence of curvaticin FS47,A heat stable bacteriocin produced by *Lactobacillus curvatus FS47*.Appl. Environ. Microbiol.,Vol.60(8):2191-2195.
78. Giandomenico,V.;Andreola,F.;Concepcion,M.L.R.;Collins,S.J.;Luca,L. M.D,(1999)-Retinoic acid and 4-hydroxyphenylretinamide induce growth inhibition and tissue transglutaminase through different signal transduction pathways in mouse fibroblasts(NIH 3T3 cells).Carcinogenesis.,20(5):1133–1135.
79. Gilland,S.S.;Reilly,G.B.;Kim,H.S.,(2002)-Viability during storage of selected probiotic *lactobacilli* and *bifidobacteria* in a yoghurt-like product. J. Food Science.,67(7):3091-3095.
80. Gilliland,E.,Nilson, R.;Maxwell,C.,(2005)- Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*.Appl. Environ. Microbiol.,Vol.5(7):49.
81. Glass,K.A.;Bishop,J.L.,(2007)-Factors that contribute to the microbial safety of commercial yogurt. Food Protection Trends, 27 (1):380-388.
82. Gobbetti,M.A.;Corsetti,E.;Smacchi,A.;Zocchetti,D.;Angelis,M.D., (1998)-Production of Crescenza cheese by incorporation of Bifidobacteria, Journal Dairy Science.,81(8):37 – 47.

83. Gravesen,A.;Jydegaard,A.M.;Mendes,J.,(2002)-Frequency of Bacteriocin Resistance Development and Associated Fitness Costs in Listeria monocytogenes. Applied and Environnental Microbiolgy,Vol.68(7):75 – 76.
84. Gundogdu,E.,Songül,Ç;Elida,G.,(2009)-The Effect of Garlic (Allium sativum L.) on Some Quality Properties and Shelf-Life of Set and Stirred Yoghurt., Turk. J. Vet. Anim. Science.,33(1):27-35.
85. Hamilton-Miller,J.M.T.;Gibson,G.R.;Bruck,W.,(2003)- Some insight into the derivation and early uses of the word 'probiotic'. British Journal of Nutrition.,90(6):8-45.
86. Haschke,F.,Wang,W.;Ping,G.;Varavithya,W.;Podhipak,A.;Rochat,f.; Link-Amster,H.;Pfeifer,A.,(1998)-Clinical trials prove the safety and efficacy of the probitic strain *Bifidobacterium Bb12* in follow–up formula and growing –up milk, Momatsschr kinderheikd.,146(7):265-305.
87. Hashimoto,T.,Nagayama,T.,(2004)- Chemical composition of ready to eat fresh carrot. J. Food Hyg. Soc. Japan, 39(8):324-328.
88. Hayakawa ,I., Kanno,T., Tomita,P., Fujio,Y.,(2004)- Application of high pressure: for spore inactivation and protein denaturation.J.Food Science.,59(8):159-163.
89. Hayes,R.,(2007)- Lawsuit claims Pinkberry isn`t yogurt. ABC 7 News (KABC-TV, Los Angeles, CA). Retrieved 16th Nov., 2009 from.
90. Hartemink,R.;Kok,B.J.;Weekn,G.H.;Rombouts,F.M.,(1996)-Raffinose *Bifidobacterium* agar,new selective medium for *bifidobactera*.Journal of Microbiology Methods.,27(8):33-43.
91. Holt,J.G.;Krieg,N.R.;Sneath,P.H.A.;Staly,J.T.,(1994)-Bergegs Manual Of Systematic Bacteriology 9th ,Williams and Wilkins,Baltimore 418 – 543.
92. Holzapfel,W.H.; Haberer,P.; Snel,J.; Schillinger, U.; Huisin't Veld J.H.J.,(1998)-Overview of gut flora and probiotics. International Journal of Food Microbiology.,41(8):85-101.
93. Hughes,D.B.;Hoover, D.G.,(1991)- *Bifidobacteria*:their potential for use in American dairy products. Food Technol.,45(2):74-83.
94. IFM (International Association of Infant Food Manufacturers). ,(2004)-Fermented milk products in infant nutrition. Report prepared by advisory committee on Child Health and Nutrition. Retrieved 6th Nov., 2009 from http://www.ifm.net/industry/fermented_milk.htm.
95. IFT.(2003)-Factors that influence microbial growth. In Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.Vol.2 (Supplement),21-32. Retrieved on 30th Oct., 2009 from .
96. Ikken,Y.,I.;Cambero,M.;Marin,A.;Martner,I.;Hars and P.Morales., (1998)-Antimutagenic effect of fruit and vegetable aqueous extracts against Nnitrosamine evaluated by the Amestest.J. Agricultural and Biological Chemistry., 46(4):5194-5200.

97. Ikura,K.;Kometani,T.;Yoshikawa,M.;Sasaki,R.;Chiba,H.,(1980)-Cross-linking of casein components by transglutaminase. Agricultural and Biological Chemistry.,44(3):567–1573.
98. Jamuma,M.;Jeevaratnam,K.,(2004)-Isolationa and characterization of *Lactobacilli* from some traditional fermented foods and evaluation of the bacteriocins,Journal of General and Applied Microbiology.,50(1):79-90.
99. Jarvenpaa,S.;Tahvonen.R.L.;ouweh,A.C .;Sandell-M-jarven paa,E.; Salminet,S.,(2007)-Aprobiotic *Lactobacillus* Fermentum ME3,Has Antioxidative Capacity in Softcheese Spread with Different Fats, journal Dairy Science.,90(4):3171 – 3177.
100. Jiang,ST.;Hsieh,F.;Ho,M.L;Chung,Y.C.,(2000)-Combination effects of microbial transglutaminase, reducing agent, and protease inhibitor on the quality of hairtail surimi. Journal of Food Science.,65(7): 241–245.
101. Johnston,D.E.;Austin,B.A.;Murphy,R.J.,(2002)-The effects of high pressure treatment of skim milk, in: High Pressure and Biotechnology. (eds. C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans, P. Masson).Colloque INSERM, John Libbey Eurotext Ltd., London,Vol. 224(7);243-247.
102. Johnston,D.E.;Austin,B.A.;MurpHy,R.J.,(2003)-Properties of acid-set gels prepared from high pressure treated skim milk.Milchwissen schaft.,48(8): 206-209.
103. Johnston,D.E.;Austin,B.A.;MurpHy,R.J.,(2005)-High pressure effects on milk and meat.,in:High Pressure Processing of Foods (eds. D.A.Ledward,D.E.Johnston,R.G.Earnshaw, A.M.P. Hasting). Nottingham University Press, Loughborough, England.,pp: 99-122.
104. Kailasapathy,K.,(2006)-Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on sensory properties of yoghurt.LWT.,39(8): 1221-1227.
105. Kanaji,T.;Ozaki,H.;Takao,T.;Kawajiri,H.;Ide,H;Motoki,M;Shimon ishi,Y.,(1993)-Primary structure of microbial transglutaminase from Streptoverticillium sp.Strains-8112.Journal of Biological Chemistry.,268(8):11565–11572.
106. Kang,H.;Cho,Y.D.,(1996)-Purification and properties of transglutaminase from soybean (Glycine max) leaves.Biochemical and Biophysical Research Communications.,223(8):288–292.
107. Kindstedt,P.S.; Fox, P.F.,(1991)-Modified Gerber test for Free Oil In yoghurt, Journal Food Science,56(4):1115 – 1116.
108. King,A.D.;Nagel,C.W.,(2007)-Growth inhibition of Pseudomonas by carbon dioxide. J. Food Science.,32(8):575-579.
109. Klein,G.;Pack,A.;Bonaparte,C.;Reuter,G.,(1998)-Taxonomy and physiology of probiotic *lactic acid bacteria*, International Journal of Food Microbiology.,41(1):103 -125.

110. Kontula,P.;Suihko,M.L.;Wright,A.;Mattila-Sandholm,T.,(1999)-The effect of lactose derivatives on intestinal *lactic acid bacteria*. Journal of Dairy Science.,82(2):249-256.
111. Krig,S.R.;Rice,R.H.,(2000)-TCDD suppression of tissue transglutaminase stimulation by retinoids in malignant human keratinocytes. Toxicological Sciences.,56(4):357–364.
112. Kumar,P.;Mishra,H.N.,(2004)-Yoghurt powder:a review of process technology storage and utilization.Food Bioprod. Process.,82(8):133-142.
113. Lawless,H.T;Heymann,H.,(1999)-The Sensory Evaluation of Food Principle and Practice. International food Journal.,17(2):11-13.
114. Lievin,V.;Peiffer,I.;Hudaulat,S.;Rochat,F.;Brassart,D.;Neeser,J.R.; Servin,A.L.,(2000)- *Bifidobacterium* strains from resident infant human gastrointestinal will microflora exert antimicrobial activity Gut.,47(5):646- 652.
115. Lourens-Hattingh,A.;Viljoen,B.C.,(2001)-Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal.,11(1):1-7.
116. Marks, J.,(2004)- Successful probiotic *Bifidobacteria*. In Shortt,C, Obrien, J.(Eds.), Handbook of Functional Dairy Products,(1st ed) (pp. 13-32) New York, NY:CRC Press.
117. Martirani,L.;Varcamonti,M.;Naclerio,G.,(2002)-Purification and partial characterization of bacillocin 490, a novel bacteriocin produced by a thermophilic strain of Bacillus licheniformis.Microb Cell Fact,Vol.18(8):11-21.
118. Massey,L.K.,(2003)-High impact polystyrene (HIPS).In Permeability Properties of Plastics and Elastomers: A Guide to Packaging and Barrier Materials, (2nd ed) (pp. 315-316). Norwich, NY, USA: William Andrew Publishing.
119. Mattila-Sandholm,T.;Myllärinen,P.;Crittenden,R.;Fondén,R.; Saarela,M.,(2002)-Technological challenges for future probiotic foods. International Dairy Journal.,12(8):173-182.
120. Mccann,T.;Egan,T.;Weber,G.H..,(1996)-Assay procedures for commercial probiotic cultures. J. Food Prot.,59(1): 41-45.
121. Mckinley,M.C.,(2005)-The nutrition and health benefits of yoghurt. International Journal of Dairy Technology, 58 (1),1-12.
122. Mishra,C.;Johan,A.;Lambert,J.,(2004)-Production of anti-icrobial substances by probiotics. Asia Pacific J Clin Nutr,Vol.5(8):20-24 .
123. Modler,W.;Larmond,C.S.;Froehlich,M.,(2000)-Physical and sensory properties of yoghurt stabilized with milk proteins. Journal of Dairy Science.,Vol.66(4):42-49
124. Modler,H.;Kalab,M.,(2009)-Micro structure of yogurt stabilized with milk protein. J. Dairy Science.,Vol. 66(4):30-37.
125. Moller,C.;de Verse,M.,(2004)- Review :probiotic effect of selected acid bacteria, Milchwissenschaft.,59(7):597-600.

126. Moreira,M.;Abraham,A.;Antoni,G.,(2000)-Technological properties of milks fermented with thermophilic lactic acid bacteria at suboptimal temperature. J.Dairy Science.,83(1):395–400.
127. Mortazavian,A.M.; Ehsani, M.R.; Mousavi,S.M;Sohrabcvandi,S.; Reinheimer,J.A.,(2006b)-Combined effects of temperature-related variables on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. The Australian Journal of Dairy Science.,61(3):248-252.
128. Motoki,M.;Okiyama,A.;Nonaka,M.;Tanaka,H.;Uchio,R.;Matsuura, A.;Ando,H.,;Umeda,K.,(1990)-Novel transglutaminase.European Patent Application EP 0 379 606A1, EP 89-101143 (19890123) Ajinomoto, Tokyo 104,Japan.
129. Motoki,M.;Seguro,K.,(1998)-Transglutaminase and its use for food processing. Trends in Food Science and Technology.,9(2):204–210.
130. Ndambi,O.A et al.,(2008)-Effects of milk preservation using the lactoperoxidase system on processed yogurt and cheese quality African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and development.1:22.
131. Needs,E.C.;Capellas,M.;Bland,A.P.;Manoj,P.;Mac Dougal,D.;Paul, G.,(2000)-Comparison of heat and pressure treatments of skim milk, fortified with whey protein concentrate, for set yoghurt preparation: Effect on milk, proteins and gel structure. J. Dairy Res.,67(1):329-348.
132. Nielsen,P.V.;Rios,R.,(2000)-Inhibition of fungal growth on yogurt by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. Int. J. Food Microbiol., 60(3):219-229.
133. Nieuwenhuizen,W.F.;Dekker,H.L.;Gröneveld,T.;Koster,C.G.; Jong G.A.H.,(2004)-Transglutaminase-mediated modification of glutamine and lysine residues in native bovine β-lactoglobulin.Biotechnology and Bioengineering.,85(1):248–258
134. Nuutila,A.M.;Puupponen-Pimi,R.;Aarni,M.;Oksman-Caldentey, K.M.,(2003)-Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity.Food Chem.,81(7):485-493.
135. Nyati,H.,(2000)-Method for production of yoghurt with vegetable pastes. Journal of Food Biotechnol.,11(1):471-476.
136. NYA (National Yogurt Association).,(2009)-Retrieved 18th Nov.
137. Ogden,L.V.,(2007)-Process to produce carbonated semi-solid or solid food and the product thereof. Brigham Young Univ. Provo,UT, assignee. US Pat. No.,5:624-700.
138. OIE(office International des Epizooties).,(2002)-Pathogenic micro-organisms Millk and Dairy Products the Situation in France and Europe 16:452-471.

139. Okonogi,S.;Ono,J.;Kudo,T.;Hiramastu,A.;Teraguchi,S.,(1994)-*Streptococcu thermophilus* strain ahigh oxygen consuming ability used for protecting microorganisms anaerobic ,Japanese patent # J5208-5288.
140. Olano, A.;Corzo,N.,(2009)- Lactulose as a food ingredient. Journal of the Science of Food and Agriculture.,89(1):1987-1990.
141. Ong,L.;Henriksson,A.;Shah,N.P.,(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(2):446-456.
142. Ong,L.;Henriksson,A.;Shah,N.P.,(2007)-Chemical analysis and sensory evaluation of yoghurt produced with *Lb. acidophilus ,Lb. paracasei,Lb.casei* and *Bifidobacterium* sp.International Dairy Journal.,17(7):937-945.
143. Oppenheim,R.,(2009)-Yogurt maker Dannon settles Activia lawsuit. California Business Litigation Blog. Retrieved 16th Nov., 2009.
144. Oram ,J.;Reiter,B.,(2008)-Inhibition of bacteria by lactoferrin and other iron-chelating agents.Biochemical Biophysics Acta.,17(2):30-35.
145. Ouwehand,A.C.;Kirjavainen,P.V.;Shortt,C.;Salminen,S.,(1999)-Probiotics: mechanisms and established effects. International Dairy Journal .,9(1):43-52.
146. Ouwehand,A.C.;Vesterlund,S.,(2004)-Antimicrobial components from *lactic acid bacteria*.In Salmien,S.,Wright,A.V.,Ouwehan, A.(Eds.),Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects(pp 375-389). New York, US: Marcel Dekker.
147. PMO (Grade "A" Pasteurized Milk Ordinance)., (2007)-Cooling of milk and milk products. U.S. Department of Health and Human Health service Food and Drug Administration. (pp. 106-117).nal,8:993-1002.
148. Prasad,J.,Gill,H.;Samart,J.;Gopal,P.K.,(1998)-Selection and charactersation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strain for use as probiotics,international Dairy Journal.,1(3):22-44.
149. Rahman,K.,(2001)-Historical perspective on garlic and cardiovascular disease. J. Nutr.,131(1): 977-979.
150. Rao,.A.V.;Shiwnarain,N.;Maharaj,I.,(1999)-Survival microencapsulated *Bifidobacterium* pseudolongum in simulated gastric and intestinal juices. Canadian Institute of Food Science and Technology Journal ,22(1):345-349.
151. Raum,R.,(2003)-Microbiological quality of health food and organic foods. Neth. Milk Dairy Journal.,14(8):130-134.
152. Ray,B.,(2004)-Factors influencing microbial growth in food. In Fundamental Food Microbiology. (3rd ed) (pp. 67-80). Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

153. Rees,L.P.;Minney,S.F.;Plummer,N.T.;Slater,J.H.;Skyrme,D.A.; (2009)- A quantitative assessment of the antimicrobial activity of garlic (Allium sativum). World J. Microbiol. Biotechnol.,9(8): 303-307.
154. Reps, A.;Warmiska-Radyko,I.;Krzyewska, A.;Tomasik,J.,(2001)- Effect of high pressures on *Streptococcus thermophilus.* Milchwissenschaft.,56(8):131-133.
155. Reps,A.et al.,(2009)-The effect of high pressure on selected properties of yoghurt ,Journal of High Pressure Research, 29(1):33-37.
156. Ricardo, PD.; Ana,C.; Patrizia, P.;Maricê ,N.;Attilio,C.,(2010)-Use of lactulose as prebiotic and its influence on the growth, acidification profile and viable counts of different probiotics in fermented skim milk.International Journal of Food Microbiology.,1(8):1-6.
157. Roberts,W.A.,(2009)-Yogurt culture. Prepared Food Network. Retrieved16thNov.
158. Ross,R.P.;Desmond,C.;Fitzgerald,G.F.;Stanton,C.,(2005)- Overcoming the technology hurdles in the development of probiotic foods. Journal of Applied Microbiology.,98(6): 1410-1417.
159. Roy,D.,(2001)-Media for the isolation and enumeration of *bifidobacteria* in dairy products , international Journal Food Microbiol .,69(7):167-182 .
160. Ruas-Madiedo,P.;Bada-Gancedo,J.C.;E.Fernandez-Garcia,D.; Gonzales De Llano,and C. G. de Los Reyes-Gavilan.,(2006)-Preservation of the microbiological and biochemical quality of raw milk by carbon dioxide addition: a pilot-scale study. J. Food Prot.,59(7):502-508.
161. Saarela,M.G.;Morgensen,R.;Fonden,J.M.;Mattile,T.S.,(2007)- Probiotic bacteria safety functional and technology properties ,Journal Biotechology.,84(8):197-215.
162. Sako,T.;Matsumoto,K.;Tanaka,R.,(1999)-Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. International Dairy Journal.,9(8): 69-80.
163. Salminen,S.;Wright,A.,(2003)-*Lactic Acid Bacteria*.J.Marcel Dekker.,Vol.5(8):127-160 .
164. Sanders, M.E.,(1993)- Effect of Consumption of lactic cultures on human health. Adv. Food. Nutr.,37(5):67-130.
165. Sanders,M.E.,(2003)-Probiotic considerations for human heatlh, Nutrition Reviews.,61(3):91-99.
166. Sarkar,S.,(2008)-Effect of probiotics on biotechnological characteristics of yoghurt - a review.British Food Journal,110(7):717-740.
167. Schieber,A.;Marx,M.;Carle,R.,(2002)- Simultaneous determination of carotenes tocopherol in ATBC drinks by high-performance liquid chromatography.Food Chem.,76(1): 357-362.
168. Serafini-Fracassini,D.;DelDuca,S.;Beninati,S.,(1995)-Plant transglutaminases. Phytochemistry.,40(1):355–365.

169. Serra,M.;Trujillo,A.J.;Guamis,B.;Ferragut,V.,(2009)-Proteolysis of yogurts made from ultra-high-pressure homogenized milk during cold storage. Journal of Dairy Science., 92 (1):71-78.
170. Shah,N.P.,(1999)-Probiotic Bacteria:Antimicrobial and antimutagenic properties, probiotic,6(5):268-271.
171. Shah, N.P.,(2000)-Probiotic bacteria Selective enumeration and survival in dairy food, Journal of Dairy Science.,83(3):894-907.
172. Shah,N.P,(2004)- Probiotic and prebiotic Agro-food industry Hi-Tech., 15(12):13-16
173. Shah,N.P.,(2006)-Health benefits of yoghurt and fermented milks Blackwell publishing professional low USA.,237- 240.
174. Shah,N.P.,(2006b)-Probiotics and fermented milk. In Chandan R.C. (Ed.), Manufacturing Yogurt and Fermented Milk, (1st ed) (pp. 341-354) Oxford, U.K.: Blackwell Publishing Ltd.
175. Sharpe,M.E.,(2008)-*Lactic Acid Bacteria* in the Dairy Industry.Journal of the Scoity of Dairy Technology.,Vol. 32(5): 9 -18.
176. Sheu,T.Y.; Marshall. R.T.,(1993)- Micro entrapment of lactobacilli in calcium alginate gels. J. Food Science.,54(7): 557-561.
177. Shibario,S.,M;Upadhaya and P. Toivonen,(2008)-Yoghurt and shelf life time extending. J. Hort. Science.Biotec.,73(7): 862-866.
178. Shihata,A.;Shah,N.P,(2000)-Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. International Dairy Journal,10 (5): 401-408.
179. Singleton, P.;Sainsbury, D.,(1987)- Dictionary of microbiology and molecular biology. (2nd ed) (pp. 847-849, 966-967). Bath, Avon, Great Britain: A Wiley-Interscience Publication.
180. Simova,E.D.;Frengova,G.T.;Beshkova,D.M.,(2004)-Synthesis of carotenoids by rhodotorula rubra cultured with yoghurt starter whey ultra filtrate. J.Soc. Dairy Tec.,31(1):115-121.
181. Steinhauer, J.,(2008)-Pinkberry settles suit over claims on dessert. The New York Times, Los Angeles, CA. Retrieved 16th Nov., 2009 from http://www.nytimes.com/2008/04/12/us/12pink.html.
182. Strohmaier,W.,(1998)-Lactulose:status of health-related applications.International Dairy Federation 262-271 Bulletin no. 9804.
183. Suzuki,A.,(2002)- High pressure-processed food in Japan and 84 A. Jankowska et al. the world, in: Trends in High Pressure Bioscience and Biotechnology (eds. R. Hayashi). Elsevier Science B.V., Amsterdam, Holland.,1(7):365-374.
184. Tabasco,R.,Paarup,R.;Janer,C.;Pelaez,C.;Requena,T.,(2007)-Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Strptococcus thermophilus,Lactobacilus bulgaricus,L.acidophilus L.Parcasei subsp paracasei* and *Bifidobacterium* lactis in fermented milk, Internatioal Dairy Journal.,17(8):1107- 1114.

185. Tamime,A.Y.;Deeth,H.C.,(1980)- Yogurt : technology and biochemistry. Journal of Food Protection., 43(12):939-977.
186. Tamime,A.Y.;Deeth,H.C.,(1999a)- Yogurt : technology and biochemistry. Journal of Food Protection., 43 (12):939-977.
187. Tamime,A.Y.;Marshall,V.E.;Robinson,R.K.,(1995)- Microbiological and technological aspects of milk fermented by Bifidobacteria, Journal Dairy Res.,62(7):151-187.
188. Tamime,A.Y.;Robinson,R.K.,(1999a)-Background to manufacturing practice. In Yoghurt Science and Technology, (2nd ed) (pp. 11-128). Exeter, England: A. Wheaton and Co. Ltd./Pergamon Press Ltd.
189. Tamime,A.Y.;Robinson,R.K.,(1999b)-Microbiology of yoghurt and "bio" starter cultures. In Yoghurt Science and Technology, (2nd ed) (pp. 389-431). Exeter, England: A. Wheaton and Co. Ltd./Pergamon Press Ltd.
190. Tamime,A.Y.;Robinson,R.K.,(1999d)-Historical Background. In Yoghurt Science and Technology, (2nd ed) (pp. 1-10). Exeter, England: A. Wheaton and Co. Ltd./Pergamon Press Ltd.
191. Tamime,A.Y.,(2002)-Microbiology starter culture.In k.robinson (Ed),Dairy microbiology handbook (3rd ed.)NewYourK, NY.wiley.,361-366.
192. Tamime,A.Y.;Robinson,R.,(2003)-Yogurt,Scienceand Technology. J. Food Science,Vol.1(4):60-80.
193. Tamine,A.Y.;Deth,H.C.,(2008)-Yoghurt technology and biochemistry. Food Protection.,43(1):939-977.
194. Talwalkar,A.;Miller,C.W.;Kailasapathy,K.;Nguyen,M.H.,(2004)- Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. International Journal of Food Science and Technology., 39(6): 605-611.
195. Tamura,Y.;Mizota,T.; Shimamura,S.;Tomita,M.,(1993)-Lactulose and its application to the food and pharmaceutical industries. International Dairy Federation Bulletin., 289(1): 43-53.
196. Tanaka,T.;Hatanaka,K.,(2002)-Application of hydrostatic pressure to yoghurt to prevent its after acidification.J.Jap.Soc.Food Science.and Technol.,39(7):173-177.
197. Tenbrink,B.;Minekus,M.,(2004)-Antimicrobial activity of lactobacilli: preliminary characterization and optimization of production of acidocin B., a novel bacteriocin produced by *L.acidophilus M46*. J.Appl. Bacteriol,Vol.77(5)140-148.
198. Tieking,M.;Kaditzky,S.;Valcheva,R.;Korakli,M.;Vogel,R.F.; Ganzle,M.G.,(2005)-Extracellular homopolysaccharides and oligosaccharides from intestinal *Lactobacilli* . Journal Appl Microbiol :99 (3) :692 -702.

199. Tsai,G.J.;Lin,S.M.;Jiang,S.T.,(1996)-Transglutaminase from Streptoverticillium ladakanum and application to minced fish product. Journal of Food Science .,61(8):1234–1238.
200. USA Today.,(2009)-Dannon settles lawsuit, to pay yogurt buyers $ 35 M. USA Today. White Plains, NY. Retrieved 16th Nov.,2009 from.
201. Van der Meulen,R.;Adriany,T.;Verbrugghe,K.;Dvuyst,L.,(2006)-Kinetic analysis of Bifidobacterial metabolism reveals a minor role for succinic acid in the refrigeration of NAD+ through its growth-associated production. Applied Environmental Microbiology.,72(8): 5204-5210.
202. Van Hylckama Vlieg ,J.E.T.;Hugenholtz,J.,(2007)- Mining natural diversity of *lactic acid bacteria* for flavour and health benefits. International Dairy Journal,Vol. 17(11):1290-1297.
203. Varadara,S.,(2008)-Cultural conditions for the production of bacteriocin by a native isolate of *Lactobacillus delbruecki SSp.bulgaricus* in milk medium. J. Appl.Microbiol,Vol.84(7):97-102.
204. Varnam,A.H.;Sutherland,J.P.,(2001b)-Concentrated and dried milk products. In Milk and Milk Products: Technology, Chemistry and Microbiology, Food Products Series, Volume 1, (1st ed) (pp. 103-158). Gaithersburg, MD, USA: Aspen Publishers Inc.
205. Vasiljevic,T.;Kealy,T.;Mishra,V.K.,(2007)-Effect of β-glucan addition to a probiotic containing yogurt. Journal of Food Science.,72 (7): 405-411.
206. Vasiljevic,T.;Shah,N.P.,(2008)-Probiotics from Metchnik off to bioactives. International Dairy Journal.,18(7):714-728.
207. Viljoen,B.C.;Lourens-Hattingh,A.;Ikalafeng,B.;Peter,G.,(2003)-Temperature abuse initiating yeast growth in yoghurt. Food Research International.,36 (2):193-197.
208. Wilhelm,B.,Meinhardt,A.;Seitz,J.,(1996)-Transglutaminases: purification and activity assays. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications.,684(8):163–177.
209. Wolfe, S. K.,(2008)-Use of CO- and CO_2-enriched atmospheres for meats, fish, and produce. Food Technol., 29(3):55-58.
210. Yeung,P.S.M.;Cano,R.;Tong,P.S.;Sander,M.E.,(1999)-Comparison of API 165-r DNA Sequencing and fatty acid analysis as method to spectiate commercial probiotic bacteria,Journal. Dairy Science.,1(7): 866.
211. Yildirim,M.,(1998)-New Biopolymers by Cross-Linking Whey Protein Isolate and Soybean 11S Globulin: Preparation and Properties. Department of Food Science, Universityof Arkansas, Arkansas., USA.
212. Yoobm,M.;Sidiq,N.,(2003)-Effect of different types of milk and stabilizers on the chemical composition of quality yoghurt. Sarhad Journal of Agriculture.,Vol.19(7): 21-28.

213. Young,P.S.M.;Sanders,M.E.;Kitts,G.L.;Cano,R.;Tong,P.S.., (2002)- Species-specific identification of commercial probiotic strains. J. Dairy Science.,85(7):1039-1051.
214. Yousef,Y.,(2000)-Stability and degradation of aflatoxin M1 in milk. In: Mycotoxins in dairy products (Egmond,V.ed.). Elsevier Applied Science Academic Press London, p:161-200.
215. Yousef,A.E.;Carlstrom,C.,(2003)-Food Microbiology.By Jhon Wiley and Sons, Inc.,1-3.
216. Zhu,Y.,Rinzema,A.;Tramper,J.;Bol,J.,(1995)-Microbial transglutaminase—a review of its production and application in food processing. Applied Microbiology and Biotechnology.,44(8):277–282.
217. Zhu,Y.,Rinzema.,A;Bonarius.,H.P.J.;Tramper,J.;Bol,J.,(1998)-Microbial transglutaminase production by Streptoverticillium mobaraense: analysis of amino acid metabolism using mass balances. Enzyme and Microbial Technology.,23(8):216–226.
218. Zhu,Y.,Rinzema,A.;Tramper,J.;Bol,J.,(2000)-Medium design based on stoichiometric analysis of microbial transglutaminase production by Streptoverticillium mobaraense.Biotechnology and Bioengineering.,50(4):291–298.
219. Zokaee,F.;Kaghazchi,T.;Zare,A.;Soleimani,M.,(2002)-Isomerization of lactose to lactulose-study and comparison of three catalytic systems. Process Biochemistry.,37(7):629-635.

Damascus university

Faculty of Agriculture

Food science department

Study of the prolongation possibility shelf-life of local yoghurt

BY

Ahmad adnan AL-Nadaf

Superviser

Dr. Samer Salik **Dr. Omar Zamar**

Faculty of Agriculture

Food science department

2013