الفصل الثالث

ميكروبيولوجيا الألبان المتخمرة
Microbiology of Fermented Milk

١- مقدمة

تنتشر صناعة الألبان المتخمرة فى جميع أنحاء العالم ، حيث يوجد عديد من منتجات الألبان المتخمرة فى كثير من دول العالم ، بالرغم من أن كثير من هذه الأنواع متشابهاً تكنولوجيا. تعتبر صناعة الجبن والألبان المتخمرة من أقدم الطرق التى مارسها الإنسان لحفظ الأغذية القابلة للفساد ومرتفعة القيمة الغذائية (مثل اللبن) إلى منتجات تتميز بقوة حفظ جيدة . من الصعب تحديد متى بدأت صناعة منتجات الألبان المتخمرة ، ولكن أشارت بعض الدراسات أن الألبان المتخمرة قد تم صناعتها منذ حوالى ١٠-١٥ ألف سنة مضت ، منذ تغير نظام حياة الإنسان من جامع للغذاء food gather إلى منتج للغذاء food producer . وقد تضمن هذا التغيير استئناس الحيوانات ، مثل البقر ، الغنم ، الماعز ، الجاموس والإبل . ومن المحتمل أن تكون هذه الفترة الانتقالية قد حدثت عند أوقات متفرقة فى أجزاء مختلفة من العالم . وقد أوضحت دراسات الآثار القديمة ، أن بعض الحضارات ، مثل البابلية ، الفرعونية (المصرية القديمة) والهندية ، كانت متقدمة فى طرق الزراعة والتربية ، وكذلك إنتاج الألبان المتخمرة ، مثل اليوجهورت .

الألبان المتخمرة من أقدم المنتجات اللبنية المعروفة للإنسان ، حيث عرف الإنسان أن حموضة اللبن تزيد بسرعة بعد حلبه من الماشية ، كما عرف أن اللبن الحامض لا يحدث فيه أى تغيرات غير مرغوبة ، إلا تحت ظروف خاصة ، لذلك كان يحتفظ باللبن بطريقة تشجع على تكوين الحامض ليصبح قابلاً للحفظ عدة أيام . من الطبيعى أن تؤدى الاختلافات فى نوع اللبن وفى الطريقة التى تم معاملته بها بين القبائل إلى اختلاف الناتج المتخمر ، مما أدى إلى ظهور عدد كبير من الألبان المتخمرة عرفت بأسماء مختلفة . ويعتقد البعض أن إنتاج الألبان المتخمرة قد تطور على النحو التالى:

١- شملت طرق الإنتاج استخدام نفس الأوعية بصفة مستمرة ، أو إضافة اللبن الطازج إلى عملية التخمر القائمة ، معتمدة بصفة أساسية على الفلورا الطبيعية الموجودة فى اللبن لإتمام عملية التخمير.

٢- تسخين اللبن على اللهب مباشرة لتركيز اللبن بدرجة بسيطة ، وتبريد اللبن لدرجة حرارة الجسم مع التلقيح بلبن حامض من دفعة اليوم السابق.

٣- تحضير هذه المنتجات باستخدام ميكروبات معرّفة defined ، منذ بداية القرن التاسع عشر .

يرجع الاهتمام الكبير بالألبان المتخمرة والانتشار الواسع لهذه الألبان فى جميع أنحاء العالم وخاصة اليوجهورت ، إلى ما أشار إليه العالم الروسي إيلى متشنكوف Eli Metchnikoff فى كتابة (عام ١٩٠٨) عن إطالة الحياة prolongation of life ونظريته عن التسمم الذاتى auto-intoxication ، حيث نصح الإنسان بتناول لبن متخمر يحتوى على *Lactobacillus bulgaricus* (المعروف حالياً *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) ، حيث أفترض أن هذا الميكروب يستطيع أن ينمو فى أمعاء الإنسان ويحل محل البكتريا التعفنية putrefactive bacteria ، التى تستطيع أن تنمو فى الأمعاء ، وبالتالى تقلل من إنتاج مركبات سامة (توكسينات) . وقد عزى هذا العالم قصر عمر الإنسان إلى امتصاص توكسينات معينة تنطلق فى الأمعاء نتيجة نشاط البكتريا اللاهوائية المحللة للبروتين (بكتريا تعفنية) مسببة تسمماً ذاتياً . وقد أشار إلى أن ذلك لا يحدث فى البيئة الحامضية ، وأنه يمكن إيقاف هذا التسمم الذاتى إذا أمكن تنمية أحد أنواع البكتريا المنتجة للحامض فى أمعاء الإنسان . كما أرجع هذا العالم طول عمر سكان البلقان إلى استهلاك كميات كبيرة من اللبن البلغارى ، حيث علل ذلك بأن الحامض الذى يتكون فى الأمعاء نتيجة هذا اللبن المتخمر يمنع الشيخوخة المبكرة ، وأفترض أن ميكروبات هذا اللبن مسئولة عن إبادة البكتريا التعفنية بالأمعاء.

الدراسات التى أجريت عقب كتاب العالم ميتشنكوف ، أوضحت أن *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* لا تستطيع البقاء والاستقرار فى القناة

الهضمية. ومنذ ذلك التاريخ (١٩٢٢) ، فقد أكدت الدراسات أن *Lb.acidophilus* ، نوع من بكتريا حامض اللاكتيك العصوية ، تستطيع أن تبقى وتنمو فى الأمعاء ، حيث أن هذا الميكروب تم عزله أساساً من براز الأطفال الرضع وأنه يعمل على الإقلال من نمو أو القضاء على البكتريا التعفنية بالأمعاء ، وأدى ذلك إلى انتشار لبن الأسيدوفلس ، والذى وصل أقصاه عام ١٩٣٠ .

ورغم عدم التسليم بأن اللبن المتخمر يطيل العمر ، بدليل موت العالم ميتشنكوف عن عمر يناهز ٧١ عاماً ، رغم استهلاكه كميات ضخمة من الألبان المتخمرة ، فإن جدل واسع قد قام بين العلماء حول النظرية ، إلا أنهم جميعاً اتفقوا على أن مقاومة الجسم تضعف بتقدم العمر وأن الصحة العامة تكون جيدة إذا كانت فلورا الأمعاء تحتوى على بكتريا من جنس *Lactobacillus* أو غيرها من الميكروبات النافعة ، مثل *Bifidobacterium* spp., *Lb.casei* .

وفى السنوات الأخيرة مع تزايد المعرفة بأهمية الميكروبات المعوية المختارة ، تم تطوير وإنتاج ألبان متخمرة جديدة تحتوى على *Lb.acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. منفردة أو معاً مختلطة مع بكتريا أخرى . وقد ساهمت هذه الألبان المتخمرة العلاجية الجديد فى زيادة معدلات استهلاك الألبان المتخمرة بصفة عامة. وما زال هذا المجال يحتمل مزيد من التطوير لما له من أهمية صحية وغذائية للإنسان ، فضلاً على إمكان الاستفادة من الإمكانيات الكبيرة فى تعديل تركيب اللبن وأنواع البادئات والإضافات المختلفة ، الأمر الذى يجعل مجالات التوسع والتطوير فى هذا الاتجاه لا حدود لها .

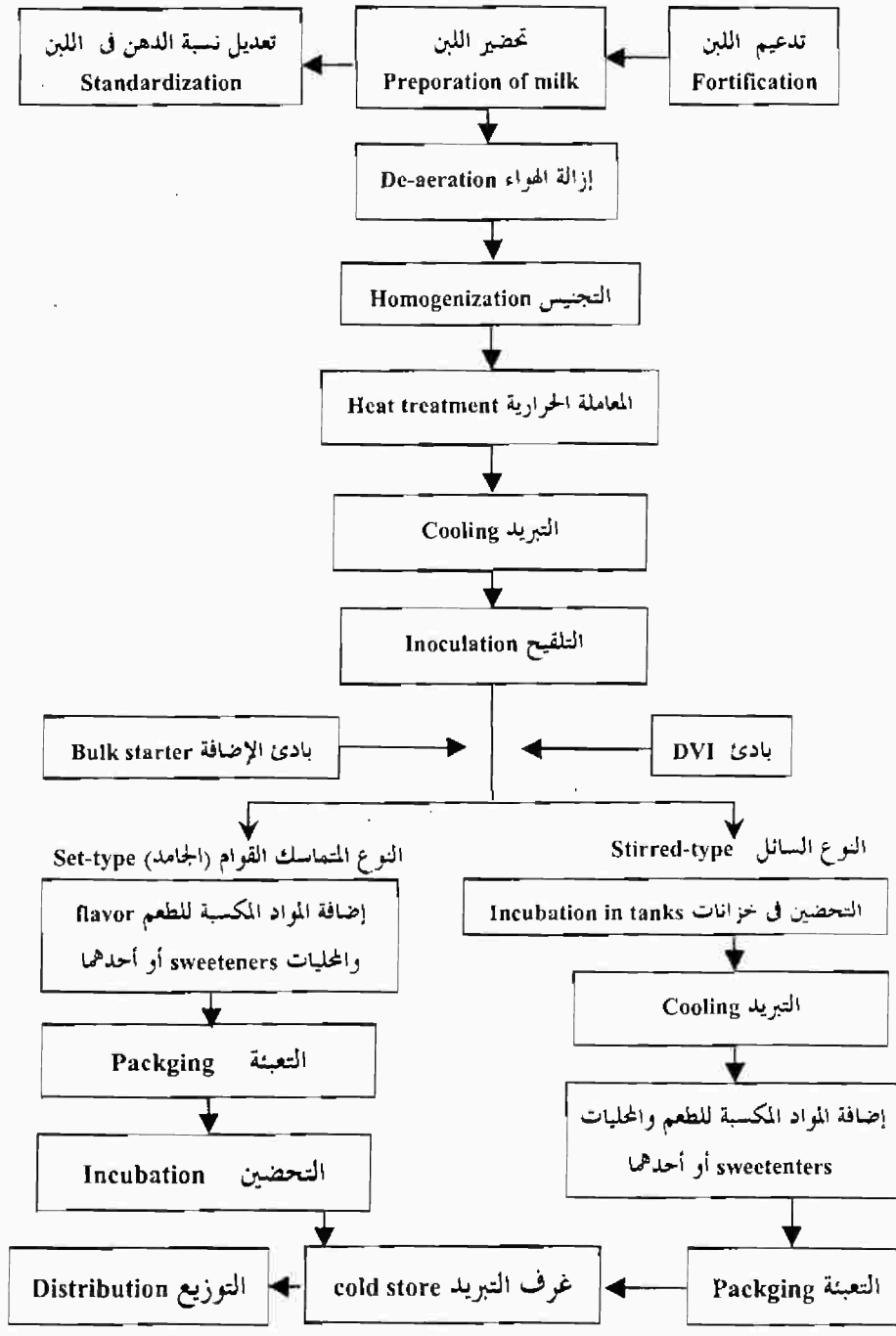
لا تتوفر حالياً بيانات عن صناعة الألبان المتخمرة ، لمعرفة الإنتاج العالمى الحقيقى لكل نوع من الألبان المتخمرة التى تنتج سنوياً فى كل دولة . وقد أشارت البيانات المتاحة فى عام ١٩٩٢ ، أن الإنتاج العالمى من الألبان المتخمرة تقدر بأكثر من ٢٣ مليون طن ، (حوالى ٩ مليون طن يوجهورت ، ١١ مليون طن لبن خض متخمر وحوالى ٣ مليون طن ألبان متخمرة متنوعة). انتشار الألبان المتخمرة فى كثير من دول العالم قد يرجع جزئياً إلى التقاليد traditions ، لكن صفات هذه الألبان (الطعم ، النكهة ، المظهر ، التركيب البنائى ، الفوائد الصحية والغذائية) تكون أكثر جاذبية للمستهلك عن اللبن الطازج.

يعتبر اليوجهورت واليوجهورت المركز (اللبنه) أكثر شيوعاً فى دول الشرق الأوسط ، شمال أفريقيا والبلقان ، كما أن اليوجهورت والأنواع المشابه أكثر شيوعاً فى العالم : التطور الذى حدث فى الخمسينات فى إنتاج اليوجهورت المحتوى على الفاكهة والمطعم بالمواد المكسبة للطعم والنكهة أدى إلى احتلال هذا النواتج أهمية كبيرة فى صناعة الألبان فى أوروبا الغربية والولايات المتحدة الأمريكية وغيرها من الأسواق غير التقليدية . ومنذ ذلك التاريخ ، فإن عدد أنواع اليوجهورت والأغذية الشبيه باليوجهورت قد زادت بدرجة كبيرة ، كما زاد الاهتمام باليوجهورت وغيره من الألبان المتخمرة كوسيلة لتدعيم الصحة العامة .

وفى نفس الوقت فإن الإقبال على استهلاك ألبان متخمرة أخرى ، مثل الكفير ، قد زاد نتيجة التعديلات التى أدت إلى منتجات ذات طعم أقل شدة والذى يكون متوافقاً مع تكنولوجيا التعبئة الحديثة . ومع ذلك ، فإن الأنواع المختلفة من اليوجهورت مستمرة فى الانتشار فى معظم أسواق الألبان المتخمرة.

٢- المعاملات التكنولوجية

المعاملات التكنولوجية المستخدمة فى إنتاج الألبان المتخمرة تكاد تكون متماثلة بصفة عامة فى هذه المنتجات . إنتاج الألبان المتخمرة على نطاق صغير يحتاج فقط إلى معدات بسيطة ، بينما الإنتاج على نطاق واسع من خلال المصانع الكبيرة (المركزية) ذات الإنتاج الثابت المتجانس والمنخفض التكاليف ، يحتاج إلى مستوى أعلى من المراقبة ومعدات أكثر تعقيداً ، بالرغم من أن أساسيات عمليات التصنيع ثابتة . الاختلافات فى معظم الحالات تكون مرتبطة بنوع البادئ ومحتوى جوامد اللبن الكلية . ونظراً لأن اليوجهورت من أكثر أنواع الألبان المتخمرة شيوعاً فى جميع أنحاء العالم ، فإنه سوف يتم استعراض العمليات التكنولوجية الخاصة بهذا النوع من الألبان المتخمرة ، وكذلك التطورات التكنولوجية التى طرأت على هذا المجال فى العقد الأخير. وعموماً فإن اتحاد الألبان الدولي International Dairy Federation (IDF) يصدر بصفة دورية نشرات تضم أحدث النواحى التكنولوجية والعلمية للألبان المتخمرة . شكل (٣-١) يوضح المراحل الأساسية فى إنتاج اليوجهورت والألبان المتخمرة.



شكل (٣-١) : الخطوات الأساسية لإنتاج اليوجهورت والألبان المتخمرة

٢-١- أستلام اللبن

تستخدم معظم مصانع الألبان المتخمرة اللبن السائل liquid milk كمادة أساسية فى صناعة الألبان المتخمرة ، الذى يتم تسليمه إلى المصنع فى أقساط أو خزانات محمولة على سيارات . يتم اختبار اللبن عند تسليمه (كيماوياً وميكروبيولوجياً) . قد تصنع الألبان المتخمرة من أى نوع من ألبان الثدييات ، لكن ألبان الأبقار ، الغنم ، الماعز أكثرهم شيوعاً ، وألبان الجاموس والأبل والفرس يستخدم أيضاً بنجاح فى بعض الدول . تقدر جودة بروتين اللبن صلاحية الألبان لصناعة اليوجهورت، وتحليل البروتين فى اللبن الخام يجب أن يكون تحت السيطرة، وذلك بالتأكد من أن الحالة الميكروبيولوجية للبن جيدة ، وأن درجة حرارة تخزين اللبن تكون منخفضة بدرجة كافية للحد من نشاط البكتريا أو إنزيمات البروتينيز proteinases.

تم توحيد مواصفات اللبن ومنتجاته خلال الاتحاد الأوروبي European union (EU) منذ ١٥ يونيو ١٩٩٥ . وتتطابق هذه المواصفات أساساً مع المواصفات المتداولة فى جميع انحاء العالم ، حيث ترتبط اختبارات الاستلام بالجودة التركيبية للبن compositional quality ، الحمولة الميكروبية microbial load (العد الكلى للميكروبات) ، عدد الخلايا الجسمية somatic cell count ، عدم وجود أي بقايا من المضادات الحيوية ودرجة حرارة اللبن عند الاستلام.

٢-٢- تعديل محتوى اللبن من الدهن

جميع أنواع اليوجهورت ، سواء الطبيعى natural أو المطعم بالفاكهة fruit، يكون فى معظم الدول منخفض الدهن low-fat ، ومع ذلك فهناك أسواق أيضاً تفضل اليوجهورت كامل الدسم full-fat . فى المملكة المتحدة يحتوى اليوجهورت منخفض الدهن أو خال الدسم على حوالى ١,٥ جم وأقل من ٠,٥ جم دهن/١٠٠ جم يوجهورت ، على التوالى ، بينما فى اليوجهورت كامل الدسم تتراوح محتوى الدهن من ٣,٥ إلى حوالى ٥ جم/١٠٠ جم يوجهورت . قد يحتوى اليوجهورت المركز (المصفى) strained أو النوع اليونانى Greek-style على حوالى ١٠ جم دهن/١٠٠ جم. يتم تعديل نسبة الدهن فى اللبن

standardization فى صناعة اليوجهورت بمرور اللبن خلال فراز يعمل بالطرد المركزى centrifugal separator لفرز اللبن إلى قشدة cream ولبن فرز skimmed milk حيث يتم خلطهما بنسب معينة للحصول على نسبة الدهن المرغوبة ، أو قد يمر اللبن خلال فراز (قياسي) standard مثبت فى خط الإنتاج ، حيث يقوم بتعديل نسبة الدهن فى اللبن إلى النسبة المرغوبة أتوماتيكياً.

٢-٣- تدعيم اللبن بجوامد اللبن اللادهنية

الهدف الأساسى من تعديل محتوى اللبن من الجوامد اللادهنية (MSNF) milk solids not fat ، هو إنتاج ناتج لزج viscous product ، عن طريق رفع مستوى البروتين . متوسط محتوى اليوجهورت ، (على المستوى التجارى) ، من MSNF حوالى ١٤ % ، منها حوالى ٥ % بروتين وأقل من ١,٥% دهن . ويتم رفع محتوى اللبن من MSNF بأحدى الطرق الأتية:

- غليان اللبن boiling of milk (لا يستخدم على النطاق التجارى) .
- إضافة منتجات ألبان مجففة dairy powders .
- التركيز بالتبخير تحت التفريغ evaporation under vacuum (EV) .
- التركيز باستخدام الترشيح بالأغشية membrane filtration ، مثل الترشيح الفائق ultrafiltration (UF) أو الأسموزية العكسية reverse osmosis (RO) .

٢-٣-١- منتجات الألبان المجففة

إضافة لبن فرز مجفف skimmed milk powder (SMP) باستخدام خلاط قوى a high sheer mixer من الطرق المستخدم على نطاق واسع لرفع محتوى اللبن من MSNF عند ٤٠°م . وقد يستخدم أنواع أخرى من اللبن ومنتجاته المجففة فى هذا المجال . جدول (٣-١) يوضح الاختلافات فى التركيب الكيماوى لهذه المنتجات المجففة . الهدف من التدعيم fortification هو رفع مستوى البروتين فى اللبن إلى حوالى ٥ جم/١٠٠جم. استخدام مركزات الترشيح الفائق المجفف UF retentate powder (لبن كامل ، لبن فرز أو مركزات بروتينات الشرش).

يرفع مستوى البروتين والدهن أو أحدهما فقط ، دون حدوث تغيير فى محتوى اللاكتوز . يحتوى الناتج النهائى على لاكتوز أقل عند مقارنته باللبن المدعم بمسحوق لبن كامل ، مسحوق لبن فرز SMP أو مسحوق لبن خض (مخيض مجفف) . يجب أن تكون هذه المنتجات خالية من المضادات الحيوية ، حيث أن جميع بادئات الألبان تكون حساسة لوجود هذه المضادات .

جدول (٣-١) : تركيب اللبن ومنتجاته المجففة المستخدمة فى صناعة الألبان المتخمرة (جم/١٠٠ جم) .

المنتج	بروتين	لاكتوز	دهن
• لبن كامل مجفف dry whole milk			
- تجارى commercial	٢٦,٣	٣٩,٤	٢٦,٣
- مركز UF (retentate)	٤١,٧	٩,٣	٤١,٧
• لبن فرز مجفف dry skimmed milk			
- تجارى commercial	٣٦,١	٥٢,٩	٠,٦
- مركز UF (retentate)	٦٢,٨-٨٠.٥	٢٣,٩-٥,٥	١,٥-٠,٩
• شرش مجفف dry whey			
- تجارى commercial	١٢,٢	٧٨,٠	١,٣
- منزوع الأملاح demineralized	١٤,٥	٨٠,٥	١,٠
- مركز بروتين protein concentrate	٣٥,٠-٧٣,٢	١٢,٠-٥٥,٠	٠,٢
• لبن خض (مخيض) مجفف dry butter milk	٣٤,١	٥١,٠	٥,٠
• كازينات صوديوم Na-caseinate	٨٧,٣	-	٠,٢

يجب أن يكون التدعيم بمسحوق بروتين الشرش فى حدود ١-٢ % حتى لا يؤدى إلى ظهور عيوب فى الطعم off-flavors ، الذى يعزى إلى بقايا السستئين cysteine فى β-lactoglobulin ، الذى يرفع محتوى السلفدريل sulphydryl فى اللبن بعد المعاملة الحرارية ويعطى طعم مؤكسد oxidized غير مرغوب. كما أن المعاملة الحرارية العالية تؤدى إلى تجبن مركزات بروتينات الشرش ، الذى يسبب مشاكل ، وفى بعض الحالات يسخن مخلوط اللبن والشرش إلى درجة حرارة لا تزيد عن ٨٠°م لمدة ٣٠ دقيقة لإنتاج اليوجهورت . يمكن الحصول على جل gel (خثرة) أكثر صلابة بعد التخمر بواسطة بكتريا حامض اللاكتيك المحبة لدرجات

الحرارة المعتدلة mesophilic LAB ، أو المحبة لدرجات الحرارة المرتفعة thermophilic LAB عندما يدعم اللبن المستخدم فى صناعة اليوجهورت بـ ٤٠ % مركزات بروتينات الشرش.

مواصفات اللبن الفرز المجفف (SMP) المستخدم فى إعادة تركيب اللبن recombination ، على جانب كبير من الأهمية ، حيث يؤثر على جودة الألبان المتخمرة . ومن أهم مواصفات SMP فى هذا المجال : (١) معامل نتروجين بروتين الشرش whey protein nitrogen index : ٤,٥-٥,٩ ، (٢) رقم السستئين cystein number : ٣٨-٤٨ ، (٣) رقم الثيول thiol number : ٧,٥ — ٩,٤ و (٤) رقم الحرارة heat number : ٨٠-٨٣ . تقسم الألبان المجففة طبقاً لهذه المواصفات . يفضل استخدام لبن مجفف متوسط الحرارة medium heat فى إنتاج الألبان المتخمرة . من المواد الجافة الأخرى التى قد تضاف فى مرحلة إعادة التركيب recombination ، السكر والمثبتات stabilizers . تخضع هذه المواد المضافة لمواصفات خاصة بها يجب أن تؤخذ فى الاعتبار.

٢-٣-٢- تركيز اللبن

يتم تركيز اللبن بواسطة التركيز بالتبخير تحت تفريغ (EV) ، الأسموزية العكسية (RO) أو الترشيح الفائق (UF) . فى بعض الدول ، مثل الدنمارك ، لا يسمح بإضافة الألبان المجففة ، ويركز اللبن المستخدم فىالصناعة تحت تفريغ (EV) أو بأستخدام تكنولوجيا الأغشية (RO أو UF) . يتم التخلص من الماء جزئياً من اللبن بطريقة EV أو RO ، حيث يركز اللبن إلى ١٤-١٥ جم/١٠٠ جم جوامد كلية (TS) ، وفى طريقة UF يصل التركيز إلى ١٢ جم/١٠٠ جم للمحافظة على مستوى البروتين عند ٥جم/١٠٠جم . أجهزة EV تكون جزء من خط إنتاج اللبن المتخمر ، بينما أجهزة UF, RO تكون منفصلة عن خط الإنتاج .

بصرف النظر عن الطريقة المستخدمة فى تركيز اللبن ، فإن الزيادة فى الجوامد الكلية TS يكون لها تأثير ضار ضعيف على نشاط بكتريا البادئات ، حيث أن زيادة TS تزيد من القوة التنظيمية buffer capacity للبن ، وقد يشجع نمو بعض الميكروبات مثل *Str.thermophilus, Lb.acidophilus* . صناعة الجبن

من لبن UF (تركيز ٣-٥ أضعاف) قد يؤثر على نشاط البادئ نتيجة لأرتفاع القدرة التنظيمية لمركز UF (retentate) . تتضمن الاحتياجات التى يجب اتباعها : (١) استخدام بادئ نشط ، (٢) زيادة معدل التلقيح inoculation rate و (٣) إضافة عناصر غذائية nutrients إلى مركز UF (retentate) .

٢-٤- الترشيح وإزالة الهواء

يفضل عادة ترشيح filtration الألبان المعاد تركيبها recombined milk لإزالة الجزيئات غير الذائبة والجزيئات المحترقة scorched من اللبن ، ويمكن أن يتم ذلك باستخدام : (١) مرشح مثبت داخل خطوط الأنابيب الصلب غير قابل للصدأ ، وهذه الطريقة مناسبة لخطوط الإنتاج الصغيرة ، أو (٢) منقيات تعمل بالطرد المركزى centrifugal clarifiers ، تستخدم فى حالة كميات الألبان الكبيرة . يتم التخلص من الجزيئات غير الذائبة من اللبن لتقليل الأضرار التى قد تصيب صمامات المجنس ، وتقليل ترسيب جوامد اللبن على ألواح المبادل الحرارى plate heat-exchanger .

كما يفضل أجراء عملية إزالة الهواء de-aeration من اللبن المستخدم فى الصناعة ، وذلك للتخلص من الهواء الذى يدخل إلى اللبن أثناء مرحلة إعادة التركيب recombination ، وذلك لتهيئة ظروف نمو مناسبة لبكتريا البادئات (أى *Bifidobacterium* spp., *Lb.acidophilus*) ولتقليل تلوث المبادل الحرارى ، والحد من أنفصال الشرس نتيجة وجود غازات منتشرة فى اللبن.

٢-٥- التجنيس

تتم عملية التجنيس homogenization بدفع اللبن عند ٦٠-٧٠°م تحت ضغط مرتفع (١٥-١٨ MPa) خلال فتحة ضيقة orifice ، حيث يتم تفتيت حبيبات الدهن إلى حبيبات أصغر ، (متوسط قطر هذه الحبيبات أقل من ٢ ملليكرون µm) . هذه الحبيبات الصغيرة تكون أقل قدرة على الالتصاق وتكوين مجاميع أكبر والصعود إلى سطح اللبن لتكوين طبقة قشدة.

ارتفاع الضغط المستخدم فى عملية التجنيس يزيد من اللزوجة ، لكن يزيد أيضاً من القابلية لأنفصال الشرش . لذلك فإنه من الضرورى تحديد الضغط المثلى لكل نوع من اليوجهورت المراد إنتاجه ، الضغط المستخدم عادة يكون ١٥-٢٠ MPa عند ٦٥°م . التجنيس لمرحلة واحدة أكثر شيوعاً ، لكن قد يستخدم تجنيس لمرحلة ثانية عند ضغط ٤ MPa . تجنيس اللبن قد تكون عملية اختيارية optional فى صناعة بعض أنواع من الألبان المتخمرة ، مثل الفيلى Viili أو اليوجهورت كامل الدسم ، نتيجة لذلك تتكون طبقة القشدة على سطح اللبن أثناء عملية التخمير ، التى تعطى لهذه المنتجات الصفات الطبيعية المميزة لهذه الأنواع ، عند التبريد .

قبل إجراء أى عملية تصنيع لأى نوع من ألبان الثدييات كاملة الدسم ، فإنه يحدث تفاعلات interactions بين مكونات اللبن الرئيسية ، مثل البروتينات (caseins, α-lactalbumin (α-La), β-lactoglobulin (β-Lg)) ، الدهن واللاكتوز . يوجد الدهن فى اللبن الخام فى صورة حبيبات مغلفة بغشاء من البروتين ، الليبيدات والفوسفوليبيدات . المعاملة الحرارية والتجنيس قد تسبب تغيرات كيماوية وطبيعية فى حبيبات دهن اللبن . ترجع التغيرات الكيماوية إلى محتوى الأحماض الدهنية ، ومع ذلك ، فإن تأثير التجنيس والتسخين يؤدى إلى تفاعلات معقدة بين مكونات اللبن . وقد أشارت بعض الدراسات إلى تأثير هذه التغيرات الطبيعية على جودة كثير من منتجات الألبان . التغيرات التى تعزى إلى التجنيس عند درجة حرارة حوالى ٧٠°م أو أقل قبل المعاملة الحرارية قد تشمل:

- زيادة مساحة سطح الدهن ، وانخفاض حجم حبيبات الدهن مع اختلاف تركيب غشاء حبيبات الدهن.
- أدمصاص adsorption المواد النشطة سطحياً (أساساً البروتينات) يحدث ، جزئياً على سطح الدهن.
- التأثير العنيف للتجنيس turbulent يشجع أساساً على أدمصاص جسيمات الكازين بدرجة أكبر من بروتينات السيرم (حوالى ٥%) بحيث يغطى حوالى ٢٥ % من مساحة سطح حبيبات الدهن .

- عند إعادة تركيب اللبن recombination (حيث يتم تجنيس دهن اللبن فى اللبن الفرز) ، يتكون غشاء حبيبات الدهن الناتجة أساساً من بروتينات السيرم فقط .
- سلوك حبيبات الدهن المجنس (فى اللبن المجنس) مماثل لسلوك جسيمات الكازين الكبيرة (نظراً لأن غشاء حبيبات الدهن يتكون أساساً من الكازينات) الذى يزيد من تركيز الكازين الحقيقي ، وبالتالى تترسب فى تفاعلات الكازينات مثل الترسيب الحامضي.
- زيادة أعداد حبيبات الدهن الصغيرة تحسن من قدرة اللبن على انعكاس الضوء ،ونتيجة لذلك فإن اللبن المجنس المتخمر يبدو أكثر بياضاً whiter .
- تقل فرصة انفصال الشرش syneresis (أى انفصال شرش حر على سطح اللبن المتخمر المتماسك القوام "الجامد" set) وتزداد صلابة firmness الناتج النهائى.

وعموماً ، فإن تجنيس اللبن يؤثر على صفات الخثرة فى اليوجهورت . إدمصاص حبيبات الدهن الصغيرة على جسيمات الكازين تزيد من اللزوجة والحجم الكلي الحقيقي للمواد العالقة ، كما ينخفض انفصال الشرش نتيجة لزيادة قدرة جسيمات الكازين على تشرب الماء نتيجة لتفاعلات بين البروتين والكازين وغشاء حبيبات الدهن . كما أن هناك أيضاً تأثير إضافي يرجع إلى دنترة denaturation بعض البروتينات .

٢-٦- المعاملة الحرارية

تسخين اللبن من المعاملات التصنيعية الشائعة فى صناعة منتجات الألبان المتخمرة وتتراوح درجات الحرارة المستخدمة من حوالى ٥٠°م (عملية تسخين thermization) إلى ١٥٠°م فى المعاملات الحرارية فائقة الأرتفاع (UHT) ultra-high temperature . تختلف المعاملة الحرارية للبن المستخدم فى صناعة الألبان المتخمرة من حيث درجة الحرارة ومدة المعاملة. ومن أمثلة هذه المعاملات: (١) ٨٠-٨٥°م/٣٠ دقيقة ، (٢) ٩٠-٩٥°م/٥ دقائق و (٣) ١١٠°م/٣ ثوان. وقد لوحظ أن هذه درجات الحرارة المستخدمة (أى ٨٠-١١٠°م) تعادل المعاملة

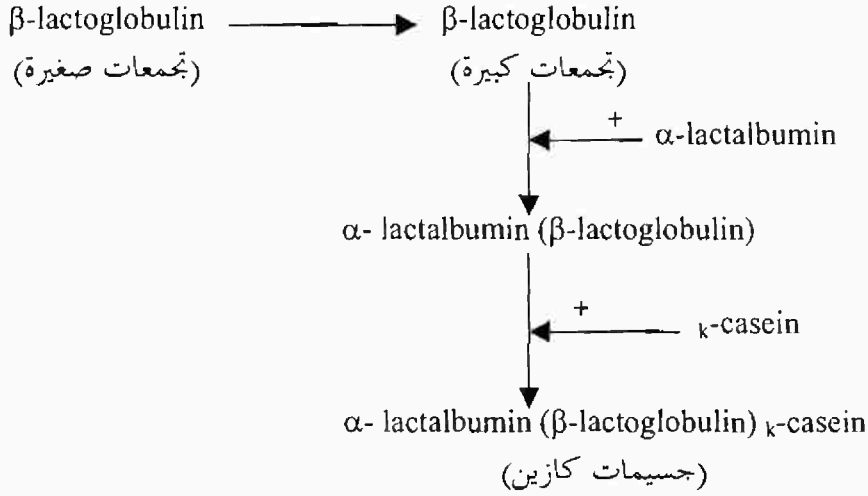
الحرارية الابتدائية preheat treatment للألبان فى صناعة اللبن المبخر evaporated milk والمساحيق ثابتة الحرارة heat-stable powder .

يتعرض اللبن المستخدم فى صناعة اليوجهورت لمعاملات حرارية ثابتة تقريباً. كانت المعاملة الحرارية ٨٠-٨٥°م/٣٠ دقيقة مفضلة لعدة سنوات ، لكن عملياً تختلف المعاملة الحرارية بدرجة كبيرة من البسترة لدرجة حرارة مرتفعة ولفترة قصيرة HTST تقريباً إلى معاملة حرارية فائقة الارتفاع UHT . تعتبر المعاملة الحرارية هامة فى زيادة لزوجة اليوجهورت وتحسين التركيب البنائى texture . الميكروبات المرضية المنقولة عن طريق اللبن milkborne pathogens مثل *Campylobacter, Salmonella* يتم القضاء عليها . كما تنخفض أعداد البكتريا غير المرغوبة والمتبقية التى قد تتداخل فى البداية مع نمو بكتريا البادئ . قد تستخدم UHT عندما يحتوى اللبن على أعداد كبيرة من البكتريا المتجرثمة ، خاصة إذا كان البادئ يتكون من بكتريا بطيئة النمو مثل *Bifidobacterium* . كما أن المعاملة الحرارية تنشط أيضاً من نمو بكتريا البادئ وذلك بخفض محتوى الأكسجين، وطبقاً للمعاملة الحرارية قد يحدث تنشيط أو تثبيط لنمو بكتريا البادئ.

قد يتم تسخين اللبن على دفعات أو بطريقة مستمرة . تستخدم درجة حرارة ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة فى التسخين على دفعات ، حيث يتم تصنيع اليوجهورت السائل stirred ، قد يسخن اللبن ، يبرد ويخمر فى نفس الخزان (خزان متعدد الأغراض multipurpose processing tank) . ينتج هذا النظام يوجهورت مرتفع الجودة ، لكن تكون دورة الإنتاج طويلة ذات إنتاجية منخفضة وغير اقتصادية (مرتفعة التكاليف) من حيث مساحة المبانى المطلوبة وتكاليف الطاقة . تفضل المعاملة الحرارية المستمرة عند ٩٠-٩٥°م لمدة ٥-١٠ دقيقة سواء باستخدام مبادل حرارى أنبوبى أو ذات ألواح.

تسخين اللبن أو مخلوط اليوجهورت له دور تكنولوجى هام فى تعديل صفات البروتين والمساهمة فى ثبات الخثرة . كما يتم أيضاً إعادة توزيع الكالسيوم، المغنسيوم والفوسفور بين الصورة الذائبة والصورة الغروية التى تميل إلى خفض مدة التجبن.

التأثير الرئيسي المباشر للتسخين على البروتينات هو دنترة denaturation (تغيير فى طبيعة البروتين) بروتينات الشرش والتفاعل مع $_k$-casein . كان يعتقد لعدة سنوات مضت أن التفاعل يتضمن فقط β-lactoglobulin ، لكن من المعروف حالياً أن α-lactalbumin يشترك أيضاً فى التفاعل (شكل ٣-٢) .



شكل (٣-٢) : التفاعلات بين الكازين وبروتينات الشرش أثناء تسخين اللبن

تحدث دنترة لبروتينات الشرش (الألبيومينات والجلوبيولينات) مع حدوث تجمع لجسيمات الكازين على شكل شبكة ثلاثية الأبعاد ، وتحجز هذه الشبكة خلالها بروتينات الشرش وتصبح خثرة اليوجهورت بعد ذلك أكثر لزوجة . يتوقف الأرتباط بين بروتينات الشرش والكازين بدرجة كبيرة على كل من pH ومستوى Ca^{2+} وأن الأختلافات الطبيعية قد تؤدى إلى جسيمات كازين مختلفة. يؤدى التسخين أيضاً إلى زيادة فى قدرة البروتينات على الارتباط بالماء التى تقلل من انفصال الشرش ويزيد من صلابة الخثرة . يحدث ذلك نتيجة ارتباط بين β-lactoglobulin, $_k$-casein الذى يؤدى إلى تكوين سطح جديد مع عدد قليل من مجاميع غير محبة للماء مكشوفة . درجة التشرب القصوى يمكن الحصول عليها بتسخين اللبن عند ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة . زيادة شدة المعاملة الحرارية تزيد من

القدرة على كراهية الماء (عدم الارتباط بالماء) ويؤدى إلى انفصال الشرش وإنتاج يوجهورت منخفض الجودة .

عند درجات الحرارة أعلى من ٧٠°م ، فإن التغيرات الطبيعية والكيماوية التى قد تحدث فى اللبن ، تكون معقدة ومتعددة الوظائف multifunctional . فى كثير من مصانع الألبان ، يختلف تركيب اللبن المعد لصناعة الألبان المتخمرة وتحدد ظروف عمليات التصنيع طبقاً للإمكانيات المتوفرة فى المصنع . يمكن تلخيص تأثير المعاملات التصنيعية المختلفة فيما يلى :

٢-٦-١- الميكروبات والإنزيمات الطبيعية فى اللبن

المعاملة الحرارية للبن المستخدم فى صناعة الألبان المتخمرة عادة تكون كافية للقضاء على معظم ، بل جميع الخلايا الخضرية للميكروبات الموجودة فى اللبن الخام، ولكن تبقى الميكروبات المكونة للجراثيم spore-formers فى اللبن حيث تقاوم هذه المعاملات الحرارية . يتم القضاء تماماً على الميكروبات المرضية غير المتجرثمة عند ٨٥-٩٥°م . تنخفض الحمولة الميكروبية نتيجة المعاملة الحرارية ، مما يؤكد أن اللبن المعامل حرارياً يمثل بيئة نمو جيدة لبكتريا البادئات حيث يكون التنافس أقل .

يوجد أكثر من ٦٠ إنزيماً فى اللبن الخام . بعض هذه الإنزيمات غير مقاومة للحرارة ، بينما البعض الآخر يستطيع أن يقاوم المعاملات الحرارية العالية للبن . وقد استخدم نشاط إنزيمات اللبن كدلائل مفيدة للأمراض diseases أو التغيرات الفسيولوجية فى ضرع الحيوانات الثديية ، كفاءة المعاملات التصنيعية المستخدمة للبن والعوامل التى تؤثر على طعم وجودة منتجات الألبان . وجود هذه الإنزيمات فى اللبن لا ينشأ عنها مشاكل هامة فى صناعة الألبان المتخمرة ، بالرغم من أن بعض هذه الإنزيمات قد تكون موجودة فى الألبان المتخمرة الناتجة.

٢-٦-٢- تسخين اللبن المجنس

الكازينات مقاومة للحرارة ، بينما بروتينات الشرش (β-Lg & α-La) يحدث لها تغيير فى طبيعتها (دنترة denaturation) عند درجات الحرارة المستخدمة فى معاملات اللبن المستخدم فى صناعة الألبان المتخمرة . يتفاعل β-Lg

مع مكونات اللبن الأخرى عندما يحدث لها دنترة ، بينما α-La يتعرض لتفاعلات نتيجة المعاملات الحرارية فقط بعد المعاملات الحرارية الشديدة . من التفـــاعلات التى يمكن أن تحدث :

- ارتباط ذاتى self-association لجزيئات β-Lg التى حدثت لهـــا دنـــترة ، لتكون تجمعات أكبر.
- ارتباط بين β-Lg ,κ-casein المتضمن تفاعلات مجاميع SH- المكشوفة غـــير المحبة للماء ، نتيجة لتسخين اللبن.
- تفاعلات بين بروتينات الشرش وبروتينات غشاء حبيبات الدهن.
- تفاعلات κ-casein وبروتينات غشاء حبيبات الدهن ، كنتيجة لأدمصـــاص κ-casein على سطح حبيبات الدهن ، وقد ينشأ أيضاً عـــن ذلـــك فقـــد triacylglycerols وتغيير فى محتوى اللبيدات نتيجة تسخين اللبن عند ٨٠°م لمدة ٢٠ دقيقة.
- تفاعل بين β-Lg مع سطح حبيبات دهن اللبن المجنس قد يزيح جســـيمات الكازينات المدمصة .
- ارتباط فوسفات الكالسيوم الغروية مع أيونات أخرى بواسطة الكازينـــات، بالرغم من هذا التغير فى المكونات الأيونية ionic constituents لا تكـــون حرجة critical فى تكوين الجل (الخثرة) الحامضية ، ولكن قد يؤخر مـــن التجبن الإنزيمى للبن أثناء صناعة الجبن .
- تجمع جسيمات الكازين فى جزيئات أكبر وكذلك أنقســـام dissociation جسيمات الكازين مكوناً كازينات ذائبة عند ١٠٠°م أو أعلى ,

التفاعلات بين البروتين والدهن فى اللبن المعاد تركيبـه recombined milk تتوقف على عوامل كثيرة مثل : (١) حبيبات دهن اللبن الأكبر حجماً تقلل مـــن حمولة البروتين الذى يتكون أساساً من بروتينات الشرش ، (٢) زيـــادة محتـــوى البروتين فى اللبن الفرز تزيد حمولة البروتين حتى تصل إلى الحد الأقصى ، حـــوالى ٦ ملليجم/م^{٢} من سطح الدهن ، (٣) تغيير نسبة بروتين الشرش إلى الكـــازين فى اللبن الفرز يقلل بدرجة بسيطة من حمولة البروتين المدمص ، ولكن يؤثر بدرجـــة

كبيرة فى تركيبه ، (٤) تفتيت جسيمات الكازين بعد إزالة فوسفات الكالسيوم الغروية قبل إعادة تركيب اللبن يؤدى إلى انخفاض فى حمولة البروتين على سطح حبيبات الدهن ويغير من تركيب البروتين المدمص و (٥) بزيادة SNF من ١٠ إلى ٢٠ % جوامد كلية TS فى اللبن الفرز المعاد تركيبه عند pH ٦,٥ إلى ٧,١ قبل التسخين ، فإن درجة انقسام κ-casein تزيد ، ويحدث تأثير مماثل عند تسخين اللبن عند ١٢٠°م لمدة ٢-١١ دقيقة عند pH ٦,٥ فقط .

يحتوى لبن الغنم على كمية أكبر من بروتينات الشرش مقارنة باللبن البقرى، (محتوى لبن الغنم من الجلوبيولينات المناعية immunoglobulin والبيتا لاكتوجلوبيولين β-Lg ٠,٢٢ ، ٠,٦٦ جم /١٠٠ جم ، على التوالى) . عند التسخين ، تختلف مقاومة بروتينات الشرش لحدوث الدنترة ويمكن ترتيب هذه المقاومة على النحو التالى:

. immunglobulin > serum albumin / lactoferrin > β-Lg > α-La

التسخين عند ٩٠°م ، يكون ترتيب الألبان من حيث سهولة حدوث دنترة بروتينات الشرش على النحو التالى : الغنم ، الماعز ثم البقر .

٢-٦-٣- تغيرات متنوعة

تسخين اللبن المعاد تركيبه عند درجات حرارة مختلفة يمكن أن ينشط أو يثبط نشاط البادئ نتيجة لأنفراد نيتروجين بروتين السيرم التى حدث له دنترة denaturation (٠,١٥-٠,٢ ملليجم/مل) أو سستئين cysteine (١٠-٢٠ ميكروجرام/مل) وبعض المكونات الأخرى مثل الفورميك . دورة التنشيط و/أو التثبيط stimulation and/or inhibition تكون على النحو التالى:

- تنشيط : بين ٦٢°م/٣٠ دقيقة و٧٢°م/٤٠ دقيقة .
- تثبيط : بين ٧٢°م/٤٥ دقيقة ، ٨٢°م/١٠-١٢٠ دقيقة و٩٠°م / ١-٤٥ دقيقة.
- تنشيط : بين ٩٠°م/٦٠-١٨٠ دقيقة و ١٢٠°م/١٥-٣٠ دقيقة.
- تثبيط : عند ١٢٠°م لمدة أكثر من ٣٠ دقيقة.

وقد أوصت هذه الدراسة إلى استخدام ألبان مجففة مرتفعة الحـــرارة high-heated powder ومع ذلك فإنه لا يمكن تطبيق هذه الملاحظات فى الوقت الحـــالى نظراً للتطورات التى طرأت على تكنولوجيا صناعة الألبان المجففة واختيار سلالات البادئ.

تسخين اللبن قد يقلل من كمية الأكسجين الموجـــودة ويخفـــض جـــهد الأكسدة والاختزال O/R (E_h) ، الذى يشجع من نمو البادئ . بالإضافة إلى ذلك، فإن تحسين نعومة smoothness الخثرة وتقليل انفصال الشرش syneresis تكـــون نتيجة مرغوبة وهامة لتسخين اللبن عند درجة حرارة أقل من ١٠٠°م . كمـــا أن التسخين الابتدائي preheating للبن المستخدم فى الصناعة قد يؤدى إلى تلـــف بعض الفيتامنيات غير المقاومة للحرارة ، ولكن قد يحسن من القابليـــة للـــهضم digestibility فى الأمعاء لبعض الأفراد عند مقارنته باللبن غير المسخن.

التغيرات التى تحدث فى مكونات اللبن نتيجة المعاملات الحرارية قد تسبب تلفاً لأسطح معدات أو أجهزة التصنيع ، وقد يؤثر هذا بدوره على وقت تشـــغيل المبادل الحرارى قبل أن تتم عملية التنظيف . تلعب β-Lg ، الذى حدث له دنترة، دوراً رئيسياً فى أدمصاص مكونات اللبن على أسطح التسخين . وقـــت تشـــغيل operational time مبادل حرارى فىمعاملة لبن سائل طازج يكون أطول عنـــد مقارنته بتسخين الألبان المعاد تركيبها .

٢-٧- إضافة مكونات أخرى

بالرغم من أن كثير من المستهلكين يفضلون اليوجهورت بدون إضافـــات additives ، إلا أنه قد يضاف المثبتات stabilizers إلى اليوجـــهورت الســـائل (stirred) لتحسين اللزوجة والقوام وخفض القابلية لطرد الشـــرش syneresis . كما أن المثبتات تحسن الشعور الفمى mouthfeel ويســـمح بانخفـــاض الطاقـــة الحرارية (الســـعرات الحراريـــة calories) والمحافظـــة علـــى الجـــودة الحســـية organoleptic quality . المثبتات عبارة عن غرويات محبة للمـــاء hydrocolloids وتشمل الجيلاتين والكربوهيدريت مثل النشا pregelatinized starch ، الآجـــار agar ، صمغ الجوار guar gum ، البكتين pectin والكاراجينان carragennan .

قد يستخدم الجيلاتين والنشا بتركيزات تصل إلى ١ % ، لكن تركيزات المثبتات الأخرى يجب ألا تزيد عن ٠,٣ إلى ٠,٥% ، حتى لا يتأثر طعم الناتج . وقد زاد استخدام الغرويات المحبة للماء فى السنوات الأخيرة وذلك لتقليل إضافة جوامد اللبن للحد من ارتفاع التكاليف . الاختيار الدقيق للمثبتات يسمح أيضاً بإنتاج نطاق واسع من المنتجات من خلطة أساسية واحدة.

المواد المحلاة (المحليات sweeteners) ، المواد الملونة coloring والمواد المكسبة للطعم flavoring عادة تضاف بعد البسترة لتجنب التحلل الحرارى thermal degradation لهذه المواد . قد تتم الإضافات قبل أو بعد عملية التخمر . يتم تحلية اليوجهورت أصلاً بإضافة السكروز . وقد أقترح عدد من المحليات البديلة التى تشمل شراب الذرة المرتفع الفركتوز high fructose corn syrup ، السكارين saccharin ، جلوسيتول glucitol (سوربيتول sorbitol) والأسبارتيم aspartame . يستخدم سكر القصب الخام (السكروز الخام) وعسل النحل لما لهما من فوائد صحية . كما يستخدم مركزات الفاكهة fruit concentrates ، حيث يستخدم مركزات التفاح والكمثرى على نطاق واسع فى أوروبا ، ومركزات فاكهة المناطق الحارة tropical fruit concentrates فى الولايات المتحدة الأمريكية. وقد وجد أن المستهلك يفضل الجلوسيتول والأسبارتيم ، ولكن يعتبر السكارين غير مرغوب فيه نتيجة المرارة bitterness التى يسببها . استخدام شراب الذرة المرتفع الفركتوز يؤدى إلى خفض اللزوجة مقارنة بالجلوسيتول والأسبارتيم، وخاصة فى الولايات المتحدة الأمريكية حيث يكون متوفراً بأسعار اقتصادية.

بعض بكتريا حامض اللاكتيك ، مثل *Lb.acidophilus* ، بالرغم لما لها صفات علاجية ، إلا إنها لا تنتج أسيتالدهيد الذى يعطى صفات الطعم الزبدى buttery لليوجهورت العادى ، وفى هذه الحالة يكون طعم الناتج ناقصاً . ولتحسين الطعم ، غالباً ما يخلط عصائر الفاكهة بالألبان المتخمرة بنسب مختلفة . تستخدم فواكه المناطق المعتدلة مثل الفراولة ، التفاح ، الكمثرى ، البرتقال ، العنب ، وكذلك فواكه المناطق الحارة ، مثل المانجو والأناناس . يعبأ الناتج النهائى فى زجاجات شفافة (غير معتمة) حتى يظهر اللون المميز لنوع عصير الفاكهة المضاف .

وقد لوحظ أن عدد الميكروبات الحية من *Lb. acidophilus* فى اللبن المتخمر المحتوى على عصير فراولة يتلف بدرجة أسرع من اللبن المتخمر المحتوى على عصائر الفاكهة الأخرى . إضافة كمية قليلة من عصير الفراولة تصل إلى ٣ % (حجم/حجم) تؤدى إلى انخفاض فى أعداد الميكروبات بما يقدر بدورتين لوغاريتمين فى خلال ٥ أيام ، بينما الميكروبات فى الألبان المتخمرة غير المحتوية أو المحتوية على أنواع أخرى من العصائر ، بنسب تصل إلى ١٠ % (حجم/حجم) ، تبقى حية لفترة أطول (جدول ٣-٢) . يحدث الانخفاض فى إعداد *Lb. acidophilus* فى لبن الفراولة فقط عندما يتعرض الناتج للضوء الطبيعيday light. عندما يعبأ الناتج فى رقائق الألمونيوم ، فإنه لا يحدث انخفاض سريع فى أعداد الخلايا الحية للميكروب . لذلك يعتقد أن التفاعلات الضوئية الكيماوية photochemical فى لبن الفراولة يؤدى إلى تكوين مواد التى تبدو أنها سامة لخلايا البكتريا.

جدول (١١-٢) : تأثير عصائر الفاكهة على الوقت اللازم لأعداد الخلايا الحية لميكروب *Lb. acidophilus* للانخفاض ٢ دورة لوغاريتمية فى لبن متخمر (١٠% جوامد كلية) .

لبن متخمر	pH الناتج	درجة حرارة التخزين (°م)	عدد الخلايا الحية الأولية/مل	الوقت اللازم للانخفاض (يوم)
لبن لا يحتوى عى عصير فاكهة	٣,٨	٥	١٠×١^{٩}	١٥
لبن + ٣ % عصير فراولة	٣,٨	٥	١٠×١^{٩}	٥
لبن + ٣-١٠ % عصير برتقال	٣,٨	٥	١٠×٨^{٨}	١٥
لبن + ٣-١٠ % عصير عنب	٣,٨	٥	١٠×١^{٩}	١٥
لبن + ٣-١٠ % عصير تفاح	٣,٨	٥	١٠×٩^{٨}	١٥
لبن + ٣-١٠ % عصير مانجو	٣,٨	٥	١٠×١^{٩}	١٥
لبن + ٣-١٠ % عصير أناناس	٣,٨	٥	١٠×٩^{٩}	١٥

تجهز الفاكهة ، والمكسرات (بدرجة أقل) ، فى صورة بورية معامل حرارياً heat-treated purees فى علب (cans) كبيرة أو فى عبوات كبيرة الحجم bulk للاتصال المباشر بخط إنتاج اليوجهورت . كان بورية الفاكهة المستخدم أصلاً يشبه المربى ، لكن يفضل حالياً البورية الأخف الذى يبلغ تركيزه ٣٠-٥٠ درجة بركس brix ، ويتم الحصول على القوام المرغوب من خلال استخدام المثبتات . يجب التأكد بكل دقة أن المثبتات المستخدمة لا تؤثر على الطعم (أنفراد الطعم flavor-release) . تجرى عمليات الإضافة فى اليوجهورت السائل (المقلب) بعد التخمر ، لكن فى اليوجهورت المتماسك القوام (الجامد set-type) توضع طبقة من الفاكهة فى جل لزج viscous فى العبوة قبل تعبئتها باللبن الملقح inoculated milk . ما زال ثانى أكسيد الكبريت sulphur dioxide يستخدم كمادة حافظة فى الفاكهة ، وأحياناً يسبب طعماً غير مرغوباً فى يوجهورت الفاكهة fruit yoghurts .

عادة تضاف المثبتات قبل عملية التجنيس والمعاملة الحرارية ، حيث يؤدى ذلك إلى القضاء على الميكروبات المرضية غير المتجرثمة والميكروبات المسببة للفساد. ومع ذلك ، قد تضاف المثبتات بعد البسترة ، مع مادة حاملة carrier مثل المواد المكسبة للطعم أو الملونات .

انخفاض النشاط المائى water activity (a_w) الناتج من إضافة المواد المحلاة (المحليات) قبل عملية التخمر ، قد يؤثر على نمو ميكروبات البادئ . عموماً فإن a_w الأكثر انخفاضاً يشجع نمو *Str.thermophilus* أكثر من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، وقد يؤدى إلى مشاكل فى الجودة ناتجة عن النمو غير المتوازن unbalanced growth بين الميكروبين . تختلف الاستجابة للمحليات المختلفة ، حيث يتم تثبيط كل من الميكروبين بواسطة الجلوسيتول عند تركيزات تتجاوز ٧ % ، بينما الفركتوز يشجع من نمو *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* أكثر من *Str.thermophilus* .

٢-٨- إضافة البادئ

يتم تبريد اللبن بعد المعاملة الحرارية إلى درجة حرارة التحضين طبقاً لنوع البادئ المستخدم . فى اليوجهورت ، تتضمن عملية التخمر عادة نمو مشترك من

Lb.delbrueckii ssp. *bulgaricus* و *Str.thermophilus* ، بالرغم من أن *Lb.helveticus* ssp. *jugurti* يستخدم أحياناً بدلاً من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* .

العلاقة بين ميكروبات البادئ تكون تعاونية synergistic ، يزيد نشاط *Str.thermophilus* بواسطة الأحماض الأمينية والببتيدات الناتجة من الكازين بواسطة Lactobacilli التى بدورها تنشط بواسطة حامض الفورميك الناتج بواسطة Streptococci . يستخدم حالياً على النطاق الكبير من الإنتاج بادئات معّرفة السلالة (وحيدة أو متعددة السلالة) single or multiple strain defined cultures بدلاً من بادئات السلالات المختلطة التقليدية traditional mixed strain cultures . المشاكل الناجمة عن نشاط البكتريوفاج bacteriophage تكون نادرة نسبياً ، بالرغم من أن السلالات (mutants) المقاومة للفاج تستخدم فى أستراليا . يستخدم معظم الإنتاج الحديث على نطاق واسع طريقة التخمر السويع short-set method ، حيث يضاف البادئ بمعدل ٢ % (حجم/حجم) مما يساعد على إتمام عملية التخمر فى خلال ٤ ساعات عند درجة حرارة تحضين ٤٠-٤٢°م ، عند هذه المرحلة تصل الحموضة إلى ٠,٩ — ٠,٩٥ % . مازالت كميات صغيرة من اليوجهورت تصنع باستخدام طريقة التخمر البطئ long-set process ، حيث يضاف البادئ بمعدل ٠,٥ % (حجم/حجم) وتتم عملية التخمر فى خلال ١٤-١٦ ساعة عند ٣٠°م . يفضل استخدام الطريقة البطيئة عند استخدام مزارع البادئ السائلة .

يستخدم التلقيح المباشر فى الحوض Direct-Vat-Inoculation (DVI) على نطاق واسع فى الإنتاج الكبير ، خاصة فى الولايات المتحدة الأمريكية حيث يتم التحضين عند ٤٢°م لفترة تصل إلى ٥ ساعات. يمكن الحصول على مزارع البادئات فى صورة معلقات مجمدة فائقة التركيز super-concentrated frozen suspension أو فى صورة مجففة . تكون المزارع المجففة أكثر سهولة فى الاستخدام وتتفوق تكنولوجياً نتيجة القدرة على الخلط الجاف للميكروبين المكونين للبادئ ليعطى سيطرة دقيقة للغاية للصفات النهائية لليوجهورت.

يتم تخمير اليوجهورت المتماسك القوام (set-type) فى عبوات الاستهلاك النهائية (عبوات التسويق retail containers) ، والتحضين سواء على نظام الدفعات batch فى حمامات مائية أو غرفة معدلة الحرارة ، أو بطريقة مستمرة ، خلال المرور فى نفق ساخن heated tunnel حيث تمرر الحاويات المحملة بعبوات اليوجهورت خلال النفق على سير ناقل ، يتم التحكم فى سرعة السير الناقل وطوله طبقاً لدرجة حرارة التحضين ونسبة البادئ المستخدم ونشاطه . يتم تخمير اليوجهورت السائل (المقلب) فى خزانات متعددة الأغراض multipurpose tanks أو فى أوعية تخمر خاصة . تستخدم مقلبات على سرعة بطيئة إلى متوسطة لمدة لا تزيد عن ٥-١٠ دقائق ، حيث أن ذلك يؤدى إلىإنتاج القوام والتركيب المرغوبين، وكذلك يبطئ من عملية التخمر ، ويقلل من مخاطرة الحموضة الزائدة . يتوقف القوام النهائى لليوجهورت على العمليات التصنيعية ، لكن دور ميكروبات البادئ فى إنتاج القوام اللزج الناعم المرغوب من خلال إنتاج المواد اللزجة slime، يجب أن تؤخذ فى الأعتبار وكذلك دور المواد اللزجة slime فى تقليل الحاجة إلى مثبتات ، فى احتجاز الطعم flavor retention ، وفى إنتاج مظهر لامع (مصقول) glossy appearance . الأمر يتطلب مراقبة دقيقة لتجنب التركيب الخيطى (اللزج) ropy texture . تتكون الطبقة اللزجة slime عادة من سكريات عديدة polysaccharides تفرز خارج الخلايا محتوية على سكر أمينى amino sugar ، الكمية الناتجة والتركيب البنائى يختلف من سلالة إلى أخرى .

يختلف اليوجهورت العلاجى عن الأنواع التقليدية فى سيكروبات البادئ المستخدم ، بينما تتشابه فى النواحى الأخرى من تكنولوجيا الإنتاج . تستخدم *Lb.acidophilus* ، *Bif.bifidum* أو *Bif.longum* ، وأقل شيوعاً *Lb.casei* ومتوفرة كمزارع تجارية فى صورة توليفات مختلفة . يتم تحضير اليوجهورت العلاجى باستخدام مزارع بادئات علاجية بمفردها أو مع بكتريا بادئ عادى . إنتاج حامض بواسطة بادئات علاجية يكون بطيئاً فى غياب بكتريا البادئ العادى، ويجب اتخاذ احتياطات صارمة ضد التلوث والنمو الزائد للميكروبات غير المرغوبة، كما يمكن تحسين النشاط العلاجى بوجود مزارع البادئ العادى.

من الضرورى أن تكون بكتريا البادئات المستخدمة فى اليوجهورت العلاجى قادرة على مقاومة الظروف البيئية فى القناة الهضمية للإنسان والوصول إلى الأمعاء ، حيث يبقى نشطاً فى وجود الصفراء bile ولها القدرة على إستيطان الأمعاء . الحد الأدنى من الخلايا الحية ١٠^{٦}/مل (أقل جرعة علاجية therapeutic minimum) يعتبر ضروري للنشاط العلاجي ، لكن الأعداد الأكثر واقعية تكون حوالي ٨ × ١٠^{٦} خلية /مل . ميكروبات كل من *Bifidobacterium, Lb.acidophilus,* تكون غير مقاومة للحموضة ، ولضمان وجود أقل جرعة علاجية فى الناتج النهائى ، فإنه من الضرورى أن يستخدم معدل تلقيح ١٠-٢٠ % أو المحافظة على قيم pH النهائى أعلى من ٤,٦ سواء بواسطة تنظيم buffering القدرة التنظيمية لليوجهورت أو انتهاء عملية التحضين عند pH ٤,٩-٥,٠ .

وعموماً، يختلف معدل التلقيح بالبادئ من ٢-٣% فى اليوجهورت ، ١٠ % فى الألبان المتخمرة العلاجية إلى ٣٠% فى الكوميس.

٢-٩- تكوين الخثرة

خثرة اليوجهورت أساساً من النوع الحامضى (خثرة حامضية) acid-type، مماثلة لخثرة الجبن الحامضية . يوجد فروق رئيسية بين خثرة اليوجهورت وخثرة الجبن الحامضية ، حيث يكون انفصال (طرد) الشرش ، مرغوباً فيه فى صناعة الجبن لتكوين الخثرة ، ولكنه يكون غير مرغوباً فيه فى اليوجهورت وغيره من الألبان المتخمرة . جسيمات الكازين ، تعمل كهيكل عظمى ، يتكون من α_{s1}-casein مرتبطاً مع β-casein وفوسفات الكالسيوم غير مائى amorphous محاطاً بطبقة واقية من $_{k}$-cascin . عندما ينخفض pH أثناء التخمر ينفرد الكالسيوم نتيجة التحميض acidification ، لكن يبقى الهيكل.

يحدث تجمع للكازين بعد التشتيت الذى يبدأ بواسطة β-casein عندما ينخفض pH بدرجة كافية ، ويحمل المكونين الرئيسين للكازين (α-,β-casein) شحنات معاكسة opposite charges. استمرار انخفاض pH الذى يعقبه انكماش، عندما يصبح β-casein موجب الشحنة ويبقى α_{s1}-casein سالب الشحنة ،

وفى النهاية تتكون الشبكة . معدل تكوين الحموضة على درجة كبيرة من الأهمية فى تكوين الشبكة ، إنتاج حموضة بدرجة سريعة يؤدى إلى الترسيب (كازين حامضى).

وقد أوضحت الدراسات التى أجريت باستخدام طريقة ضوئية تعتمد على انعكاس الضوء لدراسة التجبن الحامضى للبن ، أن κ-casein, β-casein يعاد دمجهما فى هيكل الجسيمات ، يتغلب على قوى التشرب والتنافر الكهربى ويحدث أنجذات أكثر الذى يبدأ بتكوين شبكة بروتين ثلاثية الأبعاد . وفى دراسات إضافية أخرى فى هذا المجال باستخدام GDL (glucono-δ-lactone) ، أوضحت أن أنهيار الطبقة الشعرية hairy layer للـ κ-casein فى جسيمات الكازين عند pH منخفض هو العامل الرئيسى الذى يؤدى إلى التجمع aggregation عند درجات حرارة أعلى من ٣٠°م مما يؤدى مباشرة إلى التجمع ، بينما عند ١٥-٢٠°م يحدث ذوبان لبروتين الجسيمات الذى يعقبه إعادة اندماج الكازين الذائب والمتجمع.

يتأثر التركيب الدقيق microstructure والصفات الطبيعية لخثرة اليوجهورت بتدعيم اللبن المستخدم فى الصناعة والتغيرات فى مستوى البروتين ونسبة الكازين إلى نيتروجين البروتين اللاكازينى non-cascin nitrogen protein، الصفة الأخيرة تكون على جانب كبير من الأهمية فى تقدير الصفات الطبيعية . نسبة الكازين إلى نيتروجين البروتين اللاكازيني non-casein protein ٣,٢ — ٣,٤ : ١,٠ تعطى خثرة أفضل جودة ، نسب أقل من ذلك تعطى خثرة طرية مع انفصال الشرش ، ونسب أعلى من ذلك تعطى خثرة خشنة.

التحلل الناتج عن الإنزيمات المحللة للبروتين يكون له تأثير ضار على خثرة اليوجهورت . معاملة اللبن بإنزيمات البروتييز proteases البكتيرية ، التى تحلل κ-casein ، يؤدى إلى خثرة تتميز بأرتفاع الصلابة ، وزيادة انفصال الشرش واللزوجة الظاهرية ، بينما البلازمين plasmin ، الذى يحلل β-casein ، يؤدى إلى انخفاض فى الصلابة واللزوجة الظاهرية وانفصال الرش . فى كلا الحالتين ، تكون قدرة الخثرة على الاحتفاظ بالرطوبة ودرجة التشرب أقل .

تضاف الغرويات المحبة للماء hydrocolloids إلى بعض الألبان المتخمرة كمواد مثبتة وتعمل على تكوين شبكة من الروابط linkage بين مكونات اللبن . تنشأ هذه الصفة سواء من وجود ملح قادر على تجميع أيونات Ca^{2+} أو من وجود مجاميع الشحنات السالبة مثل شقوق radicals الأيدروجين أو الكربونيل . تزيد قدرة الخثرة على الاحتفاظ بالرطوبة نتيجة استقرار شبكة البروتين ليبطئ من الحركة الحرة للماء ، مما يزيد من مستوى تشرب المكونات (أساساً البروتينات) وارتباط ماء التشرب.

٢- ١٠- معاملات ما بعد التخمر

فى معظم أنواع الألبان المتخمرة ، فإن معاملات ما بعد التخمر post-fermentation processing تقتصر على التبريد ، إضافة عصائر أو بوريه الفاكهة ... ألخ والتعبئة . التبريد احدى الطرق الشائعة للتحكم فى النشاط الأيضى metabolic activity للبادئ والإنزيمات الناتجة منه . قد تكون الألبان المتخمرة من النوع المتماسك القوام (set-type) حيث يتم التخمير فى عبوات التجزئة والاستهلاك . الفرق الرئيسى بين النوع المتماسك القوام set-type والنوع السائل (stirred type) هو الصفات الريولوجية rheological properties للخثرة . فى النوع الأول (set-type) ، تكون الخثرة نصف صلبة semi-solid ، بينما فى النوع الثانى (stirred) تتفتت الخثرة فى نهاية فترة التخمير قبل التبريد وعمليات التصنيع الأخرى التالية . هناك العديد من الطرق المختلفة التى يمكن استخدامها لتبريد اليوجهورت ، لكن يجب ملاحظة أن معدل التبريد قد يؤثر على تركيب الخثرة ، لذا فإن التبريد السريع جداً قد يؤدى إلى انفصال الشرش ، ويرجع ذلك إلى الانكماش السريع لشبكة البروتين والتى بدورها تؤثر على قدرتها على الاحتفاظ بالرطوبة . كما أن التقليب الزائد يقلل من لزوجة اليوجهورت ، ويجب تجنب ذلك أثناء التداول handling . قد يجرى لليوجهورت السائل عملية تنعيم smoothing قبل التبريد وذلك بتمريره خلال مصفاه ذات ثقوب ضيقة جداً (تعرف بـ texturizer) ، حيث تكون هذه العملية فعالة فى تقليل التحبب ، لكن يجب أن تتم هذه العملية بعناية فائقة حتى لا تؤدى إلى انخفاض اللزوجة وانفصال

الشرش . الطريقة الشائعة لتبريد اليوجهورت فى الصناعة تتم على مرحلتين ، حيث يتم تبريد اليوجهورت فى المرحلة الأولى إلى ١٥-٢٠°م قبل خلطه بالفاكهة / المواد المكسبة للنكهة وقبل التعبئة . فى مرحلة التبريد الثانية ، حيث يتم التبريد النهائى لليوجهورت إلى ٥°م فى غرف التبريد cold stores .

قد يتم تبريد اليوجهورت فى أنفاق التحضين tunnel لليوجهورت المتماسك القوام set ، حيث يتضمن النفق قسم للتبريد ، بينما يتم تبريد اليوجهورت السائل فى خزانات In-tank cooling متعددة الأغراض ، وقد يستغرق الخزان الذى يبلغ سعته ٢٥٠٠-٥٠٠٠ لتر من اليوجهورت أكثر من ٤ ساعات ليبرد من ٤٥°م إلى أقل من ١٠°م . كما قد يستخدم مبادلات حرارية أنبوبية أو ذات ألواح والذى يعتبر نظاماً فعالاً لتبريد اليوجهورت بسرعة وبصورة مستمرة ، ويلاحظ أن التبريد باستخدام المبادلات الأنبوبية يقلل من الأضرار بقوام الخثرة.

يفضل تعبئة اليوجهورت فى العبوات النهائية مباشرة عقب عملية التبريد . إذا كان ذلك ممكناً ، يجب أن يتم التخزين فى غرف مبردة بأسرع ما يمكن ، ويجب ألا تزيد فترة التخزين عن ٢٤ ساعة . درجة الحرارة المثلى للتخزين ١٠-٢٠°م وذلك لتجنب فقد اللزوجة وانفصال الشرش . قد يعبأ اليوجهورت فى عدد من العبوات تشمل زجاجات بغطاء ألمونيوم أو عبوات بلاستيكية بغطاء من رقائق المونيوم أو البلاستيك.

٣- فسيولوجيا وبيوكيمياء الألبان المتخمرة

بالرغم من أن بكتريا حامض اللاكتيك تنتشر على نطاق واسع فى الطبيعة ، فإن أحتياجاتها الغذائية تكون معقدة . جدول (٣-٣) يوضح القدرة التخميرية ، محتوى DNA من G+C ودرجات حرارة النمو للبكتريا المختلفة التى تستخدم فى تخمير اللبن . يعتبر اللبن بيئة غنية غذائياً التى تدعم نمو كثير من الميكروبات ، لكن المعاملات التصنيعية للبن تساعد على السيطرة على نوع النمو للحصول على نلتج مرغوب . من الصفات المرغوبة التى يجب أن تكون موجودة فى هذه الميكروبات ، القدرة على الحصول على الطاقة من اللاكتوز ، القدرة على تحليل والإستفادة من

بروتينات اللبن وإنتاج طعم ونكهة مقبولين وتركيب جيد . الصفات المميزة الأخرى ، مثل إطالة فترة الصلاحية shelf-life ، الثبات أثناء التخزين ، والفوائد الصحية ، تتوقف أيضاً على النشاط الميكروبى والنشاط الأيضى metabolism . تعتمد كثير من الأغذية المتخمرة على التخمر الطبيعى ، حيث أن أعداد الميكروبات الأساسية (غالباً أنواع من بكتريا حامض اللاكتيك أو الخمائر وأحياناً الاثنين معاً) تزيد على حساب الأنواع الأخرى غير المرغوبة . الإنتاج التجارى للألبان المتخمرة لا تعتمد على حدوث مثل هذه الفرص ، عادة يتم تسخين اللبن قبل التخمير حتى يمكن القضاء على الأنواع غير المرغوبة من الميكروبات ، ثم يلى ذلك التلقيح ببادئ يحتوى على بكتريا معينة مرغوبة للحصول على الصفات المرغوبة فى الناتج النهائى .

٣-١- اللبن كبيئة لنمو الميكروبات

يحتوى اللبن على سكر ثنائى (لاكتوز) ، بروتينات اللبن (كازين وبروتينات شرش) ، دهن ، فيتامينات وأملاح معدنية . كما يحتوى على قليل من الحديد الحر وعدد قليل من الأحماض الأمينية الحرة . النقص فى الحديد الحر يكون كافياً فى بعض الحالات للحد من هذه الميكروبات التى لها احتياجات معينة من الحديد للنمو . يجب أن تكون الميكروبات قادرة على تمثيل اللاكتوز ، أو تكون مصاحبة لميكروبات تستطيع تحليل اللاكتوز وأنفراد سكر يمكن تخميره بواسطة هذه الميكروبات . وقد لوحظ هذا النمو المشترك فى الكفير حيث أن الخمائر التى لا تستخدم اللاكتوز non-lactose-utilizing yeast تكون مرتبطة بشدة مع سيكروبات قادرة على تمثيل اللاكتوز فى حبوب الكفير . نظراً لقلة الأحماض الأمينية الحرة فى اللبن الطازج عقب عملية الحلب ، فإن اللبن مرتفع الجودة يعنى أن الميكروبات يجب أن تحتوى على نظام نشط لتحليل البروتين حيث تعمل الإنزيمات فى تناسق ، تبدأ أولاً فى تحليل روابط ببتيدية معينة فى البروتين ، ثم بعد ذلك تحليل الببتيدات وانتقال ثنائى أو ثلاثى الببتيدات والأحماض الأمينية إلى الخلية حيث يتم تحويلات إضافية أخرى . طبيعة هذه التغيرات تكون على جانب كبير من الأهمية فى صناعة منتجات ألبان مرتفعة الجودة . التركيب البنائي لشبكة

بروتين اللبن وتكوينها تختلف بأختلاف منتجات الألبان . فمثلاً فى صناعة الجبن ، تكون هناك متطلبات لجسيمات الكازين لتندمج وتنكمش لكى ينفصل الشوش . فى اليوجهورت ، انفصال الشرش ظاهرة غير مرغوبة ، لذلك فإن الأمر يتطلب نسيج بروتين ليكون شبكة مفتوحة حيث يتم حجز الشرش فيها . الكفير واللبن الخض ، من ناحية أخرى ، يكون سائل ويستهلك كمشروب . بالإضافة إلى ذلك فإن الكفير يمتلك صفة أخرى تتطلب بناء بروتينى حتى يمكن حجز CO_2 .

٣-٢- النمو المشترك

٣-٢-١- البادئات المحبة للحرارة المرتفعة Thermophilic cultrues

النمو المشترك associative growth بين *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* و *Str.thermophilus* معروف وما زال حقيقة لعديد من السلالات التى تستخدم حتى الآن . فى النمو المشترك ، كل ميكروب يكون مركبات يستفيد منها الميكروب الآخر . ميكروب *Str.thermophilus* الذى يستفيد من نشاط *Lactobacillus* فى تحليل البروتين ، يقوم بدوره فى توفير CO_2 وفورمات formate الذى ينشط الـ *Lactobacillus* . وقد وجد أن كمية CO_2 الناتجة بواسطة *Str.thermophilus* فى اللبن الفرز يكون مرتبطاً بكمية اليوريا المتحللة ، وفى وجود *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* و *Lb.acidophilus* يختفى CO_2 . وقد لوحظت الاستفادة المتبادلة فى اللبن ، بينما فى بيئة LAPT (المحتوى على مستخلص خميرة ، ببتون ، تريبتون وتوين Tween) مع سكريات مختلفة ، فقد لوحظ التأثير المنشط لميكروبات *Streptococcus* على ميكروبات *Lactobacillus*. وهذا التأثير نتيجة متوقعة ، حيث يكون مصدر النتروجين فى بيئة LAPT متاحاً بسهولة ولا يعتمد على نشاط تحليل البروتين (ميكانيكية تنشيط *Streptococcus*) . لذلك ، فإن البيئة المستخدمة قد توضح فقط جانب واحد من المشاركة ، الذى يعتمد أساساً على مسارات تمثيل الكربون . وهذا يوضح أهمية جودة اللبن كبيئة نمو ، حيث يحتوى اللبن على مصدر وافر من سكريات ثنائية بسيطة ، ومصدر وافر من النتروجين ولكنه معقد . كما أنه من المهم الإشارة إلى أن كلا من الميكروبين ينمو بدرجة جيدة فى اللبن . وفى الحقيقة ، فإن كثير من

اليوجهورت الحيوى المعتدل mild bio-yoghurts تحضر باستخدام بادئ مختلط ، بعضها يحتوى على *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* أو *Str.thermophilus* ، ولكن لا يعتمد أى منهما على تنشيط متبادل للنمو والنشاط الأيضى لحدوث تخمر جيد .

٣-٢-٢- البادئات المحبة للحرارة المعتدلة Mesophilic cultures

ميكروبات Leuconostocs ، بالرغم من استخدامها على نطاق واسع فى صناعة الألبان ، لا تنمو جيداً فى اللبن. فمثلاً ، *Leuconostoc lactis* تنمو فى لبن عباد الشمس litmus milk منتجة حامض ولكن بدون اختزال عباد الشمس، وقد يعزى ذلك إلى عدم قدرة الميكروب على تحليل البروتين . عادة تنمو Leuconostocs فى مزارع مختلطة مع Lactococci ، التى تتميز بقدرة جيدة على تحليل البروتين ، ونتيجة لذلك يحدث النمو المشترك . وقد وجد أن معدلات نمو *Leuc.lactis* تكون أعلى بدرجة كبيرة عندما تنمو فى وجود *Lc.lactis* ssp. *lactis* ، ولكن لا يحدث تغيير فى معدل نمو الميكروب الأخير.

الكفير لبن متخمر تقليدى معروف فى شرق تركيا ، بولندا وتمتد للغرب إلى شمال إيرلندا ، يعتبر مثال آخر حيث يكون النمو المشترك على جانب كبير من الأهمية . يعتمد هذا اللبن المتخمر على التخمر ببادئ مختلط يحتوى على خمائر مخمرة للاكتوز وأخرى غير مخمرة للاكتوز وبكتريا حامض اللاكتيك (*Lc.lactis* ssp. *lactis* & *Lb. kefir*) . تفضل الخمائر غير المخمرة للاكتوز (*Saccharomyces cerevisiae*) الجلاكتوز، حتى عندما يوجد الجلوكوز فى البيئة بالإضافة إلى الجلاكتوز ، الذى يكون متاحاً فى اللبن ، نتيجة للنشاط الأيضى لبكتريا حامض اللاكتيك، كمصدر للكربون . ومع ذلك ، فإن *Lc.lactis* ssp. *lactis* *cremoris*, *Lc.lactis* ssp. *lactis* قد لا تفرز جلاكتوز عندما يستخدم اللاكتوز، حيث تقوم هذه الميكروبات بتمثيل هذين الشقين من السكر فى جزئي اللاكتوز معاً فى وقت واحد ، وبالتالى فإن *Lb.kefir* قد يقوم بتوفير مصدر الكربون . ومع ذلك ، فإن هذا الميكروب الأخير ، الذى يعزل أساساً من حبوب الكفير ، يخمر فقط سكر الأرابينوز arabinose ، بالرغم من أنه بعد التنشيط sub-culturing

فإنه سوف يخمر سكريات أخرى ، تشمل اللاكتوز . لذلك ، فإنه يعتقد أن الخمائر المخمرة للاكتوز (*Candida kefyr*) تفرز الجلاكتوز اللازم للخمائر غير المخمرة للاكتوز، ويحدث النمو المشترك بين الخمائر، وليس بين الخمائر وبكتريا حامض اللاكتيك. وقد وجد فى مصانع اللبن الخض فى إيرلندا الشمالية أن الخمائر تكون قادرة على تنشيط نمو Lactobacilli .

٣-٢-٣- الميكروبات غير التقليدية Non-traditional organisms

إدخال سلالات من *Lb.acidophilus* ، *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* وأنواع معينة من *Bifidobacterium* فى اليوجهورت أصبح شائعاً الآن وتسوق هذه المنتجات تحت ما يعرف بالمنتجات الحيوية bio-products . هذه المنتجات غير تقليدية حيث أن هذه الميكروبات ليست ميكروبات ألبان حقيقية ، وموطنها الطبيعى القناه الهضمية للثدييات . ميكروبات Bifidobacteria ، تختلف عن *Lb.acidophilus* ، *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، *Str.thermophilus*, ، حيث أنها ميكروبات مختلطة التخمر heterofermentative وتنتج خلات acetate بالإضافة إلى اللاكتات . اللبن المتخمر بواسطة *Bif.bifidum* عند ٣٧°م إلى أن يصل إلى pH ٤,٥ يحتوى على نسبة مولية من اللاكتات إلى الخلات ٢ : ٣ ولذلك يكون الطعم مختلفاً .

قدرة بعض أنواع من Bifidobacteria على تخمير السكريات العديدة oligosaccharides مثل الأنيولين inulin و oligofructose يساعد على نمو Bifidobacteria فى الأمعاء الغليظة . سكر oligofructose ينشط بصفة خاصة Bifidobacteria فى وجود الميكروبات اللاهوائية فى الأمعاء الغليظة ، مثل *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. ، إدخال هذه المواد غير القابلة للهضم non-digestible ويطلق عليها "pre-biotics" فى الغذاء قد يؤثر بطريقة مفيدة على العائل وذلك بتحسين الاتزان الميكروبى microbial balance فى الأمعاء .

قامت صناعة الألبان بإنتاج يوجهورت حيوى bio-yoghurts حيث كانت هذه المنتجات ناجحة من حيث الطعم والتركيب البنائى . بادئات الألبان وغير الألبان dairy & non-dairy cultures قد تنمو معاً ، ولكن لا تتوفر دراسات

كافية عن النمو المشترك بين هذه الأنواع . ويعتقد أن أعداد الميكروبات فى الألبان المتخمرة المحتوية على *Lb.acidophilus* ، وأنواع من Bifidobacteria متغيرة حيث أن استهلاك الأكسجين بالبكتريا الكروية *Str.thermophilus*, تساعد على المحافظة على الميكروبات الوقائية probiotic .

٣-٣- تمثيل الكربوهيدريت

ميكروبات Lactococci ، Bifidobacteria, Lactobacilli التى تستخدم فى الألبان المتخمرة لا تحتوى على دورة حامض الستريك (ثلاثى الكربوكسيل) tricarboxylic acid cycle بالرغم من وجود بعض إنزيمات هذه الدورة فى هذه البكتريا. يتم الحصول على الطاقة بدرجة كبيرة عن طريق فسفرة مواد التفاعل substrate-level phosphorylation وإنزيمات ATPases فى الغشاء السيتوبلازمى. يتم تمثيل الكربوهيدريت من خلال مسارات التخمر المتجانس والتخمر المختلط وقد تم استعراض المسارات المختلفة لتمثيل السكريات بواسطة هذه البكتريا فى الفصل الأول.

٣-٤- تمثيل النتروجين

معظم بكتريا حامض اللاكتيك تحتاج أو يتم تنشيطها بواسطة ، الأحماض الأمينية . ويتوقف النمو الجيد فى اللبن على تحلل بروتين اللبن بواسطة إنزيمات البروتينيز proteinases والببتديز peptidases الخارجية (التى تفرز خارج الخلايا البكتيرية) وتتوفر معلومات أكثر عن أنظمة تحلل البروتين فى Lactococci عنها فى Leuconostocs ، Streptococci, Lactobacilli . وقد تم استعراض هذه الأنظمة ودورها فى تمثيل النيتروجين فى الفصل الأول.

٣-٥- مركبات الطعم

البادئات لم تكن معروفة منذ مئات السنين ، ولكن خلال هذا القرن قام علماء الميكروبيولوجيا والبيولوجية الجزيئية molecular biology بالتعرف على

جدول (٣-٣) : بادئات الألبان المتخمرة ونواتج التخمر الرئيسية .

ميكروبات البادئ	نواتج التخمر الرئيسية
١- بكتريا حامض اللاكتيك Lactic acid bacteria	
أ-محبة للحرارة المعتدلة Mesophilic	
Lactococcus lactis ssp. *lactis*	L(+) lactate
biovar *diacetylactis*	L(+) lactate, diacetyl
ssp. *cremoris*	L(+) lactate
Leuconostoc mesenteroides ssp. *mesenteroides*	D(-) lactate, diacetyl
ssp. *cremoris*	D(-) lactate, diacetyl
ssp. *dextranicum*	D(-) lactate, diacetyl
Pediococcoccus acidilactici	DL lactate
ب-محبة للحرارة المرتفعة Thermophilic	
Streptococcus thermophilus	L(+)lactate, acetaldehyde, diacetyl
Lactobacillus delbrueckii ssp. *delbrueckii*	D(-) lactate
ssp. *bulgaricus*	D(-) lactate, acetaldehyde
ssp. *lactis*	D(-)lactate
Lactobacillus fermentum	DL lactate
Lactobacillus helveticus	DL lactate
Lactobacillus kefir	DL lactate
Lactobacillus kefranofaciens	DL lactate
جـ- علاجية Therapeutic	
Lactobacillus acidphilus	DL lactate
Lactobacillus paracasei ssp. *paracasei*	L(+) lactate
biovar. *shirota*	L(+) lactate
Lactobaacillus rhamnosus	L(+) lactate
Lactobacillus reuteri	DL lactate, CO_2
Bifidobacterium adolescentis	L(+) lactate, acetate
Bifidobacterium bifidum	lactate, acetate
Bifidobacterium breve	L(+) lactate, acetate
Bifidobacterium infantis	lactate, acetate
Bifidobacterium longum	L(+) lactate, acetate
٢- خمائر Yeasts	
Candida kefyr	Ethanol, CO_2
Saccharomyces unisporus	
Saccharomyces cerevisiae	Ethanol, CO_2
Saccharomyces exiguus	
Kluyveromyces marxianus	
٣- فطريات Molds	
Geotrichum candidum	

خليط الميكروبات والخريطة الوراثية لهذه الميكروبات . وحالياً تتوفر أكثر من ميكانيكية التمثيل التى تؤدى إلى إنتاج مركبات الطعم والنكهة . جدول (٣-٣) يشمل الميكروبات المرتبطة بالألبان المتخمرة ، مع النواتج الهامة للتخمر .

تختار الميكروبات وتخلط طبقاً لصفاتها . فمثلاً ، الميكروبات المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic وسريعة فى إنتاج الحموضة fast acid-producing تستخدم فى صناعة اليوجهورت ، يحتاج اللبن الخض إلى إنتاج الحموضة بمعدل أبطأ وإنتاج ثنائى الأسيتيل diacctyl ، بينما فى الكفير يتطلب الأمر انفراد CO_2 . اليوجهورت الحيوى bio-yoghuts يستخدم بكتريا غير تقليدية التى تتميز بصفات طعم مختلفة (خلات بالإضافة إلى اللاكتات والأسيتالدهيد). فى كثير من الألبان المتخمرة الحديثة ، خاصة اليوجهورت ، فإن الطعم ينشأ من الفاكهة والإضافات الأخرى ، الطعم الطبيعى يكون ضعيفاً فى الأنواع السادة plain . ينشأ الطعم أساساً من نواتج نشاط ميكروبات البادئ . يتكون عدد كبير من المركبات التى تساهم فى الطعم (جدول ٣-٤) ، لكن حامض اللاكتيك ومركبات الكربونيل carbonyl ، الأسيتالدهيد وثنائى الأسيتيل، تكون لها أهمية بالغة . حامض اللاكتيك مكون رئيسى فى طعم جميع الألبان المتخمرة ، الكميات الموجودة من هذا الحامض تجعل هذه الألبان أكثر استساغة ، الكميات الزائدة تؤدى إلى ظهور عيوب فى الطعم . تختلف الأهمية بالنسبة للأسيتالدهيد وثنائى الأسيتيل طبقاً للبادئ المستخدم . فى حالة اليوجهورت والمنتجات المشابه ، يكون الأسيتالدهيد سائداً ، حيث يكون موجوداً بدرجة ملموسة عندما ينخفض pH اليوجهورت إلى ٥,٠ ، وتصل إلى المستويات القصوى عند pH ٤,٢ ويستقر هذا المركب عند pH ٤,٠ . يرتفع مستوى الأسيتالدهيد بإضافة جوامد اللبن وبالمعاملة الحرارية المنشطة للبادئ . كما أن نوع اللبن يؤثر على إنتاج الأسيتالدهيد ، حيث يحتوى يوجهورت اللبن البقرى على مستوى أعلى ويوجهورت لبن الغنم على مستوى أقل . يحدث بعض الفقد فى الأسيتالدهيد أثناء التخزين ، خاصة عندما يوجد الدهن بمستويات منخفضة فقط.

جدول (٣-٤) : مركبات الطعم فى الألبان المتخمرة

- **أحماض غير طيارة non-volatile acids**

  لاكتيك ، بيروفيك ، أوكساليك ، سكسنيك
- **أحماض طيارة volatile acids**

  فورميك ، خليك ، بروبيونيك ، بيوتريك
- **مركبات كربونيل carbonyl compounds**

  أسيتالدهيد ، أسيتون ، أسيتوين ، ثنائى الأسيتيل
- **مكونات متنوعة miscellameous**

  أحماض أمينية و/أو مكونات تتكون نتيجة التحلل الحرارى للبروتين ، الدهن واللاكتوز.

٣-٥-١- مسارات إنتاج مركبات الطعم

استخدام المواد الغذائية بواسطة أي ميكروب يتم بواسطة سلسلة تفاعلات إنزيمية معينة تحقق وظفتين رئيستين : (١) توفير الطاقة اللازم للتخليق الحيوى وعمليات أخرى تعتمد على الطاقة ، مثل آليات الانتقال translocation ، (٢) المحافظة على فسيولوجيا الخلية . المسارات التى تزيد من المواد الناتجة (الأولية) تعرف بعمليات الهدم catabolic ، مثل مسارات تمثيل اللاكتوز ، بينما المسارات التى تكون تخليقية synthetic مثل التى تنتج سكريات عديدة ، تعرف بعمليات البناء anabolic ، ويوجد مسارات وتفاعلات مركزية تربط بين مسارات الهدم والبناء فى بكتريا حامض اللاكتيك . مسارات الهدم catabolic الهامة تعتمد على الإنزيمات التى تحلل اللاكتوز وبروتينات اللبن ، التى قد تكون مسئولة عن الطعم والنكهة فى الألبان المتخمرة.

هدم اللاكتوز lactose catabolism يكون أساساً عملية أكسدة oxidative وتولد نيكلوتيدات مختزلة. هذه النيوكلوتيدات تكون محدودة ويحتاج الأمر إلى عملية تدوير re-cyling . النواتج النهائية الرئيسية لمسارات التمثيل عبارة عن حامض لاكتيك (شكل ٣-٢ الفصل الأول)، وهذا المركب يكون مسئولاً عن المذاق الحامضي فى جميع الألبان المتخمرة.

أ- ثنائى الأسيتيل

ثنائى الأسيتيل diacety هو المركب الذى يعطى للبن الخض وبعض أنواع من اليوجهورت نكهة زبدية buttery غير حامضية sweet . ينتج هذا المركب بواسطة Leuconostocs , *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* عندما توجد السترات. لا تمثل السترات للحصول على الطاقة (مصدر للطاقة) ، ولكن تستخدم بسهولة فى وجود كربوهيدريت أخرى قابلة للتخمر . شكل (٩-٥ الفصل التاسع) يبين مسار تخليق مكونات النكهة من السترات . ينفرد CO_2 نتيجة عملية نزع مجموعة الكربوكسيل decarboxylaction مع تكوين مركب وسيط acetaldehyde-thiamine pyrophosphate (acetaldehyde-TPP). هذا الألدهيد النشط يبقى مرتبطاً بإنزيم pyruvate decarboxylase الذى يحتاج إلى thiamine pyrophosphate كعامل مساعد له . قد يعقب ذلك عملية نزع مجموعة الكربوكسيل بواسطة عدد من التغيرات المختلفة تؤدى إلى إنتاج ثنائي الإسيتيل والأسيتوين acetoin و 2,3-butanediol أو أحدهما . إنزيم citrate lyase ، أول إنزيم فى المسار ، وإنزيم acetolactate synthasc الذى يزيد من acetolactate الذى يتكون منه الأسيتوين acctoin ، قد تم تنقيتها من *Lc.lactis* ssp. *lactis* وأنواعه .

يوجد نوعان من مسارات التمثيل التى تنتج diacetyl ، نزع مجموعة الكربوكسيل مع أكسدة oxidative decarboxylation للـ acetolactate وتكثيف acetaldehyde-TPP مع acetyl CoA . وقد وجد أن المسار الأول ليس المسار الرئيسى حيث لا تكوّن السلالات كميات كبيرة من acetolactate. يتوقف التحلل على pH وجهد الأكسدة والاختزال (E_h) . إذا أفرزت السلالات acetolactate عند بداية التخمر فى اللبن ، عندما تكون E_h مرتفعة ، فإنها سوف تتحلل إلى diacetyl , acetoin . ومع ذلك ، إذا كانت acetolactate موجودة فى نهاية التخمر عندما تكون E_h منخفضة ، فإن الأسيتوين acetoin سوف يتكون فقط . تمثيل السترات والسكر معاً يؤدى إلى زيادة معدلات النمو ، مما يعطى للميكروب ميزة تمثيل السترات . ويتم ذلك بتحويل مسار البيروفات بعيداً عن الإيثانول إلى ناحية إنتاج اللاكتات لكى يعيد توليد NAD . وقد وجد

فى بعض سلالات من *Leuconostoc* ، أن تمثيل السترات مع الجلوكوز يؤدى إلى نواتج نهائية من الخلات واللاكتات ، بينما عدد قليل من السلالات فقط تنتج ثنائى الأسيتيل والأسيتوين acetoin . تمثيل اللاكتوز مع السترات فى *Lactococcus* Cit^+ ينتج ثنائى الأسيتيل والأسيتوين 2,3-butanediol, actoin ، مع أعلى إنتاج يتوافق مع إختفاء السترات من البيئة . وقد تم دراسة إنزيم acetolactate synthase فى Lactococci ووجد أن الإنزيم يكون نشطاً فقط عندما تكون مستويات البيروفات داخل الخلايا intracellular مرتفعة (كما فى حالة تمثيل السترات مع اللاكتوز) . لذلك ، فى Lactococci ، يتكون الأسيتوين acetoin أساساً لمنع تراكم البيروفات.

ب- الأسيتالدهيد

يكون الأسيتالدهيد acetaldehyde على درجة كبيرة من الأهمية فى طعم ونكهة اليوجهورت ، قد يختزل الأسيتالدهيد إلى إيثانول بواسطة إنزيم alcohol dehydrogenase . بكتريا بادئ اليوجهورت *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus, Str. thermophilus* ، لا تحتوى على هذا الإنزيم ، لذلك فإن أى أسيتالدهيد يتكون داخل الخلية سوف يفرز كناتج نهائى لعملية التمثيل . قد لا ينطبق ذلك على الميكروبات غير التقليدية مثل *Lb. acidophilus* ، حيث أن كثير من السلالات تختزل الأسيتالدهيد إلى إيثانول بواسطة alcohol dehydrogenase. عندما تنمو الميكروبات الوقائية probiotic organisms مثل *Lb.paracasei* ssp. *paracasei, Lb.acidophilus* فى اللبن ، فإن مسار phosphoketolase إلى أسيتالدهيد قد ينشط ، وأن الأسيتالدهيد سوف يفرز حيث أن النشاط النوعى specific activity للإنزيمات التى تخلق الأسيتالدهيد أعلى منه لإنزيم alcohol dehydrogenase .

مسارات إنتاج الأسيتالدهيد ليست من الضرورى أن تتكون من تحليل الكربوهيدريت . تمثيل النتروجين يكون على جانب كبير من الأهمية فى هذا الشأن. الحامض الأمينى threonine ، عندما يتحول إلى حامض أمينى آخر ، الجليسين glycine ، يؤدى إلى إنتاج كمية مولية متساوية من الأسيتالدهيد ، هذه الميكانيكية قد تكون هامة أيضاً فى Lactobacilli .

٣-٦- التخمر بواسطة الخمائر والفطريات

تمثيل الفطر يؤدى إلى ثلاث أنواع من التغيرات التحليلية degradative changes التى تساهم جميعاً فى الطعم . هذه التغيرات تشمل تحليل الدهن lipolysis ، تمثيل الجليسريدات الثلاثية ، تحليل الكازين وأكسدة حامض اللاكتيك . الفطريات التى تستوطن سطح منتجات الألبان المتخمرة تكون أساساً فطريات مؤكسدة oxidative وقادرة على تمثيل حامض اللاكتيك ، مما يؤدى خفض الحموضة موضعياً. قد يؤدى تحليل الدهن إلى تكوين أحماض دهنية متوسطة السلسلة ، توجد أحماض دهنية مشبعة متوسطة السلسلة ($C_5 - C_{12}$) فى ألبان معظم الثدييات ويمكن أن تنفرد بواسطة إنزيمات الليبيز فى اللبن . بالإضافة إلى مساهمة هذه الأحماض فى الطعم ، فإن الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة قد يتم تمثيلها إلى درجة أبعد من ذلك ويتكون مركبات ميثيل كيتونات ، مركبات طيارة هامة فى طعم الجبن الطرية والنصف طرية.

جميع الخمائر والفطريات التى ترتبط مع الألبان المتخمرة تحلل الكازين . سلالات *Geotrichum candidum* تختلف فى قدرتها على تحليل البروتين ، بعض السلالات تكون لها قدرة ضعيفة على تحليل البروتين . نشاط تحليل البروتين داخل وخارج الخلية يكون متماثل ، ودرجة pH المثلى تقع بين ٥,٥ ، ٦,٠ والحد الأقصى للثبات عند pH ٥,٠ إلى ٦,٥ . إنزيمات peptidases من المحتمل أن تكون endopeptidases .

طعم الكفير لا يعزى فقط إلى تمثيل بكتريا حامض اللاكتيك ، ولكن أيضاً إلى الخمائر . الأيثانول يكون له تأثير ضعيف على الطعم ، بالرغم من أنه يساهم فى صفات النكهة وقد وجد أن معدل تحليل البروتين فى الكفير يكون أعلى ويحتوى على عدد أكبر من البتيدات عن اليوجهورت.

٣-٧- اللزوجة الميكروبية فى الألبان المتخمرة

تنتج كثير من سلالات LAB سكريات عديدة خارجية exopoly saccharides (EPS) وذلك فى صورة كبسولات capsules ، مواد مرتبطة بقوة بخلايا البكتريا أو مرتبطة بطريقة هشة أو مواد لزجة slime . خلال ١٥ سنة

الأخيرة ، استخدمت بكتريا حامض اللاكتيك المكونة للزوجة slime-forming LAB على نطاق واسع فى صناعة الألبان . استخدمت هذه الصفة فى فنلندا Finland منذ القرن الأخير خاصة فى إنتاج لبن متخمر لزج viscous (ذات قوام مرتفع الثخانة) يعرف بالفيلي Viili . يتكون البادئ المستخدم فى صناعة هذا المنتج بسلالات من بكتريا Lactococci محبة للحرارة المعتدلة ومكونة للزوجة slime-forming مع Lactococci منتجة للنكهة aroma-producing Leuconostocs, . فى نهاية الثمانينات أصبح إنتاج بادئ اليوجهورت اللزج المحب للحرارة المرتفعة thermophilic viscous yoghurt starter أكثر شيوعاً ويستخدم على نطاق واسع لزيادة الجودة الريولوجية rheological quality لليوجهورت ويمنع انفصال الشرش syneresis من الخثرة . تستخدم هذه البادئات اللزجة ، فى بعض الحالات ، ليحل محل المثبتات stabilizers فى اليوجهورت .

وقد وجد أن إنتاج EPS فى Lactococci المحبة للحرارة المعتدلة يرتبط بالبلازميد plasmid ، وقد يفسر ذلك عدم ثبات إنتاج اللزوجة (المواد اللزجة) slime خاصة عند درجات الحرارة الأعلى . ومع ذلك ، فإن صفة إنتاج المواد اللزجة تكون أيضاً غير ثابتة فى سلالات البادئات المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic starter ، بالرغم من عدم من إحتوائها على بلازميدات .

غالباً ما تعتبر البكتريا المكونة EPS أكثر مقاومة للبكتربوفاجات bacteriophages عن البكتريا التى لا تحتوى على كبسولات . وهذه الصفة لا توجد فى Lactococci المحبة لحرارة المعتدلة ، حيث أن هذه السلالات المكونة للزوجة تكون عائلاً للكثير من الفاجات ، كما أن فاجات معينة تستطيع أيضاً أن تذيب المواد الكبسولية حتى للسلالات غير المصابة بالفاجات.

يختلف التركيب الكيماوي للـ EPS فى بكتريا حامض اللاكتيك المحبة للحرارة المعتدلة والمرتفعة بدرجة كبيرة من سلالة إلى أخرى . وقد وجد أن جميع EPS يحتوى جلاكتوز وجلوكوز ، وبعض الأحيان على مكونات شبيه بالسكريات سداسية الكربون hexose-like components ورامينوز rhamnose . وقد وجد أيضاً بروتين فى بعض المواد الكبسولية المعزولة ، لكن وجد أن الأحماض الأمينية لهذا البروتين مماثلة للأحماض الأمينية للشرش . وقد تم حديثاً عزل

جلوكوز، جلاكتوز ، راميزوز ، جليسرول وفوسفور من سكريات عديدة كبسولية لميكروب *Lc.lactis* ssp. *cremoris* ، ويعتقد ان يكون عبارة عن a deacylated lipoteichoic acid . كما تم عزل سكريات عديدة محتوية على فوسفور التى تحتوى على راميزوز ، جلوكوز وجلاكتوز ولكن لا تحتوى على جليسرول.

فى اليوجهورت ، السلالات المنتجة للزوجة slime من *Str.thermophilus* تلعب دوراً هاماً فى تثبيت شبكة البروتين . السكريات العديدة التى تفرز خارج الخلايا (EPS) من المحتمل أن تكون على جانب كبير من الأهمية ، بالرغم من أن lipoteichoic acid قد يشارك فى ذلك أيضاً . تختلف طبيعة EPS من سلالة إلى أخرى ، وقد أشار بعض الباحثين أن الجلوكوز والجلاكتوز مكونات رئيسية ، وأن النسبة بين هذين السكرين متباينة . كما أشارت بعض الدراسات إلى أنه قد يوجد أيضاً سكر أمينى N-acetyl galactosamine وكميات صغيرة من الأرابينوز anabinose ، المانوز mannose ، الراميزوز rhamnose والزيولوز xylose . وقد تم عزل نوع مميز من EPS يتكون من الرامنيور والجلاكتوز بنسبة ١ : ١,٤٧ من مزارع يوجهورت تجارية.

وقد أوضح الميكروسكوب الأليكترونى أن ميكروبات البادئ توجد فى جيوب pockets فى خثرة اليوجهورت ، مع خيوط من EPS تربط الميكروبات بشبكة الخثرة.

دور الطبقة اللزجة slime فى تقدير اللزوجة والتركيب البنائى texture يكون أكثر وضوحاً فى حالة الألبان اللزجة الأسكندنافية . المكون الرئيسي للزوجة (الطبقة اللزجة) فى اللبن المتخمر السويدى Langfil مثلاً ، عبارة عن a deacylated lipoteichoic acid ، وحامض lipoteichoic acid الموجود على السطح قد يشارك فى تكوين اللزوجة فى الفيلى Viili.

إنتاج مواد اللزوجة بواسطة سلالات بادئات أخرى تشمل منتجات مثل phosphopolysaccharides . تحليل مواد اللزوجة slime تعطى نتائج مختلفة ، نتيجة لاختلاف طرق التحليل ، وعموماً تتكون هذه المواد slime من ٤٧% بروتين و ٢٩ % كربوهيدريت . يتكون phosphopolysaccharides ، الناتج

من *Lc.lactis* ssp. *cremoris* ، من ٢١% بروتين و ٤٢% كربوهيدريت ونسبة الكربوهيدريت إلى الفوسفور ٥,٢ : ١ . السكريات الرئيسية : راميز ، جلوكوز وجلاكتوز بنسب ١ : ١,٤٥ : ١,٧٥ ، تحمل المواد اللزجة شحنة سالبة وتكون قادرة على تكوين مركبات معقدة complex مع البروتين.

٣-٨- العناصر الغذائية فى الألبان المتخمرة

معظم الأبحاث عن الحالة الغذائية للألبان المتخمرة ترتبط باليوجهورت . تؤثر عملية التخمر على مستويات العناصر الغذائية الموجودة ، لكن العناصر الغذائية الموجود فى الناتج النهائى تكون صورة مماثلة بدرجة كبيرة لهذه العناصر فى اللبن المستخدم . فمثلاً يوجهورت اللبن الفرز يحتوى على دهن وفيتامينات ذائبة فى الدهن أقل عن يوجهورت اللبن الكامل ، بينما تدعيم اللبن المستخدم بمسحوق اللبن الفرز ، أو تركيز اللبن المستخدم ، يؤدى إلى زيادة فى محتوى البروتينات وغيرها من المكونات الذائبة فى الماء . يحدث فقد فى الفيتامينات غير المقاومة للحرارة أثناء عملية تسخين اللبن المستخدم ، والاختلاف فى عمليات التصنيع قد يفسر التباين فى المحتوى من فيتامينات مجموعة B .

٣-٨-١- التغيرات البيوكيماوية أثناء التخمر

تستخدم بكتريا حامض اللاكتيك العناصر الغذائية فى اللبن لكى تنمو ، حيث تغير هذه البكتريا أثناء نموها من التركيب الغذائى والمظهر الطبيعى للبن . تنقسم العناصر الغذائية فى اللبن إلى عناصر غذائية كبرى وعناصر غذائية صغرى.

أ- العناصر الغذائية الكبرى

توجد العناصر الغذائية الكبرى عموماً بتركيزات مرتفعة فى النظام الغذائى ، وهذه العناصر تكون مصدراً للطاقة . تعتبر الكربوهيدريت ، البروتينات واللبيبدات عناصر غذائية كبرى . قد يطرأ تغيرات رئيسية أثناء المعاملات البيولوجية ، بينما البعض الآخر لا يتأثر بدرجة كبيرة .

▫ الكربوهيدريت

تستخدم بكتريا حامض اللاكتيك LAB اللاكتوز كمصدر رئيسى للكربون من أجل النمو والطاقة . ينتقل اللاكتوز إلى داخل الخلية بواسطة إنزيم permease حيث يتحلل بواسطة إنزيم lactase إلى جلاكتوز وجلوكوز . فى بعض سلالات *Str.thermophilus* ، يتحول اللاكتوز إلى لاكتوز فوسفات lactose-phosphate والذى يتحلل بعد ذلك بواسطة إنزيم phospho-β-D-galactosidase . معظم سلالات *Str.thermophilus* ssp. *Lb.delbrueckii* *bulgaicus*, لا تستخدم الجلاكتوز ويتراكم فى البيئة . تمثل LAB الجلوكوز إلى حامض لاكتيك فى أحد مشابهاته (D- or L-lactic acid) بأتباع مسار Embden-Meyerhof- Parnas (glycolytic) (الفصل التاسع). تتكون كميات قليلة من المكسبات الحسية من خلال مسار تحلل الجلوكوز ، أساساً أحماض دهنية طيارة volatile fatty acids ، إيثانول ، أسيتالدهيد ، أسيتوين acetoin وبيوتانون butanone . مسار تخمر الكربوهيدريت يكون دائماً متجانس التخمر ويمثل حامض اللاكتيك الناتج أكثر من ٨٥% من نواتج التخمر . يخفض حامض اللاكتيك pH اللبن وبالتالى يزيد من فترة صلاحيته . يعطى مول واحد من اللاكتوز مول واحد من الجلاكتوز ، ٢ مول من حامض اللاكتيك وبعض الطاقة لنمو بكتريا البادئ . حامض اللاكتيك فى صورة L(+) وأحماض عضوية أخرى ناتجة أثناء التخمر تمتص فى الأمعاء وتستخدم كمصدر للطاقة . يتم تمثيل حامض لاكتيك فى صورة L(+) ، بينما لا يحدث ذلك لحامض اللاكتيك فى صورة D(-). حوالي ٣٠% من اللاكتوز فى اللبن يتحلل بواسطة إنزيم اللاكتيز من خلايا بكتريا حامض اللاكتيك . يخفض التخمر من محتوى اللاكتوز أثناء صناعة اليوجهورت . بالرغم من تدعيم أو تركيز اللبن المستخدم ، فإن محتوى اللاكتوز فى الناتج النهائى قد يكون أعلى منه فى اللبن السائل .

▫ البروتينات

يزيد تحلل البروتينات من محتوى منتجات الألبان المتخمرة من الببتيدات والأحماض الأمينية الحرة . الزيادة فى الببتيدات والأحماض الأمينية الحرة تعزى إلى إنزيمات endopeptidases, exopeptidases الموجودة فى LAB . لا يحدث تحلل

جوهرى للبروتينات بواسطة LAB أثناء صناعة منتجات الألبان المتخمرة ، مثل اليوجهورت ، يوجهورت الأسيدوفلس acidophilus yoghurt ، لبن الأسيدوفلس واللبن الخض . نشاط تحلل البروتين لبكتريا بادئ اليوجهورت يكون معتدلاً ، لكن على جانب كبير من الأهمية ، ويؤدى إلى نمو تكافلى symbiotic growth بين الميكروبين ، وإنتاج مكونات الطعم .

فى اليوجهورت غير المدعم ، يكون محتوى وتركيب البروتين والأحماض الأمينية الكلية مشابهاً لما هو موجود فى اللبن المستخدم فى الصناعة . يحدث بعض التحلل للكازين ، بالرغم من أن درجة التحلل تكون ضعيفة مقارنة بما يحدث فى الجبن ، ويمثل ما لايزيد عن ١% من البروتين الكلى . تستخدم ميكروبات البادئ بعض نواتج تحلل الكازين ، بينما نواتج أخرى تتراكم فى اليوجهورت ، مثل الأحماض الأمينية الحرة . كميات الأحماض الأمينية الحرة المتراكمة تختلف طبقاً لنوع اللبن ، حيث تكون ٣٣ ملليجم/١٠٠ جم فى يوجهورت لبن الماعز ، ٢٣ ملليجم/١٠٠جم فى يوجهورت اللبن البقرى و ١٨ ملليجم/١٠٠ جم فى يوجهورت لبن الغنم . تمثل هذه الكميات ، مقارنة باللبن المستخدم ، زيادة تصل إلى ١٦٠ ، ٤٠٠ ، ٥٠٠ % على الترتيب . فى اللبن البقرى ، المحتوى الكلى من الأحماض الأمينية الأساسية ترتفع من ١,٢ ملليجم/١٠٠جم إلى ٤,٧٧ ملليجم/١٠٠جم مع زيادة كبيرة خاصة فى البرولين proline ، يليه السيرين serine ، الآلانين alanine ، الفالين valine ، الليوسين leucine والهستدين histidine . تستمر مستويات الأحماض الأمينية الحرة فى الارتفاع أثناء التخزين نتيجة لاستمرار نشاط *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* .

□ الليبيدات

الجليسريدات الثلاثية (الليبيدات lipids) تتحلل بدرجة ضعيفة بواسطة إنزيمات ليبيز LAB . إنزيمات ليبيز *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Str.thermophilus* تكون أكثر نشاطاً بالنسبة للجليسريدات الثلاثية المنخفضة الوزن الجزيئى . بالرغم من أن إنزيمات الليبيز lipases توجد فى هذين الميكروبين (بكتريا بادئ اليوجهورت) ، إلا أن لها تأثير ضعيف على محتوى الألبان المتخمرة من الأحماض الدهنية الحرة . زيادة استخدام لبن فرز أو لبن منخفض الدهن فى

صناعة الألبان المتخمرة يجعل مساهمة تحلل اللبيدات بواسطة إنزيمات ليبيز LAB فى صفات الناتج ضعيفة . وعموماً تختلف درجة التحلل طبقاً لنوع اللبن ، حيث يتأثر كل من تركيز ونمط الأحماض الدهنية الحرة.

ب- العناصر الغذائية الصغرى

العناصر الغذائية الصغرى هى المكونات التى توجد بتركيزات منخفضة ، مثل الفيتامينات والعناصر المعدنية الموجودة فى اللبن . لا تحدث تغيرات جوهرية فى هذه العناصر الغذائية أثناء عملية التخمر.

□ العناصر المعدنية

تحتاج LAB العناصر المعدنية minerals فى نموها ، حيث أن هذه العناصر تحفز وتساعد على حدوث التفاعلات الإنزيمية . ومع ذلك فإن احتياجات هذه البكتريا من هذه العناصر محدودة , ولا تسبب تغيرات هامة فى محتوى الألبان المتخمرة من العناصر المعدنية الكلية . قد يحدث تغيير فى إتاحة بعض العناصر المعدنية حيوياً نتيجة للتغيرات فى pH أثناء عملية التخمر.

□ الفيتامينات

تحتاج LAB بصفة عامة إلى فيتامينات vitamins . كما فى حالة العناصر المعدنية ، فإن فيتامينات B تكون أساسية حيث إنها تحفز وتساعد على حدوث التفاعلات الإنزيمية. عموماً معظم فيتامينات B ما عدا الفولات folate تستخدم بواسطة LAB . نشاط الميكروبات أثناء تخمر اليوجهورت يحدث تغيرات هامة فى محتوى الفيتامينات ، وتعزى هذه الفروق إلى تركيب اللبن المستخدم والمعاملة الحرارية . يتم تمثيل الفيتامينات فى البداية وتخلق بعد ذلك بواسطة ميكروبات البادئ . يحدث تأثير ضعيف على الثيامين thiamine ، ريبوفلافين riboflvine ، حامض نيكوتينيك nicotinic acid وحامض بنتوثنيك pentothenic acid أو البيوتين biotin ، بالرغم أن تركيز الفيتامينين الأخرين عادة تنخفض بدرجة ضعيفة ، بينما فيتامنيات أخرى تزيد . ترتفع مستويات حامض الفوليك بمقدار يصل إلى ١٠٠ % ، كما تحدث زيادة فى محتوى الكولين choline . تعزى الزيادة فى كل حالة بدرجة كبيرة إلى تخليق هذه الفيتامينات بواسطة

Str.thermophilus . يستخدم *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* فيتـــامين B_{12} فى نموه ونشاطه ، لذلك ينخفض مستوى هذا الفيتامين . الجدول (٣-٥) يبـــين التغيرات التى تحدث فى محتوى اليوجهورت من الفيتامينات نتيجة المعاملة الحرارية ، التخمر والتخزين.

جدول (٣-٥) : التغيرات فى محتوى اليوجهورت من الفيتامينات بعد المعاملـة الحرارية ، التخمر والتخزين.

الفيتامين	بعد المعاملة الحرارية	بعد التخمر	بعد التخزين
ثيامين (B_1)	−	−	±
ريبوفلافين (B_2)	±	−	−
بريدوكسين (B_6)	−	−	−
B_{12}	−	−	±
بيوتين	±	−	±
حامض الفوليك	±	+	−
نياسين	±	−	−
حامض بنتوثنيك	±	−	−
فيتامين C	−	−	−
فيتامين A	±	−	−
بيتا كاروتين	±	−	±

± لا يتغير ، + يزيد ، − ينخفض

٣-٨-٢- الإتاحة الحيوية للعناصر الغذائية

تشمل الإتاحة الحيوية للعناصر الغذائيـــة bioavailability of nutrients ، الإتاحـــة availability ، الامتصـــاص absorption ، الاحتجـــــاز retention والاستفادة utilization من العناصر الغذائية . تقويم هذه العناصر يســـاعد علـــى شرح الإتاحة الحيوية الغذائية لمنتجات الألبان المتخمرة . تتضمن الإتاحة الحيويـــة

للعناصر الغذائية تخليق بعض العناصر الغذائية وزيادة إتاحة هذه العناصر عقب عملية التخمر .

□ الكربوهيدريت

يعطى مول واحد من اللاكتوز مول واحد من الجلاكتوز ، ٢ مول من حامض اللاكتيك وبعض الطاقة لنمو بكتريا البادئ . حامض اللاكتيك فى صورة L(+) وأحماض عضوية أخرى الناتجة من التخمر سوف تمتص فى الأمعاء وتستخدم كمصادر للطاقة . يتم تمثيل حامض اللاكتيك فى صورة L(+) بينما لا يحدث ذلك لحامض اللاكتيك فى صورة D (-) . حوالى ٣٠% من اللاكتوز فى اللبن يتحلل بواسطة إنزيم lactase من خلايا LAB . انخفاض تركيز اللاكتوز يكون أحد الأسباب لزيادة تحمل tolerance منتجات الألبان المتخمرة بواسطة الأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز وبذلك يكون له أهمية علاجية therapeutic significance .

□ البروتينات

إتاحة البروتين يكون نتيجة المحتوى الكلي من الأحماض الأمينية . تركيب الأحماض الأمينية الكلية لليوجهورت وغيرها من الألبان المتخمرة لا تختلف إختلافاً جوهرياً عن محتوى هذه الأحماض فى اللبن ، الذى استخدم فى صناعة هذه الألبان المتخمرة ، بالإضافة إلى ذلك ، فإن LAB تحتاج الأحماض الأمينية لكى تنمو.

محتوى الأحماض الأمينية فى اليوجهورت يكون أعلى نتيجة التحلل الجزئى لبروتينات اللبن بواسطة LAB . معدل الاستفادة من بروتين اللبن يكون مرتفعاً جداً والإتاحة الحيوية لبروتينات اليوجهورت ، نتيجة تجارب على الفئران ، لم يتحسن بدرجة كبيرة مقارنة ببروتينات اللبن . تهضم بروتينات اللبن بسهولة ومن غير المحتمل أن البروتينات المهضومة جزئياً فى الألبان المتخمرة وتكوين خثرة ناعمة سوف تحسن من الإتاحة الحيوية للبروتين . الهضم الأولى predigestion للبروتينات قد يكون مفيداً لبعض الأفراد الذى يعانون من نقص فى الإنزيمات الهاضمة digestive enzymes نتيجة لحالة مرضية . بالإضافة إلى ذلك ، فإن بروتينات اللبن المسببة للحساسية allergic milk proteins قد يحدث لها دنترة

denaturation (تغيير فى طبيعة البروتين) أثناء المعاملة الحرارية والتخمر أو أحدهما. دنترة أو هضم أولى لهذه البروتينات تكون مفيدة للأفراد الذين يعانون من حساسية بروتينات اللبن . لذلك فإنه من الناحية الإجمالية فأنه لا تحدث زيادة فى الإتاحة الحيوية الغذائية نتيجة التخمر . من الناحية الفسيولوجية ، بعض الببتيدات الناتجة من تحلل بروتينات اللبن تسبب نشاطاً بيولوجياً. بالرغم من أن هذه الببتيدات تؤثر على امتصاص الكالسيوم ويكون لها تأثيرات دوائية pharmacological على الجهاز العصبى المركزى ، جهاز الأوعية الدموية للقلب cardiovascular ، الجهاز الهضمى digestive system والجهاز المناعى ، فإنه توجد أدلة قليلة حالياً لربط هذه الصفات مع الألبان المتخمرة وعملية التخمر . كما أن هضم هذه الببتيدات بواسطة إنزيمات الجهاز الهضمى تضعف من مصداقية هذه الصفات.

□ العناصر المعدنية

يعتبر الكالسيوم والفوسفور من أهم العناصر المعدنية minerals الأساسية للعظام . اللبن ومنتجات الألبان المتخمرة مصادر ممتازة للعناصر المعدنية الغذائية ، خاصة الكالسيوم ، الفوسفور ، المغنسيوم والزنك . الإتاحة الحيوية للكالسيوم من الألبان المتخمرة تكون مرتفعة ، وتكون سهلة الامتصاص . يسهل امتصاص الكالسيوم فى وجود بعض مكونات الغذاء مثل اللاكتوز .

وقد أوضحت الدراسات على حيوانات المعمل تباين النتائج المتعلقة بالإتاحة الحيوية للكالسيوم من الألبان المتخمرة . عند تغذية الخنازير والفئران بعلائق متزنة ، كانت الاستفادة من الكالسيوم متماثلة لكل من العلائق المدعمة باللبن أو باليوجهورت . تم دراسة الإتاحة الحيوية للكالسيوم ، الفوسفور ، المغنسيوم والحديد من اللبن ، اللبن المعامل باللاكتيز ، اليوجهورت واليوجهورت المبستر على الفئران . وقد وجد أن الإتاحة الحيوية bioavaibility للكالسيوم ، الزنك وخاصة المغنسيوم من الألبان المتخمرة قد انخفض عند قياسها بواسطة الامتصاص المعوى intestinal absorption ، إفراز البول ومحتوى العظام من العناصر المعدنية . أثناء التخمر ، يحدث تمثيل للاكتوز وينخفض امتصاص العنصر المعدنية . بالإضافة إلى ذلك ، فإن اليوجهورت وليس اللبن يقلل بدرجة كبيرة من

امتصاص الحديد فى الأمعاء . عند تغذية أنواع مختلفة من اليوجهورت لفئران مفطومة weaning لمدة ٢٨ يوم ، وجد أن ارتفاع مستوى الكالسيوم فى العليقة، يؤدى إلى ارتفاع كل من رماد العظام والصفات الطبيعية لعظمة الفخذ femur طردياً بالرغم من عدم وجود اختلافات معنوية عالية بين النتائج .

فى الدراسات على الحيوانات المعملية والإنسان ، وجد أن الإتاحة الحيوية للعناصر المعدنية من اليوجهورت تكون مساوية أو أقل مما فى حالة اللبن . أثناء المعاملة البيولوجية يتحلل حوالى ٣٠% من اللاكتوز ، ومع ذلك فإن الإتاحة الحيوية للكالسيوم من منتجات الألبان يكون أعلى مما فى المنتجات النباتية . عموماً فإن منتجات الألبان المتخمرة لا تختلف عن اللبن بالنسبة للإتاحة الحيوية للعناصر المعدنية ، ومع ذلك فإن هذا الاختلاف من الناحية التغذوية ليست على جانب كبير من الأهمية وأن الألبان المتخمرة تعتبر مصدراً ممتازاً للعناصر المعدنية .

□ الفيتامينات

تعتبر الفيتامينات vitamins عوامل مساعدة أساسية فى العمليات الأيضية المختلفة ، ويعتبر اللبن ومنتجات الألبان المتخمرة مصادر جيدة للفيتامينات . يوجد اختلافات واسعة فى محتوى الألبان المتخمرة من الفيتامينات نظراً لأن LAB يغير من محتوى الألبان المتخمرة من الفيتامينات. كثير من LAB تحتاج فيتامينات B للنمو ، بينما عدة أنواع من LAB تكون قادرة على تخليق هذه الفيتامينات . بعض أنواع من LAB تحتاج فيتامينات B ، خاصة حامض الفوليك . تم تقدير مستوى الفولات عند تنمية LAB فى اللبن الفرز ووجد أن *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* تخفض من مستوى الفولات ، بينما *Str.thermophilus*, *Lb.acidophilus* تزيد من مستويات الفولات بدرجة كبيرة . وقد وجد أن تنمية بعض أنواع من Lactobacilli فى لبن فرز مسترجع ، تحتاج إلى فيتامين B_{12} للنمو. وقد أشارت بعض الأبحاث أن محتوى الألبان المتخمرة من فيتامينات B يرجع إلى نوع وكذلك سلالة LAB المستخدمة فى الصناعة.

تؤثر المعاملات التكنولوجية والتخزين للألبان المتخمرة على محتوى هذه الألبان من الفيتامينات . قد تؤثر فترة ودرجة حرارة التحضين على محتوى الألبان المتخمرة من الفيتامينات . وقد لوحظ أن إنتاج بعض فيتامينات B بواسطة LAB

يتوقف على درجة حرارة التحضين . درجة الحرارة المثلى لإنتاج النياسين niacin والفولات folate فى اليوجهورت ٤٢°م ، ولكن ينخفض مستوى حامض الفوليك وفيتامين B_{12} فى اليوجهورت أثناء التخزين عند ٤-٥°م . يكون البيوتين biotin والنياسين niacin وحامض البنتوثينك pantothenic ثابتاً بدرجة كبيرة فى اليوجهورت أثناء التخزين عند ٥°م.

عموماً فإن تركيز فيتامينات B فى الألبان المتخمرة يكون مرتفعاً . تركيز حامض الفوليك أعلى فى القشدة الحامضية sour مقارنة باليوجهورت وليس باللبن الخض الذى يكون مرتبطاً بتركيز الجوامد اللادهنية فى الناتج . وقد وجد أن فيتامينات B يكون أعلى فى اليوجهورت المدعم بجوامد اللبن اللادهنية مقارنة باللبن. من ناحية أخرى فإن معظم فيتامينات B توجد بتركيزات أقل فى اليوجهورت عنه فى اللبن ، باستثناء الفولات . وفى دراسة عن تخليق والاستفادة من حامض الفوليك وفيتامين B_{12} بواسطة LAB فى اليوجهورت ، وجد أن حامض الفوليك فى اليوجهورت ينخفض بعد ٣,٥ ساعة من التحضين . يتم تخليق حامض الفوليك بواسطة *Str.thermophilic* ، بينما يحتاج إليه *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* . عموماً ، عند مقارنة محتوى اللبن من الفيتامينات واليوجهورت ، فإنه من الصعب أن توجد ميزة للألبان المتخمرة على اللبن الطازج . ويجب الإشارة إلى أن المعاملة الحرارية الأولية للبن تكون هامة لإنتاج الصلابة المرغوبة لليوجهورت ومنع إنفصال الشرش . الإتلاف الجزئى للفيتامينات تعتبر أحد عيوب هذه المعاملة الحرارية ، لذلك فإن الأمر يتطلب مزيداً من الدلائل لتأكيد أن الإتاحة الحيوية من الفيتامينات للألبان المتخمرة تكون أفضل تغذوياً عنه فى اللبن .

٤- أنواع الألبان المتخمرة

تختلف طبيعة منتجات الألبان المتخمرة من مكان لآخر ، طبقاً لنوع الميكروبات المستخدمة والظروف المناخية للمنطقة . فمثلاً ، فى الظروف تحت القارية sub-tropical ، فى الشرق الأوسط ، فإنه من المتوقع أن تكون بكتريا حمض اللاكتيك المحبة للحرارة العالية thermophiles (درجة حرارة النمو المثلى

٤٠-٤٥°م) سائدة على الأنواع المحبة للحرارة المعتدلة mesophiles (درجة حرارة النمو المثلى ٣٠°م) السائدة فى شمال أوروبا . فى بعض المناطق ، مثل البلقان والقوقاز ، تصنع منتجات أخرى مثل الكفيرKefir والكوميس Koumiss باستخدام بكتريا حامض اللاكتيك والخمائر.

ما زالت مراحل تصنيع الألبان المتخمرة عملية معقدة ، تشمل علوم الميكروبيولوجيا ، الإنزيمات ، الكيمياء والكيمياء الحيوية ، الفيزياء والهندسة . هناك تشابه كبير فىالنواحى التكنولوجية لصناعة هذه الألبان المتخمرة ، كما تتضمن عملية التخمر ميكروبات متخصصة . يوجد فى جميع أنحاء العالم حوالى ٤٠٠ أسم تستخدم لمنتجات الألبان المتخمرة التقليدية traditional والمصنعة industrialized . تحمل هذه المنتجات أسماء محلية مختلفة ولكنها متشابه تقريباً . يمكن تقسيم الألبان المتخمرة إلى ٣ أنواع طبقاً لمنتجات التخمر (metabolic products) :

١- ألبان متخمرة باستخدام بكتريا حامض اللاكتيك Lactic fermentation

أ- محبة للحرارة المعتدلة mesophilic

مثل اللبن الخض Buttermilk ، اللبن الخض المتخمر Cultured Butter milk واليمر Ymer .

ب- محبة للحرارة المرتفعة thermophilic

مثل اليوجهورت ، الزبادى ، اللبنة (لبن متخمر مركز) ، اللبن الرايب ، السكير Skyr ، اللبن الخض البلغارى Bulgarian Buttermilk.

جـ- علاجية therapeutic

مثل Biograde ، Bifighurt ، لبن الأسيدوفلس Acidophilus milk ، ياكولت Cultura AB, Yakult .

٢- ألبان متخمرة بواسطة بكتريا حامض اللاكتيك وخمائر Yeast-lactic fermentation مثل الكفير Kefir ، الكوميس Koumiss ، لبن أسيدوفلس محتوى على خميرة Acidophilus-yeast milk .

٣- ألبان متخمرة بواسطة بكتريا حامض لاكتيك وفطريات Mold-lactic fermentation : مثل الفيلى Viili .

يتم تصنيع منتجات قريبة الشبه من الألبان المتخمرة بواسطة :

أ- التخلص من الشرش لتركيز الناتج الذى يشبه الجبن الطرى ، مثل اللبنة Lebneh ، اليمر Ymer ، السكير Skyr ولبن الزبر .

ب- تجفيف خليط من الحبوب واللبن المتخمر ، مثل الكشك[1] Kishk .

جـ- تجميد اللبن المتخمر لإنتاج ألبان متخمرة مجمدة frozen fermented milk تشبه المثلجات القشدية .

فى بداية القرن التاسع عشر أشار العالم Conn إلى أهمية نمو البكتريا فى تكوين نكهة فى المنتجات المتخمرة ، وأن تسوية القشدة تهدف إلى ما هو أكثر من إنتاج الحموضة ، حيث وجد أن إضافة الحامض لا يعطى نفس النتائج التى يمكن الحصول عليها عند نمو البكتريا . وقد أقترح أن الحامض والطعم تكون نتيجة تخمرات مختلفة ، وأن النكهة aroma تختلف عن الطعم flavour . ما زالت مصداقية هذه الملاحظات سارية حتى الآن ، وخاصة عندما يتم بدقة اختيار سلالات معينة فى البادئ المختلط للحصول على أفضل طعم ونكهة فى منتجات الألبان المتخمرة . يتم تخمير اللبن بواسطة ميكروبات (بكتريا ، خمائر ، فطريات أو خليط منهم) التى تكون قادرة على تخمير اللاكتوز أساساً إلى حامض لاكتيك، الذى يعتبر مسئولاً عن المذاق الحامضى المرغوب فى جميع الألبان المتخمرة . بالرغم من أن الناتج الرئيسى من التخمر هو حامض اللاكتيك ، فإن نواتج أخرى ثانوية تكون أيضاً حيوية لجودة المنتج وتميزه . قد يضاف ميكروبات منتجة للبوليمرات polymers (سلالات مخاطية ropy strains) لتحسين التركيب البنائى

[1] ينتشر الكشك فى صعيد مصر ، حيث يصنع بغلى حبوب القمح التى تغسل بعد ذلك بالماء البارد للتخلص من المواد الجيلاتنية ثم تنشر فى الشمس على حصيرة أو قماش نظيف حتى يجف . تزال القشرة الخارجية لهذه الحبوب بعد ذلك وتطحن للحصول على مجروش ، الذى يخلط مع لبن الزبر بنسبة ١ : ٢ ثم يترك ليتخمر لمدة ٢٤-٤٨ ساعة ، ثم يقطع بعد ذلك إلى قطع صغيرة ويترك فى الهواء حتى يجف . تتكون المجموعة البكتيرية لهذا الناتج أساساً من : (١) مجموعة بكتريا *Leuconostoc* spp. التى توجد فى لبن الزبر ، حيث تنمو وتتكاثر وتسبب زيادة فى حموضة الناتج بالرغم من عدم وجود سكر اللاكتوز ، (٢) بعض أنواع من الخمائر و (٣) بكتريا متحركة هوائية وخاصة *Bacillus subtilis* ، حيث تقوم بتحليل كمية من نشا الحبوب بفعل إنزيمات الأميليز وإنفراد كميات من السكر التى يتم تخميرها بواسطة *Lactobaillus* spp. وإنتاج الحموضة.

texture للبن المتخمر حتى يكون قوام الناتج جيداً . قد يتلف قوام اللبن المتخمر نتيجة تكوين غاز ، إذا كان التخمر مختلطاً heterofermentative لكن وجود غاز CO_2 يكون ضرورياً لمشروبات اللبن الكحولية alcoholic milk beverages ، الكفير والكوميس ، حيث تعطى لهذه المنتجات صفة الفوران sparkling . جميع هذه الخواص الحسية تكون نتيجة لتخمرات متعددة ، وقد يكون من المقبول اختيار سلالات متعددة multi strain ، أو غالباً أنواع متعددة multi species للتلقيح inoculation للحصول على منتجات ألبان متخمرة جيدة.

٤-١- الألبان المتخمرة باستخدام بكتريا حامض اللاكتيك LAB

هذه الأنواع من الألبان المتخمرة من المنتجات الأكثر شيوعاً فى صناعة الألبان . البادئ المستخدم فى صناعة هذه الألبان تتكون أساساً من LAB . عموماً معظم الألبان المتخمرة (مثل اليوجهورت ، اليمر Ymer ، الداهى Dahi ، اللبن الخض Buttermilk أو المنتجات العلاجية therapeutic products) تستخدم بادئات مختلطة mixed starter ، لكن فى بعض الأحيان يستخدم سلالة واحدة single strain كما فى حالة صناعة اللبن الخض البلغارى Bulgarian buttermilk ولبن الأسيدوفلس Acidophilus milk .

٤-١-١- استخدام السلالات المحبة للحرارة المعتدلة

تستخدم بكتريا أجناس *Lactococcus* ، *Leuconostoc*, *Pediococcus* فى صناعة منتجات "تخمر بكتريا حامض اللاكتيك المعتدلة الحرارة mesophilic LAB" . تشمل LAB المحبة للحرارة المعتدلة mesophilic السلالات التى تكون درجة حرارة النمو المثلى لها حوالى ٢٠°-٣٠°م.

تتكون مزارع بادئات جنس *Lactococcus* من :

Lc.lactis ssp. *lactis*

Lc.lactis ssp. *cremoris*

Lc.lactis biovar *diacetylactis*

كانت تعرف هذه البكتريا بالبكتريا الكروية المحبة للحرارة المعتدلة mesophilic Streptococci وتنتمى إلى Lancefield group N . هذه البكتريا كروية إلى بيضاوية الشكل ، توجد منفردة ، فى أزواج أو فى سلاسل ، موجبة لجرام غير متجرثمة ، شحيحة الاحتياجات الهوائية microaerophilic ، وتنتج L(+) lactate من اللاكتوز ، *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* هو الميكروب الوحيد فى هذه المجموعة الذى ينتج ثنائى الأسيتيل diacetyl . لا تحتوى بكتريا *Lactococcus* spp. على أسواط flagella ، بعض السلالات التى تسبب مخاطية ropy تكون قادرة على إنتاج سكريات عديدة خارج الخلية cxopolysaccharides .

ترتبط بكتريا *Leuconostoc* spp. ، التى تتضمن الأنواع التالية :

Leuc mesenteroides ssp. *mesenteroides.*

Leuc. mesenteroides ssp. *cremoris*

Leuc. mesenteroides ssp. *dextranicum*

وتشترك مع بكتريا حامض اللاكتيك العصوية المختلطة التخمر hetero fermentative lactobacilli فى كثير من الصفات . هذه البكتريا (*Leuconostoc* spp.) تحتاج إلى متطلبات غذائية معقدة ، بعض السلالات تنتج سكريات عديدة خارجية cxopolysaccharide (EPS) . تتميز بعض السلالات *Leuc.mesenteriodes* ssp. *cremoris* بفترة جيل طويلة long generation time (٤٨ ساعة عند ٢٢-٣٠°م) عند مقارنتها بميكروب *Leuc.mesenteroides* ssp. *mesenteroides* ، الذى يتميز بفترة جيل قصيرة (٢٤ ساعة عند ٣٠°م) . يختلف الشكل الظاهرى للخلايا باختلاف بيئة النمو ، فى بيئة الجلوكوز glucose medium ، تميل الخلايا إلى الشكل العصوى مشابهاً لخلايا Lactobacilli . هذه الخلايا بيضاوية الشكل coccoid ، موجبة لجرام ، غير متجرثمة ، غير متحركة وتوجد منفردة أو فى أزواج التى تكون سلاسل قصيرة أو متوسطة الطول . بكتريا *Leuconostoc* spp. المستخدم فى بادئات الألبان تنتج بصفة أساسية D(-)lactate وثنائى الأسيتيل diacetyl عندما تنمو فى اللبن .

Pediococcus acidilactici هو السلالة الوحيدة فى جنس *Pediococcus* التى تستخدم فى بادئات الألبان . تنقسم Pediococci بالتبادل فى مستويين

عموديين لتكون مربعات tetrades التى تميز هذه الميكروبات مورفولوجيا عن غيرها من بكتريا حامض اللاكتيك . خلايا هذه البكتريا كروية موجبة لجرام موحدة الحجم ، تنج DL-lactate ، غير متحركة ، لا تكون جراثيم ولا تكون كبسولات . هذا الميكروب له مرادفات synonyms أخرى مثل *P.lindneri* ، *P.cerevisiae* و *Str.lindneri* .

أ- اللبن الخض الطبيعى أو التقليدى Traditional or natural buttermilk

كثير من الدول تفضل الزبد الناتج من قشدة مسواه ripened cream. ، حيث يتكون لبن خض طبيعى أو تقليدى كناتج ثانوى من صناعة الزبد ، بعد خض القشدة المسواه . يتكون البادئ (المستخدم فى تسوية القشدة) من مخلوط من *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. . هذا النوع من اللبن الخض شائع فى دول شمال أوروبا ، كما أنه يستهلك بدلاً من اللبن الطازج سواء كمشروب beverage أو مع الحبوب الغذائية cereal .

تتم معاملة القشدة حرارياً ، قبل عملية التسوية ripening ، عادة عند ٩٠-٩٥°م لمدة ١٥ ثانية أو بطريقة خاطفة عند ١٠٥-١١٠°م (أى بدون فترة حجز) . هذه المعاملات الحرارية المرتفعة تحدث دنترة للـβ-Lg ، حيث تظهر مجاميع SH- التى تعمل كمواد مضادة للأكسدة antioxidants ، كما تحسن من نمو البادئ . قد يتم تعريض القشدة للتفريغ vacuum treatment أثناء التبريد ، وذلك للتخلص من الطعم المطبوخ eooked flavor ، ومع ذلك فإن إنتاج حامض اللاكتيك وتكوين النكهة بواسطة *Leuconostoc* spp., Lactococci سوف تحجب مثل هذه العيوب غير المرغوبة . الصفات الحسية الرئيسية لهذا النوع من اللبن الخض : (١) المذاق taste (حامض لاكتيك أو حامضى sour) ، (٢) النكهة (طعم زبدى buttery flavor يعزى إلى ثنائى الأسيتيل) و (٣) وجود بعض حبيبات زبد صغيرة butter granules .

يعتقد أن انخفاض الإنتاج العالمى لهذا النوع من الألبان المتخمرة قد يرجع إلى أن إنتاج الزبد يكون موسمياً seasonal ، ولذلك فإن مثل هذا الناتج لا يكون متوفراً للمستهلك بصورة دائمة وكذلك استخدام طريقة NIZO حيث يحقن

مقطر البادئ starter distillate فى الزبد أثناء الخدمة working فى صناعة الزبد ، وبذلك يستغنى عن تسوية القشدة .

ب- اللبن الخض المتخمر Cultured buttermilk

وهو عبارة عن لبن فرز متخمر fermented skimmed milk (يحتوى على SNF % ٩,٥) ، حيث يسخن اللبن الفرز تسخين أولياً ، يجنس (١٧-٢٠ MPa) ، يسخن إلى ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة أو ٩٥°م لمدة تصل إلى ٥ دقائق ، ثم يبرد إلى ٢٢°م ويلقح ببادئ محب للحرارة المعتدلة mesophilic starter . يتراوح محتوى اللبن الخض من SNF بين ٧,٤ – ١١,٤ % والدهن من ٠,٢٥ – ١,٩ % . عادة يتم تدعيم اللبن الفرز الطازج بمسحوق لبن فرز SMP، وإذا أضيف دهن اللبن يتم التجنيس على مرحلتين (المرحلة الأولى عند ضغط ١٣,٨ MPa والمرحلة الثانية عند ضغط ٣,٥ MPa) . تتكون البادئات المستخدمة فى صناعة اللبن الخض المتخمر من خليط من نوعين : *Lc.lactis* ssp. *lactis*, *Lc.lactis* ssp. *cremoris*, *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* (لإنتاج حامض اللاكتيك) ، *Leuc.mesenteroides* ssp. *cremoris*, (لإنتاج النكهة) . يتوفر حالياً فى الأسواق مزارع بادئات مركزة مجمدة frozen concentrated للتلقيح المباشر فى الحوض Direct Vat Inoculation (DVI) ، تحتوى على سلالات مختارة من *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. لإنتاج الحموضة والطعم واللزوجة viscosity . تسترجع هذه المزارع ، فى اللبن المعد للصناعة ، لمدة ١٠-١٥ دقيقة ، ثم التحضين عند ٢٢,٨°م لمدة ١٢-١٤ ساعة حتى يصل pH إلى ٤,٦٥ .

ترجع عيوب الطعم فى اللبن الخض أساساً إلى عوامل تؤثر على نشاط الميكروبات ، تتضمن مستويات الأكسجين والسترات . إنتاج الحامض بمعدل بطئ أو سريع جداً بواسطة البادئ قد لا يعطى الفرصة لظهور طعم ثنائى الأسيتيل diacetyl . بكتريا *Leu.mesenteroides* ssp. *cremoris*, *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* تكون قادرة على تمثيل السترات فى اللبن مع تكوين ثنائى الأسيتيل و CO_2 كناتج ثانوى ، وعندما تستهلك السترات ، فإن ثنائى الأسيتيل يختزل إلى أسيتوين actoin . وعادة يضاف ٠,٠٥ – ٠,١% حامض الستريك إلى اللبن.

التراكم الزائد للأسيتالدهيد بواسطة بعض Lactococci يسبب صفات غير مرغوبة، مثل الطعم الأخضر "green flavor" *Leuc.mesenteroides* ssp. *cremoris*. يساعد فى تمثيل الاسيتالدهيد . بعض *Lactococcus* spp. (المتحملة البرودة psychrotrophes والمحبة للحرارة المعتدلة mesophiles) تكون قادرة على اختزال ثنائى الأسيتيل فى اللبن الخض أثناء التخزين عند درجات حرارة منخفضة ، لذلك فإن اختيار سلالات البادئات على جانب كبير من الأهمية .

ارتفاع محتوى اللبن من الأكسجين يساعد على الوصول إلى إنتاج الحد الأقصى من ثنائى الأسيتيل . إدخال الهواء أثناء مرحلة التبريد يؤدى إلى انخفاض اللزوجة وانفصال الشرش ، ولكن هذه الطريقة لا يوصى بها ويفضل إضافة السترات . التبريد السريع غير مرغوب حيث أنه يوقف تراكم الحامض وفقد طعم ثنائى الأسيتيل.

لإنتاج لبن خض شبيه باللبن الخض التقليدى ، يمكن إدخال حبيبات الزبد باستخدام إحدى الطرق التالية : (١) إضافة حبيبات زبد مجففة freeze-dried butter granules ، (٢) استخدام طرق الخض churning methods ، (٣) تقطير dripping قشدة مسالة melted cream أو دهن لبن لا مائى anhydrous إلى لبن خض بارد . إضافة الملح بمعدل ١,٠% يكون اختيارياً وعادة يضاف أثناء مرحلة التبريد . قد يستخدم كلوريد البوتاسيوم بدلاً من كلوريد الصوديوم دون أن يؤثر على المذاق أو قابلية المنتج للاستهلاك بدرجة ملموسة . قد يتضمن الحديث فى تكنولوجيا اللبن الخض المتخمر التطور فى المجالات العملية التالية :

- استخدام تكنولوجيا الترشيح الفائق UF الذى يزيد من محتوى الكالسيوم ويحسن من لزوجة اللبن الخض.
- تطور طرق الإنتاج باستخدام التحميض المباشر direct acidification وتخمر السترات باستخدام سلالة *Leuc.mesenteroides* ssp. *cremoris* فقط أو خليط من التخمر والتحميض المباشر للبن ، ومع ذلك فإن عملية التحميض المباشر قد لاتكون مقبولة من حيث الصفات العلاجية للبن المتخمر واحتمال فقد ثنائى الأسيتيل أثناء التخزين.

- استخدام الهندسة الوراثية لزيادة إنتاج α-acetolactate الذى يتكون منه ثنائى الأسيتيل بواسطة *Lactococcus* spp. .
- انخفاض استهلاك اللبن الخض فى الولايات المتحدة الأمريكية خلال العشرين سنة الأخيرة قد تم تعويضها بزيادة استهلاك اليوجهورت ، وباستخدام خلطات مختلفة من ألبان الثدييات وإضافة مواد مكسبة للطعم للبن الخض أو استخدام بكتريا وقائية probiotic فى مزارع البادئ قد يساعد على زيادة استهلاك اللبن الخض .

يتم إنتاج منتجات شديدة الشبه باللبن الخض فى دول مختلفة ، فمثلاً Saya هو عبارة عن لبن متخمر غازى carbonated (يحتوى على حوالى ٠,٤ % CO_2) فى ألمانيا ، ويصنع من بادئ خليط من *Lc.lactis* ssp. *lactis* وسلالتين من *Leuc.mesenteroides* ssp. *dextranicum* . تضاف إنزيمات protease مع البادئ ، ويدعم الناتج بفيتامينات A ، B ، C . ينتج Junket or Ylette فى الدنمارك باستخدام خليط من بكتريا حامض اللاكتيك المحبة لدرجات الحرارة المعتدلة mesophilic LAB : *Lc.lactis* ssp. *cremoris* (٧٥ %) ، *Lc.lactis* biovar *dicetylactis* (٢٠ %) ، *Leu.mesenteroides* ssp. *cremoris* (٥ %).

جـ- الألبان المتخمرة الإسكندنافية Scandinavian (Nordic) sour milk

منتجات لبن الخض التقليدية فى النرويج ، السويد وغيرها من الدول المجاورة تكون لزجة slimy أو مخاطية ropy ، تستخدم الأعشاب herbs أيضاً لإنتاج ألبان متخمرة غليظة القوام thick تعرف هذه المنتجات بـ Làngfil (التى تعني لبن طويل long milk) ، Langmjölk, Tättfil ، Filmjölk ، Tàetmjölk ، Filbunk, (الذى يصنع من لبن كامل الدسم ويستهلك مباشرة) . تصنع هذه المنتجات فى هذه الدول فى المزارع farms .

استخدام الأعشاب قد تضيف ميكروبات منتجة للزوجة (المخاطية) slime-producing microorganisms (*Alcaligenes viscosum*) حيث تكون فلورا طبيعية فى ورق هذه الأعشاب ، ولا تستخدم حالياً فى إنتاج Längfil .

هناك منتجات أخرى قريبة الشبه مثل Viili (فى فنلندا Finland)، Yemer (فى الدنمارك Denmark) و Skyr (فى أيسلندا Iceland) والتى سوف تناقش فيما

بعد نظراً لأن Villi تحتوى على فطر *Geotrichum candidum* وأن Ymer و Skyr منتجات مركزة.

تصنع الألبان المتخمرة الأسكندنافية من لبن معدل محتواه من الدهن بحيث يحتوى على ٠,٥ إلى ٣ % دهن . عادة لا يتم تدعيم محتوى اللبن من SNF . يسخن اللبن الكامل الدسم مبدئياً إلى ٧٨°م ، ويتم إزالة الهواء deaerated فى أحواض تحت تفريغ حيث تنخفض درجة الحرارة إلى حوالى ٧٠°م. ينقل اللبن إلى فراز لتعديل نسبة الدهن فى اللبن مباشرة إلى المستوى المرغوب فى الناتج النهائى ، ثم يتم التجنيس بعد ذلك عند ضغط ١٧,٥ — ٢٠ MPa عند ٧٠°م . يسخن اللبن إلى ٩٠-٩٥°م ويحجز عند هذه الدرجة لمدة ٣-٦ دقيقة ، ثم يبرد إلى ٢٠°م ويلقح ببادئ (١-٢ % بادئ إضافة bulk starter) يتكون من خليط من *Lc.lctis* biovar ، *Lc.lactis* ssp. *cremoris* ، *Lc.lactis* ssp. *lactis* *Leuc.mesenteroides* ssp. *cremoris, diacetylactis* مع سلالات مكونة للزوجة slime-forming strains ، يقلب لمدة ١٠ دقائق وتخمر لمدة ٢٠ ساعة عند ٢٠°م . عندما تصل الحموضة إلى ٠,٨ — ٠,٩% حامض لاكتيك يتم تبريد الخثرة والتعبئة ثم تنقل العبوات إلى غرف التبريد .

تفتيت Filmjölk عند حموضة أقل يؤدى إلى انفصال شرش ، إذا لم يتم إزالة الهواء من مخلوط اللبن المستخدم فى الصناعة تحدث عيوب مثل تكوين حبيبات granulation ، كتل lumpiness وتنخفض اللزوجة . على العكس ، فإن Täetmjölk تصل فترة صلاحيته إلى ١٠ شهور ويحتوى على حوالى ١,٠% حامض لاكتيك ، ٠,٣ — ٠,٥ % كحول ، آثار من حامض الخليك ويتم تشبيعه بغاز CO_2 .

د- القشدة المتخمرة Cultured cream

تعرف القشدة المتخمرة أحياناً بالقشدة الحامضية sour cream ، وهى منتج مرتفع اللزوجة مع طعم ونكهة اللبن الخض . يختلف محتوى القشدة من الدهن من ١٠-١٢% أو ٢٠-٣٠ % . يتميز الناتج بمذاق حامضى سائغ ونكهة الزبدة buttery aroma وطعم يشبه المكسرات nutty flavor . وطريقة استهلاك القشدة المتخمرة لا تختلف كثيراً عن طريقة استهلاك القشدة العادية.

الطريقة النموذجية لإنتاج القشدة تتضمن تعديل تركيب اللبن الكامل بالقشدة إلى نسبة الدهن المرغوب أو تدعيم القشدة بحوالى ٢-٣% جوامد لبنية. يفضل إضافة حامض الستريك أو سترات الصوديوم لتحسين نشاط البادئ . يتم تدفئة القشدة أو اللبن بعد التعديل إلى ٦٠-٧٠°م ، ويتم تجنيس القشدة منخفضة الدهن low-fat cream (١٠-١٢ %) عند ضغط ١٥-٢٠ MPa ، بينما يستخدم الضغط المنخفض ١٠-١٢ MPa لتجنيس القشدة المحتوى على ٢٠-٣٠ % دهن . عموماً ، ارتفاع درجة حرارة التجنيس يحسن من قوام الملتج النهائى . تسخن القشدة المجنسة إلى ٨٠°م لمدة ٣٠ دقيقة أو ٩٠°م لمدة ٥ دقائق. بعد التبريد إلى ١٨-٢١°م ، تلقح القشدة ببادئ الإضافة bulk starter بمعدل ١-٢ % حيث يتم التخمير لمدة ١٨-٢٠ ساعة حتى تصل الحموضة إلى ٠,٨ % .يتكون البادئ المستخدم من *Lc.lactis* ssp. *lactis, Lc.lactis* ssp. *cremoris* ، *Lc.lactis*biovar*diacetylactis* ssp.*cremoris*,*Leuc.mesanteroides*. بعد التخمر ، تكون لزوجة القشدة المتخمرة مرتفعة جداً ، ولكن تصبح أقل لزوجة (خفيفة القوام thinner) خلال المعاملات الميكانيكية ، التبريد ، الضخ pumping والتعبئة . لهذا السبب ، فإن بعض صانعى القشدة المتخمرة يقومون بإنتاج قشدة متخمرة من النوع المتماسك القوام set-type حيث تحضن القشدة فى العبوة التى تصل إلى المستهلك حتى يكون الناتج أكثر ثخانة فى القوام thicker . قد يضاف الكيموسين chymosin بكميات قليلة مع البادئ لإنتاج قشدة متخمرة ذات قوام أكثر ثخانة thicker body . إضافة كميات زائدة من المواد المجبنة يؤدى إلى تركيب بنائى خشن rough أو محبب grainy ويزيد من انفصال الشرش syneresis نتيجة تحلل κ-casein و/أو κ-casein/β-Lg . يمكن تحسين قوام body وتركيب texture القشدة المتخمرة بإضافة مثبتات stabilizers أو بواسطة الترشيح الفائق UF للبن الجاموسى . يتم صناعة القشدة المتخمرة من اللبن الجاموسى بواسطة UF ، حيث تخمر قشدة UF وذلك بإضافة بادئ خليط mixed starter ، يتكون من *Lc.lactis* biovar, *Lc.lactis* ssp. *cremoris* *diacetylactis* بنسبة ٢ : ١ .

يتضمن الحديث فى تكنولوجيا القشدة المتخمرة ما يلـــى : (١) معاملـــة حرارية مرتفعة بعد التخمر ، ثم التجنيس و التعبئة الساخنة hot-packging ، (مثل صناعة جبن القشدة) ، (٢) استخدام *Lb.acidophilus* بمعـــدل ٥ % لتخمـــير القشدة (٤٠-٤٥ جم دهن/١٠٠ جم) ، وإضافة سكر (٥ %) فى صورة شـــراب syrup .

هـــ- منتجات متنوعة Miscellaneous products

يتم إنتاج أنواع مختلفة من الألبان المتخمرة الطبيعية فى المناطق الريفيـــة فى دول مختلفة . فى معظم هذه المنتجات يحدث عادة تخمر ذاتى للبن spontaneaus fermentation . وفيما يلى بعض الأمثلة لهذه المنتجات فى الدول المختلفة :

- **كينيا Kenya** : *Maziwa lala* لبن متخمر تقليـــدى ، ويعـــرف تجاريـــاً بـــ*lala*. يسخن اللبن الذى لا يدعم إلى ٨٥°م لمدة ٣٠ دقيقة أو ٩٠°م لمدة ١٥ دقيقة ، ثم يبرد إلى درجة حرارة التحضين ويلقح ببادئ خليـــط mixed starter (*Lc.lactis* ssp. *cremoris*, *Lc.lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuc.mesentroides* ssp. *cremoris*) . يفضل إضافة عصائر الفاكهـــة إلى اللبن المتخمر ، مع إضافة السكر للتحلية ومثبتات مثل البكتين ، الجيلاتـــين أو كازينات الصوديوم .

من الألبان المتخمرة التقليدية الأخرى فى كينيا : (١) *Iriari matii* ويصنع بإضافة ٢ % *Str.thermophilus* . (٢) *Susa* يصنع من لبن الأبل باســـتخدام بادئ محب لدرجات الحرارة المعتدلة ومختلـــط التخمـــر heterofermentative mesophilic .

- **نيجيريا Nigeria**: نونو *Nono* لبن متخمر تقليدى ينتج فى شمال نيجيريـــا باستخدام فلورا غير معّرفة undefined . عينات نونو *Nono* الطازجة الـــتى تعرضت لمعاملة حرارية تدل على أن بكتريا حـــامض اللاكتيـــك المتبقيـــة survival عبارة عن *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، *Lb.helveticus* ، *Lb.plantarum* ، *Lc.lactis* ssp. *cremoris* . قد يضـــاف للنـــاتج مـــواد مكسبة للطعم لتحســـين طعـــم النـــاتج . كمـــا أن إضافـــة ٠,٢٥ جـــم بنـــزوات/١٠٠ جم من النونو *Nono* يزيد من فترة الصلاحية shelf-life عند

٤°م بدرجة أفضل عن ٢٥°م . يتم إنتاج النونو *Nono* ذات صفات حسية مقبولة باستخدام بادئ خليط (*Lc.lactis* biovar *diacetylactis, Lc.lactis* ssp. *cremoris, Lb.brevis*) . إضافة الخمائر تؤثر سلبياً على تقدم الحموضة وإنتاج ثنائى الأسيتيل .

- **زيمبابوى Zimbabwe** : أماسى *Amasi* نموذج لبن متخمر يصنع فى المناطق الريفية فى زيمبابوى . بعد التخمر الطبيعى للبن ، يزال بعض الشرش ويضاف قشدة متخمرة طبيعياً وذلك لتحسين القوام . يحتوى هذا النوع من الألبان المتخمرة على ١٦,٥% جوامد كلية ، ٥,٩ % دهن و ٤,٦ % بروتين و pH حوالى ٣,٩ ، يصل العدد الكلى للبكتريا 10^{8}-10^{10} cfu/جم ، كما أن المنتج شديد التلوث ببكتريا القولون ، الخمائر والفطريات . وعموماً تعتبر الألبان المتخمرة الزيمبابوية منتجات بادئات محبة للحرارة العالية أكثر منها محبة للحرارة المعتدلة.
- **أثيوبيا (الحبشة) Ethiopia والصومال Somalia**: *Ititu, (irgo) Ergo* . وهى ألبان متخمرة تقليدية تصنع فى أثيوبيا . تتم عملية التخمر فى هذا اللبن بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك تابعة لجنس *Streptococcus, Lactobacillus* . يفضل بسترة اللبن فى صناعة هذا اللبن المتخمر ، تدخين العبوات containers بواسطة قطع من خشب الزيتون والتلقيح بلبن *Ergo* متخمر عمره ٣ أيام كبادئ حتى يمكن إنتاج ناتج أفضل جودة . وقد وجد أن *Lb.plantarum* هو النوع السائد من بكتريا حامض اللاكتيك.

Suusaac منتج متخمر يصنع من لبن الآبل فى الصومال ، واستخدام بادئ معّرف defined starter يؤدى إلى جودة أفضل .

- **المغرب Morocco** : لبن *Lben* عبارة عن لبن متخمر تقليدى شائع فى المغرب ويصنع من ألبان ثدييات مختلفة . يتم تخمير اللبن ذاتياً spontaneously عند ١٨-٢٤°م (ويتوقف ذلك على فصل السنة) لمدة ٢٤-٤٨ ساعة ، ثم تجرى عملية خض churning لإزالة حبيبات الزبد لصناعة *Smen* (اسم محلي يطلق على الزبد) ثم يضاف الماء (حوالي ١٠%). التركيب الكيماوي النموذجي للبن *Lben* : ٩,١ % جوامد كلية ، ٠,٩ %

دهن و ٢,٦ % بروتين . بكتريا حامض اللاكتيك الأساسية التى تم التعرف عليها فى *Lben* هـــى : *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* ، *Leuc.lactis* ، *Leuc.mesenteroides* ssp. ، *Leuc.mesentteroides* spp. *dextranicum* *cremoris* ، كما توجد Lactobacilli بأعداد قليلـــة ، وتوجـــد الخمـــائر والفطريات وبكتريا القولون.

٤-١-٢- استخدام السلالات المحبة للحرارة المرتفعة

تستخدم بعض بكتريا من أجنـــاس *Streptococcus* ، *Lactobacillus* ، *Enterococcus, Bifidobcterium* فى إنتاج ألبان " تخمر بكتريا حامض لاكتيـك المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic lactic acid fermentation " . يســـتخدم لفظ thermophilic للمنتجات التى تستخدم بكتريا درجة حرارة النمو المثلى لهـــا تتراوح من ٣٧ إلى ٤٥°م.

بعض بادئات من جنس *Lactobacillus* (*Lb.acidophilus* ، *Lb.reuteri* ، *Lb.kefiranofaciens* ، *Lb.rhamnosus* ، *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* ، *Enterococcus* spp.,*Bifidobacterium* spp., (*Lb.kefir* ،الذى تعرف كميكروبات وقائية probiotic organisms وتوجد أو لا توجد فى حبوب الكفيرkefir grains. لذلك فإن نوعـــين مـــن البـــادئ فقـــط تـــابعين لأجنـــاس *Lactobacillus* ، (*Str.thermophilus*) *Streptococcus*, (*Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) يستخدمان على نطاق واسع فى صناعة الألبان المتخمرة من الأنواع المحبة للحـــرارة المرتفعة thermophilic-type.

خلايا *Str.thermophilus* كروية أو بيضاوية ، قطرهـــا حـــوالى ١ µm وتكون فى سلاسل ، موجبة لجرام ، غير متجرثمة ، لاهوائية ، متجانسة التخمـــر نتج حامض لاكتيك فى صورة L(+) ، أسيتالدهيد وثنائى الأسيتيل من اللاكتـــوز فى اللـــبن . بعـــض الســـلالات تنتـــج ســـكريات عديـــدة خـــارج الخلايـــا exopolysaccharides (EPS) . هذا الميكروب لا يستطيع النمو عنـــد ١٥°م ، ولكن معظم السلالات قادرة على النمو عند ٥٠°م ، وتحتاج فيتامينات B وبعـض الأحماض الأمينية لتحسين معدل النمو.

تمثل *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* بكتريا حامض اللاكتيك العصوية متجانسة التخمر إجبارياً obligately homofermentative lactobacilli، يخمر هذا الميكروب عدد قليل من السكريات ، وينتج لاكتات فى صورة D(+) وأسيتالدهيد من اللاكتوز فى اللبن ، وبعض السلالات تنتج سكريات عديدة (EPS) خارج الخلية . الخلايا عصوية دائرية الأطراف ، يبلغ أبعادها ٠,٥ – ٠,٨ × ٢ – ٩ µm ، توجد منفردة أو فى سلاسل قصيرة . ينمو هذا الميكروب بدرجة ضعيفة عند درجة حرارة أقل من ١٠°م ، ومعظم السلالات قادرة على النمو عند ٥٠ – ٥٥°م.

النمو المشترك associative growth أكثر من العلاقة التكافلية symbiotic relationship بين *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Str.thermophilus* تعنى أنه عند استخدام بادئ خليط mixed (يحتوى على الميكروبين) فإن اللبن يتجبن بدرجة أسرع عند مقارنته باستخدام بادئ وحيد المزرعة single culture (يحتوى على أحد الميكروبين) . فى بعض الأحيان تستخدم هذه الميكروبات منفردة لصناعة منتجات ألبان متخمرة مختلفة.

أ- اللبن الخض البلغارى Bulgarian buttermilk

ينتج هذا الناتج المتخمر باستخدام *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* منفرداً . توجد منتجات أخرى مشابه مثل Bulgaricus milk ، (لبن البولجاركس) ، ولبن خض متخمر بولجاركس Bulgaricus cultured buttermilk أو لبن بلغارى Bulgarian milk ، وتستخدم ألبان ثدييات مختلفة فى صناعة ألبان متخمرة متماسكة القوام set-type . فى بعض الأحيان ، يستخدم اللبن الفرز البقرى ، وقد يحتوى البادئ أيضاً على *Str.thermophilus* أو بادئ القشدة cream culture . يتميز هذا اللبن المتخمر بطعم نظيف clean ومذاق حامضى حاد sharp acidic taste مماثل لليوجهورت ، مما يعطى اعتقاداً أن Lactobacilli تقوم بتمثيل بعض مكونات اللبن إلى اسيتالدهيد.

طريقة صناعة هذا الناتج مماثل لطريقة صناعة اليوجهورت ، ولكن معدل التلقيح بالبادئ يتراوح بين ٢-٥% وتصل الحموضة إلى ١,٤ %. يتم تجفيد اللبن الخض البلغارى المحتوى على سكروز وتجهيزه فى صورة أقراص دوائية

pharmaceutical tablets تحتوى على ٢,٥ × ١٠^{٩} cfu/جم خلايا حية . عندما يتم تغذية الأطفال الرضع عليه ، فإن البراز الناتج منهم يحتوى على ١ × ١٠^{٩} cfu/جم خلايا حية .

ب- ألبان متخمرة بواسطة *Str.thermophilus*

ألبان Kehran ، Karan أو Heran (فى سيبيريا Siberia) و Lapte-akru, (فى رومانيا) عبارة عن ألبان متخمرة بواسطة بادئ من *Str.thermophilus* بمفرده. فى اللبن المتخمر الأخير (الرومانى) يتم تعديل محتوى اللبن من الدهن إلى ١٠ جم/١٠٠ جم لبن ، ثم يجنس ، يسخن إلى ٩٥-٩٨°م لمدة ٣-٥ ساعة ثم يبرد إلى حوالى ٤٠°م . يضاف البادئ بمعدل ٥ % ويحضن ، فى نهاية التحضين يقلب الناتج ويبرد . يتم تحلية الخثرة أما بإضافة سكر أو شراب فاكهة fruit syrup.

جـ- ألبان متخمرة بتوليفات مختلفة من البادئات

تستخدم بادئات مختلطة مثل *Lc.lactis* biovar *diacetylactis*, *Str.thermophilus*, *Lb.helveticus* أو *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* بنسبة ١ : ١ : ١ لإنتاج لبن Katyk فى كزاكستان Kazakhstan) . فى صناعة Lybubitelskii (فى الاتحاد السوفيتى USSR سابقاً) يتم تلقيح اللبن الفرز المعد للصناعة أولاً بمزرعة *Str.thermophilus* ، ثم بمزرعة *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* بنسبة ١ : ٤ على التوالى.

د- اليوجهورت Yoghurt

توجد أنواع كثيرة مختلفة من اليوجهورت التى يتم إنتاجها فى جميع أنحاء العالم ، يمكن تقسيم اليوجهورت إلى أصناف مختلفة على أساس :

- مواصفات قياسية موجودة أو مقترحة (كامل ، متوسط أو منخفض الدسم) .
- طريقة إنتاج الجل (متماسك القوام set ، سائل stirred أو مشروب سائل).
- الطعم (طبيعى natural ، فاكهة fruit او مواد مكسبة للطعم) .
- معاملات ما بعد التحضين (معاملة حرارية ، تجميد ، تجفيف أو تركيز).

نظراً لوجود أنواع عديدة وتطورات تكنولوجية كثيرة فى صناعة اليوجهورت فإنه من الصعب تغطية كل هذه النواحى تغطية شاملة . ومع ذلك فإن شراب اليوجهورت يمكن اعتباره يوجهورت سائل (مقلب stirred yoghurt) ذات لزوجة منخفضة ، حيث يحتوى اللبن على ١,٥% دهن ، ٨ % جوامد لبنية لا دهنية MSNF . بعد التحضين والتبريد ، تمزج mixing الخثرة بإضافة ٣٠-٣٥ % ماء و ١% ملح . مثال آخر هو إنتاج يوجهورت ذات طبقة سطحية crusty layer yoghurt ، حيث يسخن اللبن غير المجنس (غنم ، بقر أو جاموس) إلى ٩٥°م لمدة ٣٠ دقيقة ، ثم يبرد ببطئ فى أوعية من الصلب غير قابل للصدأ . توضع العبوات فى حضانة جيدة التهوية air-ventilated cabinct عند ٤٠-٤٥°م لمدة ساعة لكى تتكون طبقة القشدة . يتم التلقيح بالبادئ باستخدام حقنة syringe حتى لا تتكسر طبقة القشدة ، وعند pH ٤,٥ تنقل العبوات إلى غرف التبريد.

بالإضافة إلى ذلك يوجد اليوجهورت المجمد frozen yoghurt الذى يشبه المثلجات القشدية ، بينما اليوجهورت المجفف dried yoghurt يستخدم أساساً على نطاق واسع فى مستحضرات الأغذية ، ولكن لا يتم استرجاعه واستهلاكه فى صورة يوجهورت .

(i) العمليات التكنولوجية

استخدام اللبن المحتوى على أعداد مرتفعة من البكتريا المتحملة البرودة psychrotrophic bacteria والخلايا الجسمية somatic cell يؤثر على جودة اليوجهورت الناتج . اللبن المحتوى على إنزيمات البروتييز البكتيرى bacterial proteases من البكتريا المتحملة البرودة والبلازمين المشتق من الخلايا (الخلوى) cellular-derived plasmin المستخدم فى اليوجهورت يؤدى إلى ناتج ذات صفات طبيعية شديدة الاختلاف (مثل الصلابة ، انفصال الشرش ، اللزوجة الظاهرية ، القدرة على احتجاز الماء وتشرب البروتين) عند مقارنته باللبن غير المعامل . ومع ذلك ، فإن الجودة الحسية organoleptic quality لليوجهورت الناتج من لبن يحتوى على أعداد من الخلايا الجسمية تزيد عن ٢٥٠ × ١٠^{٣}/مل يفوق فى الجودة عن مثيله الناتج من لبن يحتوى على أعداد أكبر من الخلايا

الجسمية . تسخين اللبن thermization قبل التخزين عند ٢°م أو أقل والتنقية clarification قبل المعاملة الحرارية للبن يؤدى إلى تقليل العيوب السابق ذكرها فى اليوجهورت.

تدعيم اللبن بـMSNF من الأمور المرغوبة جداً فى صناعة اليوجهورت ، حيث يؤدى ذلك إلى تحسين الصفات الريولوجية rheological والحسية organoleptic فى اليوجهورت الناتج . يستخدم أنواع كثيرة من منتجات الألبان المجففة (جدول ١١-١) مع استخدام طرق مختلفة لتركيز اللبن . تتأثر الصفات الطبيعية للخثرة أساساً بنوع المسحوق powder المستخدم (مسحوق لبن فرزSMP ، مسحوق لبن خض BMP ، مركز بروتينات الشرش WPC ، كازينات الصوديوم ، مركز الترشيح الفائق UF retentate). وقد أشار البعض إلى الاختلافات فى صلابة اليوجهورت وانفصال الشرش بالرغم من تعديل نسبة البروتين المستخدم إلى ٥ % ، وقد وجد أن هناك اختلافات جوهرية فى صلابة اليوجهورت المدعم بـWPC, SMP . مسحوق اللبن الكامل الناتج من لبن تعرض لتسخين ابتدائى عند ٨٥°م قبل التجفيف ومعاملات ما بعد التسخين للبن المسترجع يؤدى إلى إنتاج خثرة أكثر صلابة فى اليوجهورت مع زيادة القدرة على احتجاز الرطوبة (أى انخفاض انفصال الشرش syneresis) عند مقارنته بمثيله الناتج من لبن تم تسخينه إلى ١٠٠°م لإنتاج لبن مجفف.

ونظراً لأن التركيب الدقيق microstructure لليوجهورت يتكون من شبكة بروتين protein matrix ناتجة من سلسلة جسيمات micellar (متوسطة أو قصيرة) مرتبطة فى شكل عناقيد مع حبيبات الدهن مندمجة فى الشبكة ، فإن نسبة الكازين casein : البروتين غير الكازيني non-casein protein فى اللبن على جانب كبير من الأهمية . نسب ٢,٩ : ١ و ٤,٦ : ١ شائعة الاستخدام ، وقد أشار بعض الباحثين إلى أن النسبة المفضلة ٣,٣ : ١ حيث يحدث عند النسب الأعلى من ذلك إندماج لجسيمات الكازين ، ويؤثر ذلك على الإحساس الفمى mouth feel لليوجهورت . بالإضافة إلى ذلك ، فإن استخدام مسحوق مركز الترشيح الفائق UF retentate powders (لبن كامل أو فرز) ، مع الاحتفاظ بالنسبة الأصلية للكازين إلى البروتين غير الكازيني ، فإنه يمكن إنتاج يوجهورت

مرتفع الجودة (قوام صلب firm وانفصال شرش ضعيف synersis) . يرتبط انخفاض المعاملة الحرارية للبن بإضافة كميات كبيرة من مركزات بروتين الشرش (أى نسبة كازين : بروتين الشرش ٢٠ : ٨٠ أو ٤٠ : ٦٠) حيث أن اللبن يتجبن أثناء المعاملة الحرارية عند ٩٣°م ويكون مظهر اليوجهورت متكتل clumpy . قام كثير من الباحثين بصناعة اليوجهورت من ألبان RO, UF, EV وقد أوصت نتائج هذه البحوث إلى استخدام تقنيات UF فى إنتاج اليوجهورت.

التجنيس والمعاملة الحرارية المرتفعة للبن يزيد من صفات الخثرة المحبة للماء hydrophilic وثبات الجل نتيجة لحدوث دنترة لكل من α-La, β-Lg ودرجة ارتباطهما مع κ-casein . ومع ذلك فإن التركيب الدقيق لجسيمات الكازين المعاملة بالحرارة تحتوى على أعداد كبيرة من جزيئات صغيرة غير منتظمة الشكل وملتصقة بأسطح الجسيمات ، وبروتين مترسب ناعم حول جسيمات الكازين (أو غير مرتبطة فى صورة دقائق منفصلة) فى لبن اليوجهورت المدعم بـUF-WPC .

(ii)- ميكروبات البادئ

يستخدم عادة فى إنتاج اليوجهورت على المستوى التجارى بادئ خليط معّرف (*Str.thermophilus & Lb.delbrueckii* ssp. defined mixed starter *bulgaricus*). يحدث تخمر اللبن عند ٤٠-٤٥°م لمدة ٣-٤ ساعات (الطريقة السريعة short-set) وعند ٣٠°م (الطريقة البطيئة long-set) لمدة ١٤-١٦ ساعة. درجة الحرارة الأخيرة (٣٠°م) قد تكون غير مناسبة لنمو Lactobacilli . حديثاً ينتج الزبادى ، وهو لبن متخمر شائع فى جمهورية مصر العربية يشبه اليوجهورت، عند ٣٠°م أو ٣٥°م مع تحسين فى الصلابة والنعومة ، وتقليل انفصال الشرش إلى الحد الأدنى مع طعم مرغوب منعش pleasant flavor .

النواتج الرئيسية لنشاط هذه الميكروبات اللاكتات lactate ، مكونات النكهة aroma (مثل الأسيتالدهيد وثنائى الأسيتيل) وأحياناً سكريات عديدة خارج الخلايا exopolysaccharides (EPS) . لذلك فإن الاختيار الدقيق لسلالات مختلفة من *Str.thermophilus*, *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* قد يساعد الصانع على التعامل مع اختيارات واسعة من مزارع بادئات اليوجهورت :

- إنتاج الطعم (مرتفع ، متوسط أو منخفض).
- إنتاج بوليمرات polymers (مرتفع ، متوسط أو منخفض).

فى بعض الدول ، قد تحتوى المنتجات الشبيه باليوجهورت على ميكروبات أخرى بجانب *Str.thermophilus, Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* . فمثلاً فى الهند (داهى Dahi) تستخدم بكتريا أخرى (*Lc.lactis* ssp. *lactis*, *Lb.plantarum*) ، بينما استخدم آخرون بادئ مختلط فقط يتكون من *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* and ssp. *cremoris*, بكتريا حامض لاكتيك عصوية مختلطة التخمر hetrofermentative lactobacillus ، تنتج خلات acetate بالإضافة إلى لاكتات lactate و Lactococci ينتج فقط ثنائى الأسيتيل ولا تنتج أسيتالدهيد . فى أستراليا يتم صناعة اليوجهورت باستخدام بادئ يوجهورت مع *Lb.helveticus* LBI أو *Str.thermophilus* TS2 مع *Lb.helveticus* LBI ، بينما فى سويسرا Switzerland ، ينتج ACO-yoghurt باستخدام بادئ خليط يتكون من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، *Lb.acidophilus, Str.thermophilus* .

وعموماً فإن البكتريا المرتبطة بإنتاج اليوجهورت عادة تقتصر على *Str.thermophilus, Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, بالرغم من أن التشريعات فى بعض الدول ، مثل نيوزيلندا أو سويسرا ، تسمح بإضافة أنواع أخرى من بكتريا حامض اللاكتيك فى بادئ اليوجهورت . استخدام هذين الميكروبين فقط يساعد على إعطاء اليوجهورت صفات مميزة تختلف عن الألبان المتخمرة الأخرى . كما لوحظ أيضاً أن حامض اللاكتيك خلال تصنيع اليوجهورت يتكون بكمية أكبر عند استخدام خليط من هذين الميكروبين وذلك مقارنة باستخدام كل منهما بمفرده ، كما أن عدد خلايا *Str.thermophilus* يزداد بسرعة فى وقت محدد فىالبادئ الخليط عنه فى البادئ الفردي ، مما أدى إلى الاعتقاد إلى وجود منفعة متبادلة بين هذين النوعين من الميكروبات . وقد أشار البعض إلى أن حقيقة تجاوب *Str.thermophilus* بشكل قوى فى البادئ الخليط قد يرجع إلى تحلل البروتين بواسطة *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* خاصة من خلال إنطلاق الفالين valine فى اللبن ، بالإضافة إلى الجليسين والهستدين كما

أشار آخرون ، قد يرجع هذا الاختلاف فى متطلبات النمو إلى استخدام سلالات مختلفة.

يرجع تحفيز *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* إلى عامل ناتج من النشاط الأيضى لميكروب *Str.thermophilus* ، قد يكون مشابهاً أو يحل محل حامض الفورميك . حيث أيد البعض هذا الأتجاه ، وقد أوضحوا أن مستوى حامض الفورميك فى اللبن يتراوح بين ٣٠-٥٠ ميكروجرام/مل قد أدى إلى تجاوب *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* بدرجة كبيرة . كما لوحظ أن إنتاج مركبات النكهة بما فيها الأسيتالدهيد كانت أعلى فى البادئ الخليط ، وأن Lactobacilli هو المسئول الرئيسى عن ذلك بالرغم من *Str.thermophilus* يكوّن أسيتالدهيد إلا أن المسار يكون أقل نشاطاً عند درجة حرارة التحضين العادية (حوالى ٤٠°م)، مقارنة بالتخليق الذى يحدث بواسطة Lactobacilli ، لذلك فإن درجة حرارة التحضين تتراوح بين ٤٠-٤٢°م ، يمثل حلاً وسطاً للنشاط الأيضى الأمثل لكلا النوعين ، حيث أن ٤٥°م تمثل الدرجة المثلى لإنتاج حامض اللاكتيك بواسطة أغلب سلالات *Str. thermophilus* ، كما يلاحظ أيضاً أن زيادة العدد الكلى للخلايا تكون أعلى ما يمكن عند ٤٢°م ، هذه الملاحظة لها أهمية على النطاق التجارى فى ضوء ما يلى : (١) تكون *Str.thermophilus* عادة أكثر نشاطاً لإنتاج حامض اللاكتيك خلال المراحل الأولى من التحضين ، لذلك فإن فترة التصنيع يمكن أن تختصر بتشجيع النمو السريع لهذا الميكروب ، (٢) تعتبر نواتج التمثيل الأخرى غير حامض اللاكتيك مهمة لطعم ونكهة اليوجهورت ، حيث أن هذه المواد يحصل عليها من كلا النوعين فمن الضرورى التأكد من توازن النمو بينهما.

عادة يتم تلقيح اللبن بمعدل ٢ % (حجم/حجم) حتى يمكن إنهاء عملية التخمر خلال ٤ ساعات ، أى أن اللبن عند بداية عملية التخمر يحتوى على ٣٠-٤٠ × ١٠^{٦} LAB/مل . بالرغم من أن البعض يقترح أن النمو الأفضل لهذين الميكروبين يتم عند تنمية كل منهما بمفرده ثم يخلطا فوراً قبل الاستعمال ، إلا أن الإجراء الشائع هو إنتاج خليط بمعدل ١ : ١ .

بالرغم من أن النسبة بين النوعين تبدأ كحد أدنى بتوازن ١ : ١ ، إلا أنها تتغير بسرعة عند دخول *Str.thermophilus* طور النمو اللوغاريتمى ولا تصبح *Lb.delbreuckii* ssp. *bulgaricus* سائدة إلا فى حالة بدء تراكم حامض اللاكتيك فى اللبن فقط . المحصلة النهائية لذلك ، أنه بنهاية التخمر وعندما تصل الحموضة إلى حوالى ٠,٩ — ٠,٩٥ % كحامض لاكتيك تبدأ أعداد البكتريا فى التوازن تقريباً . عند هذه النقطة قد يتجاوز العدد الكلى للبكتريا ٢٠٠٠ ×١٠^{٦} LAB /مل ، ويساهم ذلك بدرجة كبيرة فى الجودة الحسية للمنتج .

قد تشمل التطورات الحديثة فى تكنولوجيا اليوجهورت الحديث فى كثير من المجالات العلمية للحصول على ناتج ناعم التركيب وحموضة معتدلة . يتم خفض محتوى اليوجهورت من الصوديوم بمعاملة اللبن فى مبادل أيونى ion-exchnger دون التأثير على نشاط البادئ أو جودة الناتج . يمكن خفض محتوى اليوجهورت من اللاكتوز سواء بمعاملة اللبن بالترشيح الفائق UF ، ثم يعقب ذلك تحلل إنزيمى enzyme hydrolysis أو باستخدام التحلل الإنزيمى فقط. التحسن الملحوظ فى نشاط البادئ فى اللبن الذى تم فيه تحلل اللاكتوز lactose-hydrolysed milk قد يرجع إلى بقايا الإنزيمات المحللة للبروتين الموجودة فى مستحضرات β-galactosidase . ومع ذلك فإن نشاط β-galactosidase فى اليوجهورت يمكن أن يزيد إلى حوالى ٥-٦ أضعاف عندما يرتفع pH الناتج من ٤,٤ إلى ٧,٠ نتيجة إضافة ٥ مول أيدروكسيد كالسيوم لمدة ٦ ساعات ، ثم يسمح للـpH لينخفض إلى ٤,٤ . اليوجهورت الناتج باستخدام مزرعة فردية من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* لتخمير اللبن المعامل بإنزيم β-galactosidase ، جلوكوز أوكسيديز glucose oxidase وفوق أكسيد الإيدروجين H_2O_2 (٠,١٥ جم/١٠٠ جم) لكى يحل محل *Str.thermophilus* بطيئة النمو ، قد حصل على درجات مرتفعة عند تقويمه حسياً .

تتوفر فى الأسواق أنواع خاصة من اليوجهورت مثل مشروبات اليوجهورت yoghurt drinks ، يكون أساساً يوجهورت سائل (stirred) الذى يحتوى على جوامد كلية لا تزيد عن ١١ % . يتم تصنيعه بتقليب خثرة اليوجهورت الناتجة من لبن فرز أو لبن منزوع الدهن جزئياً بمقلب عال السرعة

ثم يبرد ويضاف إليه مواد مكسبة للطعم والنكهة والملونات ، أو يخفف اليوجهورت بالماء بنسبة ١ : ١ أو يخفف بعصير فاكهة .

قد تستخدم المعاملات الحرارية ، لتحسين قوة الحفظ لإنتاج يوجهورت مبستر ، حيث تستخدم البسترة بطريقة HTST مع التعبئة تحت ظروف معقمة لإطالة فترة صلاحية الناتج لعدة أسابيع عند ٢-٤°م . استخدام UHT مع التعبئة تحت ظروف معقمة يزيد من فترة الصلاحية على درجة حرارة الغرفة لعدة أسابيع. عادة يتم بسترة اليوجهورت لإطالة فترة الصلاحية عند درجة حرارة الغرفة لمدة تصل إلى ٣ شهور . قد يتم بسترة اليوجهورت سواء فى مبادل حرارى ذات ألواح عند ٧٥-٨٠°م لمدة ١٥ ثانية أو صدمة حرارية heat-shocked فى عبوات التجزئة عند ٥٨°م لمدة ٥ دقائق . قد يضاف المثبتات بنسبة أكبر من المعتاد دون التأثير على الجودة الحسية.

اليوجهورت المجمد frozen yoghurt يختلف فى طبيعته بدرجة كبيرة ، يمكن تحضيره من اليوجهورت التقليدى من النوع المتماسك القوام set-type أو السائل stirred ، مع إضافة مستوى مرتفع من السكر والمثبتات للمحافظة على الخثرة أثناء التجميد والتخزين ، وقد يضاف كمية قليلة من القشدة لتحسين الشعور الفمي mouth feel ، وقد تستبدل جوامد اللبن بمركز بروتين الشرش . يتم تجميد اليوجهورت فى مجمد blast freezer عند -٢٠°م على الأقل أو التجميد مع التقليب (إدخال الهواء) فى مجمد المثلجات القشدية . وهناك أنواع أخرى من اليوجهورت المجمد عبارة عن حلوى dessert مجمد منخفض الدهن ، حيث يعمل اليوجهورت ، (مع اللبن الفرز واللبن الخض) كمصدر لبروتين اللبن.

يتم إنتاج اليوجهورت المجفف بتركيز اليوجهورت التقليدى بواسطة الغليان والتجفيف الشمسى ، يعاد استرجاع الناتج المجفف قبل استهلاكه . هذه العملية غير مناسبة للإنتاج على نطاق واسع ، لذلك يستخدم التجفيد أو التجفيف بالرذاذ spray drying ، عملية التجفيد غير اقتصادية ، ويفضل طريقة التجفيف بالرذاذ . يعتبر اليوجهورت المجفف بالرذاذ منخفض التكاليف ومصدر للبروتين فى المناطق المحرومة غذائياً ، لكن فى الدول الصناعية يستخدم على نطاق واسع فى صناعة أغذية الأطفال ومنتجات المخابز والحلوى.

(iii)- إنتاج اليوجهورت من ألبان مختلفة

تستخدم ألبان الغنم ، الماعز والجاموس فى صناعة اليوجهورت ، حيث يتم معاملة اللبن بطريقة مماثلة لمعاملة اللبن البقرى . يختلف تركيب الكازين فى هذه الألبان (جدول ٣-٦) ، وتختلف أيضاً درجة حدوث دنترة بروتين الشرش ، ونتيجة لذلك تتأثر الصفات الريولوجية لليوجهورت . وقد وجد أن تجنيس اللبن يحسن من الصلابة ويقلل من انفصال الشرش فى يوجهورت الغنم . المعاملة الحرارية للبن الغنم عند ٩١°م لمدة ٣٠ ثانية يقلل من فترة التخمير عند مقارنته باللبن البقرى ، واستخدام بادئ خليط يتكون من *Str.thermophilus* و *Lb.acidophilus*, بدلاً من بادئ اليوجهورت قد أدى إلى ناتج مرتفع الجودة.

يختلف محتوى لبن الماعز من الجوامد الكلية من ١١,٧ إلى ١٥,٩ جم/١٠٠ جم ، ويتم تحسين قوام اليوجهورت بإضافة لبن ماعز مجفف goat's powder أو بواسطة تركيز اللبن (OR, UF, EV) . لبن الماعز المركز بطريقة EV قد يقلل من الطعم الماعزي goaty flavor فى اللبن ، واليوجهورت الناتج يكون أكثر قبولاً للمستهلك . ومع ذلك ، فإن معاملة لبن الماعز بالترشيح الفائق UF يحسن من قوام اليوجهورت . وقد لوحظ أن حدوث بعض التثبيط لبادئ اليوجهورت فى لبن الماعز يكون مرتبطاً باللبن المحتوى على طعم ماعزى قوى strong goaty flavor أو تركيز أعلى من الأحماض الدهنية الحرة . يفضل أن يلقح لبن الماعز بمعدل لا يزيد عن ١,٥ % من بادئ اليوجهورت لإنتاج جل (خثرة) أكثر صلابة ، بينما يفضل آخرون معدل تلقيح ٢-٣ %. يرجع المستويات المنخفضة من الأسيتالدهيد فى يوجهورت لبن الماعز إلى التركيز المرتفع نسبياً من الجليسين فى اللبن ، الذى يثبط الإنزيم الذى يقوم بتحويل الثيرونين threonin إلى اسيتالدهيد وجليسين ، ومع ذلك ، فإن إضافة الثيرونين إلى لبن الماعز ينشط من إنتاج الأسيتالدهيد . ينتج *Str.thermophilus, Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* بعض CO_2 فى اللبن البقرى ،ومستويات أعلى فى لبن الماعز . علاوة على ذلك ، فإن محتوى لبن الماعز من السترات منخفض جداً عند مقارنته باللبن البقرى ، ونتيجة لذلك فإن هذا اللبن غير مناسب لإنتاج ثنائى الأسيتيل بواسطة Lactococci المحبة للحرارة المعتدلة mesophiles .

استخدام اللبن الجاموسى فى صناعة اليوجهورت قد تم دراسته باستفاضة فى مصر والهند . وقد تتضمنت الدراسات الحديثة النقاط التالية : (١) معاملة اللبن الجاموسى بالترشيح الفائق UF ثم إعادة الترشيح diafiltration باستخدام ماء أو لبن فرز ، يؤدى إلى انخفاض محتوى اللاكتوز ، وتحليل اللاكتوز بواسطة β-galactosidase يؤدى فعلاً إلى إنتاج يوجهورت خال من اللاكتوز . (٢) معاملة الشرش المملح (٧-٨ جم كلوريد كالسيوم/١٠٠جم) بالترشيح الفائق UF و diafiltration وتخفيف WPC بشرش غير مملح sweet whey لاستخدامه فى تدعيم اللبن الجاموسى لصناعة اليوجهورت.

جدول (١١-٦) : شقوق الكازين فى بعض ألبان الثدييات من الكازين الكلى.

الكازين	البقرى	الماعز	الغنم	الجاموس
	←	(%)	→	
Minor	٦,٢	٢,٥	٤,٨	-
$_k$-casein	٩,٤	١٣,٢	٨,٨	-
β-casein	٣٧,٥	٥٠,١	٤٣,٥	٥٠,٥
α_{s1}-casein	٣٣,٠	١٨,٤	٤٢,٩	٢٦,١
α_{s2}-casein	١٣,٩	١٥,٨		

٤-١-٣- استخدام سلالات وقائية Probiotic strains

يتضح من نتائج البحوث المنشورة أن كثيراً من متطلبات صحة الإنسان يرتبط بمركبات النشاط الأيضى التى تنتجها بكتريا حامض اللاكتيك LAB . عند أخذ هذه المتطلبات فى الاعتبار ، فإنه يجب إلتزام الحيطة والحذر للأسباب التالية:

١- نتائج الدراسات على حيوانات التجارب قد تكون غير قابلة للتطبيق على الإنسان .

٢- الدراسات المعملية *in vitro* قد لا تكون مطابقة فى المجال الحيوى (الجسم الحى) *in vivo* .

٣- عدم تنسيق الجهود بين العاملين فى مجالات التكنولوجيا ، الميكربيولوجيا والطب العلاجى.

٤- عدم وجود النموذج المناسب لأعمال البحث مع شرح أو تفسير النتائج بدقة .

٥- تعريف probiotic يكون افتراضى presumptuous إلى حد ما.

فى السنوات الأخيرة زاد الاهتمام بتحسين صحة الإنسان والوقاية من الأمراض ، وذلك بإدخال بكتريا وقائية probiotic فى الأغذية للتغلب على البكتريا الضارة فى الأمعاء . هناك اهتمام كبير بالتوسع فى إنتاج الأغذية المحتوية على بكتريا وقائية من منتجات ألبان ، أغذية أطفال ، عصائر ، منتجات الحبوب والأدوية . سلالات بكتريا حامض اللاكتيك الوقائية التقليدية المستخدمة فى مجال الألبان تتميز بتاريخ آمن safe خال من أى حالات مرضية ، وتعتبر معظم السلالات معايشة commensal وغير مرضية.

تعرف البكتريا الوقائية probiotic bacteria بصفة عامة بأنها بكتريا حية viable ، فى مزارع فردية أو مختلطة ، التى يكون لها تأثير مفيد beneficial effect على صحة العائل . فى صناعة الألبان ، فإن البكتريا الوقائية الشائعة الاستخدام تنتمى إلى مجموعة LAB ، بالرغم من أن بعض Bifidobacteria والخمائر تستخدم أيضاً . عموماً LAB يضم أجناس *Lactobacillus* ، *Leuconostoc* ، *Pediococcus, Lactococcus*, . بالرغم من أن بعض السلالات من *Enterococcus, Streptococcus* تشارك LAB فى الصفات ، فإن *Str.thermophilus* هى السلالة الوحيدة المستخدمة عادة فى صناعة منتجات الألبان المتخمرة . يعتبر جنس *Lactobacillus* بكتريا آمنة safe معتمدة GRAS (generally recognized as safe)، بينما الأنواع التى تنتمى لأجناس *Enterococcus, Streptococcus* تحتوى على كثير من الأنواع المرضية pathogens .

تتكون الميكروبات المعوية intestinal micro flora فى الإنسان الذى يتمتع بصحة جيدة من مجموعة بكتيرية متنوعة معقدة ، وقد تم التعرف على حوالى ٤٠٠ نوع من البكتريا فى براز الإنسان ، ويوجد *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., فى الأمعاء . وقد أشارت نتائج البحوث العلاجية المتوفرة إلى وجود مستويات مرتفعة من بعض الميكروبات المرغوبة ، التى تكون موطنها

الطبيعى القناة الهضمية للإنسان ، ووجود Bifidobacteria فى الأمعاء الغليظة من الصفات المرغوبة . لذلك فإن فكرة المكملات الغذائية dietary supplementation مع منتجات الألبان المحتوية على مثل هذه الميكروبات قد اكتسبت مصداقية فى كثير من الدول ، حيث تعمل على تحسين التوازن الميكروبى microbial balance فى الأمعاء . جدول (٣-٧) يوضح التأثيرات المفيدة والضارة لبكتريا حامض اللاكتيك.

جدول (٣-٧) : التأثيرات المفيدة والضارة لبكتريا حامض اللاكتيك.

التأثير	الآلية المقترحة	موقع التأثير الرئيسى
*** التأثيرات المفيدة**		
▪ تثبيط البكتريا الضارة	(١) إنتاج مواد مضادة للبكتريا	فى المعدة والأمعاء الدقيقة
	(٢) التنافس على العناصر الغذائية	فى المعدة ،الأمعاء الدقيقة والأمعاء الغليظة
	(٣) التنافس على مواقع التوطن colonization	فى المعدة والأمعاء الدقيقة
▪ تمثيل melabolism الميكروبات/العائل	(١) إنتاج إنزيمات تساعد على الهضم (مثل اللاكتيز)	فى المعدة والأمعاء الدقيقة
	(٢) تقليل إنتاج الأمونيا ، الأمينات أو الإنزيمات السامة	فىالأمعاء الدقيقة والغليظة
	(٣) تحسين وظيفة جدار الأمعاء	
▪ تحسين الإستجابة المناعية فى العائل	(١) زيادة مستويات الأجسام المضادة .	فى الأمعاء الدقيقة (والأمعاء الغليظة)
	(٢) زيادة نشاط البلعمات macrophage	فى الأمعاء الدقيقة (والأمعاء الغليظة)
*** التأثيرات الضارة :**		
▪ التنافس على العناصر الغذائية مع العائل	(١)استهلاك الجلوكوز	فى المعدة والأمعاء الدقيقة
	(٢)استهلاك الأحماض الأمينية	فى المعدة والأمعاء الدقيقة

٤-١-٣-١- المنتجات المحتوية على Bifidobacteria

أجريت دراسات واسعة على تسمية وتقسيم أجناس *Bifidobacterium* ، وقد تم التعرف حالياً على ٢٤ نوع species مختلف من Bifidobacteria ، ٥ أنواع فقط (*Bif. adolescentis, breve, bifidum, infantis* and *longum*) قد

شدت الانتباه فى صناعة الألبان لصناعة منتجات ألبان متخمرة علاجية therapeutic وقائية probiotic .

خلال العشر سنوات الماضية ، كان هناك زيادة كبيرة فى أسواق أوروبا وأمريكا الشمالية وكثير من الدول الأخرى ، على منتجات الألبان (متخمرة وغير متخمرة) المحتوية على *Bifidobacterium* spp. التى يكون مصدرها الإنسان . من الواضح أن *Bifidobacterium* spp. لا تستخدم على نطاق واسع بمفرده (كمزارع بادئات وحيدة السلالة single strain starter cultures) ، وقد يرجع ذلك إلى : (١) إنتاج الحموضة بمعدل بطئ عندما تنمو فى اللبن و(٢) المذاق غير المرغوب لحامض الخليك. السلالات التى تستخدم على نطاق واسع هى : *B. longum*, *B.bifidum* بالإشتراك مع LAB أخرى ، هذه الميكروبات العلاجية therapeutic organisms يجب أن يكون مصدرها الإنسان ، وأن تكون أعداد الخلايا الحية عند الاستهلاك أكثر من $١٠^{٦}$ cfu/مل.

مراحل التصنيع مماثلة لمراحل تصنيع اليوجهورت من حيث تدعيم اللبن ، التجنيس والمعاملة الحرارية . تتأثر الأعداد الحية viable counts فى المنتجات بمعدل التلقيح ودرجة حرارة التحضين . عادة يستخدم بادئ التلقيح المباشر DVI فى اللبن المدعم بعناصر غذائية ، اعتماداً على توصيات المعامل المنتجة لمزارع البادئات. عموماً توجد بيئة لتحضير بادئ الإضافة bulk starter medium تتكون من لبن فرز ، مستخلص خميرة ، لبن متحلل بالببسين pepsin hydrolyzed milk ، مستخلص ذرة وبروتينات شرش التى تكون مناسبة لنمو Bifidobacteria .

من أهم منتجات الألبان المتخمرة التى تحتوى على Bifidobacteria :

أ- يوجهورت أسيدوفلس بيفيدس Acidophilus bifidus yoghurt

يشبه هذا المنتج يوجهورت البيفيدس bifidus yoghurt أو Lünebest حيث يلقح اللبن المعامل عند ٤٠-٤٢°م بمزارع بادئات منفردة (اليوجهورت ، *Lb.acidophilus* ، *B.bifidum* أو *B.longum*) . يتطلب الأمر توفير أحواض أو خزانات مختلفة للبادئ وذلك لإنتاج بادئ الإضافة bulk starter ، أو تستخدم

بعض مزارع البادئات (مثل *Lb.acidophilus, Bifidobacterium* spp.,) كبادئ للتلقيح المباشر DVI .

من المنتجات الأخرى قريبة الشبه ، Biobest (بيوبيست) وميل ميل Mil-MilE . يحتوى المنتج الأول (Biobest) على حبوب "biogern grain" ، ويضاف بادئ اليوجهورت بمعدل حوالى ١,٠ جم/١٠٠مل . يصنع بيوبيست فى ألمانيا بينما Mil-MilE منتج يابانى Japanese product .

ب- لبن البيفيدس Bifidus milk

يلقح اللبن البقرى (المحتوى على ١٥-٢٠% جوامد كلية) بمزرعة فردية أو نقية من *B.longum* أو *B.bifidum* بمعدل ١٠ % ثم يحضن عند ٣٧°م حتى يصل pH إلى حوالى ٤,٥ . يتميز هذا الناتج بالصفات التالية :

- مذاق حامضى معتدل وخفيف الحرافية slightly spicy.
- يحتوى على أعداد من Bifidobacteria الحية تبلغ $١٠^{٨}$ — $١٠^{٩}$ cfu/مل مع انخفاض يصل إلى دورتين لوغاريتمين خلال التخزين.

يوجد منتج مماثل فى المملكة المتحدة ، حيث يستخدم خليط من لبن فرز معامل بالترشيح الفائق UF وشرش جبن التشدر معامل بالترشيح الفائق UF (١٥ % جوامد كلية TS) . يسخن الخليط عند ٨٠°م لمدة ٣٠ دقيقة ويبرد إلى ٣٧°م ، ويدعم بالثيرونين threonine (١,٠جم/١٠٠جم) ، يلقح بحوالى ٢ % من بادئ وحيد السلالة من *Bifidobacterium* spp. ويحضن لمدة ٢٤ ساعة ثم ينقل إلى غرف التبريد . ويتميز المنتج المبرد بالصفات التالية :

- المنتجات التى تصنع باستخدام *B.bifidum, B.infantis & B.longum* تكون متماثلة وتشبه اليوجهورت.
- الألبان المتخمرة تحتوى على طعم عين الجمل "walnut flavor" وحموضة سائغة مرغوبة ومحتوى الأسيتالدهيد حوالى ٢٨ ميكروجرام /جرام.
- تبلغ أعداد الخلايا الحية فى البداية $١٠^{٩}$ cfu/مل ، ولكن تنخفض بعد التخزين (إلى أقل من $١٠^{٥}$ للـ *B.infintis* ، $١٠^{٦}$ للـ *B.longum* و $١٠^{٧}$ للـ *B.bifidum*) .

- المنتج المصنع باستخدام *B.adolescentis* غير مقبول عندما يصل pH إلى ٥,١ .

فى الهند ، تم إنتاج لبن متخمر بيفيدس Bifidus يحتوى على 10^8 cfu/جم من *B.bifidum* ، وقد استخدم بادئ وحيد السلالة بمعدل ١٠ % مع التحضين عند ٣٧°م .

جـ- بيفيجورت Bifighurt

يشبه هذا اللبن المتخمر لبن البيفيدس Bifidus أو يوجهورت البيفيدس ، ولكن يتكون البادئ من *Str.thermophilus, B. longum* . تكون أعداد Bifidobacteria فى المنتج 10^7 cfu/مل ، ويتكون حامض لاكتيك فى صورة L(+) فقط.

د- Biogarde and ABT

هذه المنتجات متشابه لحد ما ، ويتكون البادئ من *B.bifidum* (مصدره الإنسان) ، *Lb.acidophilus* (مصدره الإنسان) *Str.thermophilus,* . فى البداية عندما تم إنتاج Biogarde فى ألمانيا ، فإن معدل التلقيح من بادئ الإضافة المختلط mixed bulk starter كان ١٠-٢٠جم/١٠٠ مل . تضاف حالياً بيئة مغذية nutrient medium culture (١,٥ جم/١٠٠ مل) إلى لبن البادئ ، ويكون التلقيح بمعدل ٦جم /١٠٠ جم فقط. يحتوى الناتج على 10^7 — 10^8 cfu/مل من *Lb.acidophilus* ، 10^6 — 10^7 cfu/مل من *B.bifidum* وأعداد وفيرة من Streptococci . تستخدم مزارع بادئات التلقيح المباشر DVI من Biogarde ABT, بكثرة لضمان أعداد مرتفعة من الخلايا الحية.

يتم إنتاج المنتج الفرنسي Ofilus "nature" (٣,٦ % دهن) باستخدام بادئ مماثل للـBiogarde أو ABT . يتميز منتج Ofilus "double douceur" (١٠ % دهن) بمذاق معتدل حيث يستبدل *Str.thermophilus* بـ *Lc.lactis* ssp. *cremoris* . تدل نتائج الدراسات العلاجية أن استهلاك Ofilus المحتوى على خلايا حية من *B.bifidum* (10^8 cfu/جم) يزيد من نشاط إنزيم β-glucosidase، الذى يشارك فى تخمر السيلولوز فى الأمعاء الغليظة.

هـ- كلشرا - AB ، بيوميلد ودايفليس

Cultura-AB, Biomild and Diphilus

هذه أسماء عامة لمنتجات تصنع باستخدام بادئ مختلط من *B.bifidum* (فى بعض الأحيان تضاف أنواع أخرى من Bifidobacteria, *Lb.acidophilus* . يفضل استخدام لبن مدعم بالبروتين لصناعة Cultura AB ، ويجب تجنيس اللبن ومعاملته حرارياً ، وتبريده إلى ٣٧°م ، ثم يلقح ببادئ DVI (بادئ الإضافة اختيارى) ، ويحضن لمدة ١٦ ساعة ثم يبرد . الأعداد الحية الكلية viable counts فى Cultura AB الطازج تكون ١٠^ cfu/مل أو أكثر لكل من بكتريا البادئ ، وتقدر فترة صلاحية الناتج بحوالى ٢٠ يوم .

و- بيوكيس Biokys

وهو لبن بقرى متخمر (١٥ % جوامد كلية) يوجد فى تشيكوسلوفكيا Czechoslovakia وله صفات علاجية therapeutic properties مماثلة للناتج الدوائى Femilact . يتم تجنيس اللبن ، معاملة حرارية ، تبريد إلى ٣٠°م والتلقيح ببادئ خليط (٢-٥ جم /١٠٠ مل من *B.bifidum* ، *P.acidilactici*, *Lb.acidophilus* بنسبة ١ : ١,٠ : ١) . تقلب الخثرة عند الحموضة المرغوبة ، تبرد وتعبأ . فى الوقت الحالى يصنع Biokys باستخدام توليفات مختلفة من البادئ يتكون من بادئ قشدة DL (cream DL culture) ، *Lc.lactis* ssp. *cremoris* (سلالة منتجة للمخاطية) ، *B.longum* ، *B.bifidum* و/أو *Lb.acidophilus* .

ز- بروجورت Progurt

وهو ناتج مرتفع الجوامد يصنع فى شيلى من لبن فرز متخمر مركز جزئياً (عملية مماثلة للطريقة التقليدية المستخدمة فى صناعة Ymer فى الدنمارك) ويخلط مع لبن خض وقشدة . يلقح المخلوط ببادئ محب للحرارة المعتدلة (*Lc.lactis* biovar *diacetylactis* and *Lc.lactis* ssp *cremoris* بنسبة ١ : ١) بمعدل ١-٣جم /١٠٠جم ويحضن لمدة ١٢-١٨ ساعة . تسخن الخثرة (الجل) إلى درجة حرارة أقل من ٤٥°م لفصل الشرش ، ويعدل التركيب بإضافة قشدة ، تمزج

باللبن الخض ، ويضاف *B.bifidum, Lb.acidophilus* (٠,٥-١جم /١٠٠مل) قبل التجنيس ، يبرد ثم تتم عملية التعبئة.

ح- منتجات متنوعة Miscellaneous products

□ **بايفلاكت Bifilakt أو Bifilact** : وهى منتجات تصنع ببادئ مختلط غير معروف الأنواع من Lactobacilli, Bifidobacteria وذلك لمعالجة أمراض الجهاز الهضمى فى الأطفال . يلقح اللبن بمعدل ٥جم/١٠٠جم ويخمر لمدة ١٨-٢٠ ساعة عند ٣٧°م . يكون الناتج عند التعبئة ذات مذاق غير حامضى sweet (pH حوالى ٥,٩) وثابت لمدة أسبوع عند درجة حرارة أقل من ١٠°م وتبلغ أعداد الخلايا الحية $١٠^{٨}$-$١٠^{٩}$ cfu/مل .

□ **BRA** : وهو لبن متخمر سويدى Swedish حديثاً فى الأسواق . يستخدم بادئ خليط لتخمير اللبن ، ويتكون من *B.bifidum* ، *Lb.reuterii* (معزول من القناة الهضمية فى الإنسان) ,*Lb.acidophilus*.

جدول (٣-٨) :بعض المستحضرات الدوائية[1] المحتوية على **Bifidobacteria**.

الدولة	المنتج	الميكروبات
اليابان	Bifider	*B.bifidum*
فرنسا	Bifidogene	*Bifidobacterium* spp.
	Synerlac	*Lb.acidophilus*
		B.bifidum
		Lb.delbrueckii ssp. *bulgaricus*
	Lyobifidus	*B.bifidum*
يوغسلافيا	Liobif	*B.bifidum*
سويسرا	Infloran Berna	*Lb.acidophilus*
		B.bifidum
الولايات المتحدة الأمريكية	Life Start Two	*B.bifidum*
	Life Start Orginal	*B. infantis*
ألمانيا	Eugalan	*Bifidobacterium* spp.
	Euga-Lein	
	Lactopriv	
	Omaniflora	*B. longum*
		Lb.acidophilus
		E.coli

(١) أقراص مجففة

تستخدم Bifidobacteria فى تطوير نطاق واسع من منتجات الألبـــان ، (مثل مثلجات قشدية مجمـدة frozen cultured ice cream ، جـبن جافـة ، يوجهورت مركز ، جبن طازجة ، جبن جودا ، جبن Cottage وأغذية اطفـال مخففة) ، ومع ذلك ، فإن نفس الميكروبات تستخدم منفردة أو بالاشـتراك مـع ميكروبات وقائية probiotic لتحضير منتجات دوائية pharmaceutical (جـدول ٣-٨) .

عزل وتوصيف *Bifidobacterium* spp. فىاليوجهورت التجارى فى أسواق أوروبا يوضح أن كثيراً من المنتجات تحتوى علـى *Bifidobacterium animalis* (هذا الميكروب ليس مصدره الإنسان) بالإضافة إلى Bifidobacteria أخرى ، وفى بعض الأحيان تكون الأعداد الحية من Bifidobacteria فى بعض المنتجات أقل من 10^{2} cfu/مل ، لذلك فإن الصفات الصحية والعلاجية والوقائية لهذه المنتجات غير مؤكدة.

٤-١-٣-٢- المنتجات المحتوية على Lactobacilli

تتضمن Lactobacilli المفيدة صحياً : *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* ، *Lb.acidophilus*, ، *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* biovar *shirota* . *Lb.paracasei* spp. *rhamnosus* سـلالة Lactobacillus GG تشـبه *Lb.paracasei* ssp. *rhamnosus*.

وفيما يلى أمثلة لبعض منتجات الألبان المتخمرة المحتوية على Lactobacilli غير بادئ اليوجهورت:

أ- ياكولت Yakult .

لبن متخمر علاجى نشأ فى اليابان حيث تكون الجوامد الكليـة فى اللـبن منخفضة بدرجة كبيرة (حوالى ٣,٧ %) ويحتوى على ١٤ % سكر مضـاف ، وهو مشروب ينتج باستخدام بادئ وحيد السلالة يحتوى على أعداد كبيرة مـن *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* . طريقة صناعة هذا المنتج غير متوفرة خـارج اليابان ، ولكن من المحتمل أن تكون فترة التخمر حوالى ٤ أيام تحـت ظـروف صحية بالغة الدقة . يحتوى المنتج على أكثر من 10^{8} cfu/مل خلايا حية مـن

Lb.paracasei ssp. *paracasei* . يسخن اللبن إلى درجة حرارة فائقة الارتفاع UHT (١٤٠°م لمدة ٣-٤ ثوان) ، وفى وجود سكريات مضافة يصبح اللون مائل إلى اللون البنى الخفيف ، لحدوث تفاعل ميلارد Maillard reaction . فى بعض الأحيان يطعم المنتج بعصير الخضراوات . يصنع الياكولت Yakult بترخيص فى الشرق الأقصى ، كاليفورنيا ، المكسيك ، البرازيل وأستراليا.

يوجد منتج آخر شديد الشبه يطلق عليه Yakult Miru-Miru الذى يصنع باستخدام بادئ خليط يحتوى على *B.bifidum* ، *Lb.acidophilus*, *B.breve* . قد يستخدم خليط من بادئات مختلفة حيث تستبدل *B.bifidum* بميكروب *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* . يحتوى هذا المنتج على ٣,١% دهن ، ٣,١ % بروتين ، ٤,٥ % لاكتوز ، ٦,١ % سكر مضاف و ٠,٧% رماد.

ب- يوك Yoke

يسترجع مسحوق اللبن الفرز SMP للحصول على SNF أقل من ٨ % ويخلط بسكر ، كالسيوم ، حامض بنتوثينيك pantothenic acid ، فيتامين B_6 وحامض اللينولينك linolenic acid . يسخن المخلوط إلى ٥٠°م ، يجنس ، يسخن إلى ٩٠°م ثم يعقم بعد ذلك عند ١٠٠°م لمدة ٦٥ دقيقة . بعد التبريد إلى ٣٧°م ، يلقح المخلوط ببادئ خليط (*Lb.paracasei* ssp. *paracasei*, *Lb.acidophilus* and *Str.thermophilus*) ، يحضن لمدة ٤٨ ساعة ، يبرد ، يجنس ، وقبل التعبئة يضاف فيتامين C تحت ظروف معقمة . أعداد Lactobacilli الحية تصل إلى ١٨ × ١٠^ cfu/جم.

جـ- كالبس Calpis

لبن حامضى ياباني يحضر من اللبن الفرز باستخدام بادئ يحتوى على *Saccharomyces cerevisiae*, *Lb.helveticus* .

د- لبن الأسيدوفلس Acidophilus milk

ظهر فى أسواق الولايات المتحدة فى السبعينات لبن غير متخمر يعرف بـ "لبن الأسيدفلس غير الحامضى sweet acidophilus milk" . يتميز هذا الناتج بطعم يشبه طعم اللبن الطبيعى ، نظراً لإنتاج قليل من الحامض أثناء التخزين المبرد

(فى الثلاجة) . يصنع لبن الأسيدفلس المتخمر fermented acidophilus milk من بادئ وحيد السلالة من *Lb.acidophilus* . السلالات المعزولة من الأمعاء ، تنمو ببطئ فى اللبن ، ويزيد أعدادها وتصل إلى ٥ أضعاف فقط فى خلال ١٨-٢٤ ساعة مع زيادة فى الحموضة تصل إلى حوالى ٠,٨% على الأكثر . يرجع الاهتمام بهذه السلالات إلى فائدتها فى معالجة الاضطرابات المعوية .

عندما طرح لبن الأسيدوفلس لأول مرة فى أسواق الدول الغربية المختلفة ، فإن المستهلك لم يقبل عليه بصورة جيدة . قد ترجع أسباب ذلك إلى عدم الاعتقاد فى ارتباط منتجات الأسيدوفلس بالصحة الجيدة ، لكن سوء مراقبة الجودة أثناء الإنتاج بالنسبة للجودة الميكروبيولوجية والصفات الحسية قد ساهمت أيضاً فى عدم إقبال المستهلكين على هذا المنتج . يحتوى *Lb.acidophilus* على إنزيم alcohol dehydrogenase الذى يحول الإسيتالدهيد إلى إيثانول ، لذلك فإن لبن الأسيدوفلس قد يكون عديم المذاق tasteless مقارنة بالأنواع الأخرى من الألبان المتخمرة . وقد بذلت محاولات كثيرة لتحسين الطعم بإضافة بادئ اليوجهورت أو *Bifidobacterium*. وقد أدى التطور والتحسين فى النواحى التكنولوجية وخلط *Lb.acidophilus* مع بكتريا بادئ آخر ، إلى زيادة الطلب على هذا المنتج. وعموماً فإن طريقة إنتاج لبن الأسيدوفلس تتلخص فيما يلى:

يسخن اللبن (لبن كامل أو فرز) إلى ٩٥°م لمدة ٦٠ دقيقة ، يبرد إلى ٣٧°م ويحجز لمدة ٣-٤ ساعات ، ثم يسخن اللبن مرة أخرى إلى ٩٥°م لمدة ١٠-١٥ دقيقة ، يبرد ويلقح بنسبة ٢-٥ % بادئ الإضافة bulk starter . يحضن اللبن المعامل لمدة قد تصل إلى ٢٤ ساعة أو إلى حموضة تصل ١% حامض لاكتيك، يبرد إلى ٥°م ويعبأ وينقل أخيراً إلى غرف التبريد . ومن ناحية أخرى فإن الطرق الحديثة لزيادة كفاءة عملية التصنيع تتركز فيما يلى:

١- يجنس اللبن عند ضغط ١٤,٥ MPa ، ثم يسخن إلى ٩٥°م لمدة ٦٠ دقيقة ، يبرد إلى ٣٧°م ويلقح ببادئ DVI (بادئ التلقيح المباشر) ، ثم يحضن لمدة ١٢-١٦ ساعة أو إلى حموضة حوالى ٠,٦٥ % حامض لاكتيك.

٢- تسخين اللبن لدرجات حرارة فائقة الارتفاع UHT (١٤٠-١٤٥°م لمدة ٢-٣ ثانية) يساعد على القضاء على الميكروبات الملوثة غير المرغوبة . قد

يستخدم خليط من سلالات مخاطية ropy مع سلالات غير مخاطية non-ropy من *Lb.acidophilus* (بنسبة ١:٤) ، كما فى الأتحاد السوفيتى سابقاً (USSR) لإنتاج Moskowski .

يجب أن يحتوى ناتج التجزئة retail product على ٥ × ١٠^٨ cfu/مل من *Lb.acidophilus* عند الاستهلاك (أى بعد ١٤-٢١ يوم من الصناعة) . ولضمان هذه الجودة ، فإنه يجب تبريد الناتج عند حموضة حوالى ٠,٦٥ % حامض لاكتيك والمحافظة على هذه الحموضة عند درجة حرارة لا تزيد عن ٥°م أثناء التوزيع والتسويق . يمكن المحافظة على ثبات الميكروبات فى اللبن الأسيدوفلس بواسطة : (١) إضافة مستخلص خميرة أو بيئة V (V medium) إلى اللبن لتحسين نمو *Lb.acidophilus* ، (٢) تدعيم بروتينات اللبن بواسطة لبن فرز مركز و (٣) استخدام بادئ خليط من *Lb.acidophilus* وبادئ اليوجهورت لتثبيت أعداد الخلايا وتحسين الطعم . يعتمد تحقيق هذه النتائج على الاختيار الدقيق لسلالات *Lb.acidophilus* ، ويجب متابعة الحموضة بدقة للتأكد من بقاء *Lb.acidophilus* لمدة ١٤ يوم على الأقل.

Lb.acidophilus المضاف إلى اليوجهورت قبل التعبئة تكون مقاومته ضعيفة ، وقد يعزى ذلك إلى فوق أكسيد الأيدروجين الناتج بواسطة *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، ولكن إضافة الكتاليز (٢٤٠ وحدة/مل) يمنع هذا التثبيط . وعلى العكس من ذلك ، فإن إضافة أعداد كبيرة من خلايا *Lb.acidophilus* و/أو *Bifidobacterium* spp. إلى اللبن المبستر قبل التعبئة يجعل اعداد الخلايا الحية أكثر من ٢ × ١٠^٦ cfu /مل عند نهاية الأسبوع الثاني من عمر الناتج .

يمكن أيضاً استخدام ألبان أخرى ، حيث تم إنتاج لبن أسيدوفلس مرتفع الجودة من لبن جاموسي يحتوى على أعداد خلايا حية viable cell counts تصل إلى ٦,٤ — ٨,١ × ١٠^٨ cfu/مل عند pH حوالى ٤,٠ . البادئات المختلطة من *Lb.acidophilus, Lb. paracasei* ssp. *paracasei*, النامية فى بيئة لبن الصويا soy milk تحتوى على أعداد مرتفعة من *Lb.acidophilus* ، لكن إضافة *Str.thermophilus* تقلل من الأعداد النهائية . من الطرق البديلة لإمداد المستهلك

بخلايا *Lb.acidophilus* ، أعداد مستحضر مجفف بطريقة الرذاذ من لبن أسيدوفلس ، عصير طماطم وسكر ، ويحتوى الناتج على أعداد خلايا حية ٢٢,٩ × ١٠^٧ cfu/جم ، حيث يكون معدل البقاء survival rate ١٤,٨ %.

جدول (٣-٩): أقراص دوائية مجففة تحتوى على أنواع من Lactobacilli.

المنتج	الدولة	الميكروبات	أعداد الخلايا الحية cfu/جم
Enpac	المملكة المتحدة	*Lb.acidophilus*(1)	أعداد كبيرة
Laccilla	المملكة المتحدة	*Lb.acidophilus*	١٠^٨ أو أكثر
Lactinex	الولايات المتحدة الأمريكية	*Lb.acidophilus+Lb.del breuckii* ssp.*bulgaricus*	–
Megadophilus	الولايات المتحدة الأمريكية	*Lb.acidophilus*	٥ × ١٠^٩
Ribolac	سويسرا	*Lb.acidophilus*(2)	١٠^٨ أو أكثر

(١) السلالات المستخدمة تقاوم ١٠ مضادات حيوية مختلفة .

(٢) *Lactobacillius* مقاومة للمضادات الحيوية وأدوية السلفا (الكبريت) ، تحتوى الأقراص أيضاً على فيتامينات مختلفة .

يوجد عدد قليل من المستحضرات الدوائية pharmaceutical مجففة من *Lb.acidophilus* متوفر فى أسواق دول مختلفة (جدول ٣-٩) .

يصنع فى الاتحاد السوفيتى سابقاً (USSR) منتج غذائى من لبن فرز مدعم بزيت ذرة (٢جم/١٠٠جم). يسخن الزيت إلى ٥٠°م ، يخلط مع جزء صغير من اللبن الفرز عند ٣٥°م ، يجنس ثم يخلط مع الكمية الباقية من اللبن الفرز . يضاف السكروز ثم يعقب ذلك التسخين إلى ٩٠-٩٥°م لمدة ١٠-١٥ دقيقة والتبريد إلى ٣٧°م ، والتلقيح بمعدل ٥% من بادئ *Lb.acidophilus* ويحضن لعدة ساعات . حموضة الناتج النهائية تكون حوالى ١,٠ % حامض لاكتيك.

هـ-جيفلس Gefilus (جيفلاك Gefilac) . لبن متخمر يوجد فى فنلندا Finland يستخدم فى صناعة هذا اللبن المتخمر *Lactobacillus rhamnosus* . مصدر هذه السلالة الإنسان وتعرف بـ *Lactobacillus* GG نسبة إلى العالمين S.Gorbach & B.Goldin . الأسم القديم لهذا الميكروب *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* ، وحديثاً سميت هذه السلالة *Lb.rhamnosus* ATCC 53103 .

يستخدم اللبن الذى تم تحليل اللاكتوز فيه lactose-hydrolyzed milk فى صناعة Gefilus والناتج غير مضاف إليه مواد مكسبة للطعم ، ويتم تحليته

بالفركتوز ، ويحتوى على حوالى ١,٥ % دهن ، ويتميز بقوام صلب firm ومذاق حامضى خفيف منعش . يتكون بادئ Gefilus من ٣ سلالات من *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* GG, *Leuc.mesenteroides* ssp *cremoris*.

تتميز هذه السلالة من *Lactobacillus* بصفات الميكروبات الوقائية probiotic microorganisms على النحو التالى :

- مقاومة الحامض والصفراء bile .
- القدرة على الالتصاق بقوة بالخلايا المبطنة لأمعاء الإنسان .
- القدرة على المرور خلال المعدة والجزء العلوى من الأمعاء ، والأستقرار فى أمعاء الإنسان.
- إنتاج مواد مضادة للميكروبات antimicrobial substances التى تثبط نمو البكتريا الضارة.
- الاستقرار فى الأمعاء أثناء المعالجة بالبنسلين penicillin ، أمبسلين ampicillin أو erythromycin .
- تحسين المناعة المعوية intestinal immunity.
- خفض مستويات الإنزيمات البكتيرية المعوية المشاركة فى سرطان الأمعاء الغليظة.

عملية عزل وتوصيف هذه السلالات من *Lactobacillus* من الإنسان قد تم تسجيلها فى كثير من الدول ، وقد سجلت الدراسات العلاجية الحديثة الحقائق التالية : (١) عزل *Lb.rhamnosus* من لعاب saliva المرضى بعد أسبوع واحد من إتباع نظام ٧ أيام يتم خلاله تناول ٢٥٠ جم من اللبن المتخمر مرتين يومياً ، (٢) عزل مادة مثبطة من *Lb.rhamnosus* قادرة على تثبيط *Str.sobrinus* ، ومركب يشبه ميكروسين microcin (منخفض الوزن الجزيئى ، أقل من ١ kDa) ذات مجال نشاط أوسع من البكتروسين bacteriocin ، (٣) إستيطان أمعاء الإنسان ياستخدام أقراص مجفدة من *Lactobacillus* GG ، (٤) إستيطان الأطفال الرضع غير الناضجين premature babies بسلالات *Lactobacillus* GG لم يسبب أى تأثيرات غذائية معاكسة ، (٥) بقاء *Lactobacillus* GG فى القناة الهضمية لبعض المرضى الذين يتناولون المضاد الحيوي ampicillin ، (٦) معالجة

فعالة للإسهال الذى يسببه *Clostridium difficile* ، الإسهال المرتبط بالمضادات الحيوية antibiotic-associated diarrhoea ، إسهال المسافرين والإسهال الحاد فى الأطفال ، (٧) انخفاض نشاط إنزيمات β-glucuronidase ، nitroreductase ، glycocholic acid hydrolase البرازية فى الأمعاء الغليظة للإناث البالغات الأصحاء بعد تناول اليوجهورت المحتوى على *Lactobacillus* GG.

٤-١-٣-٣- منتجات تحتوى على Enterococci

ميكروبات مثل *Ent.faecalis, Enterococcus faecium* من بين الميكروبات (الميكروفلورا) التى تستوطن أمعاء الإنسان . منذ عام ١٩٢٩ ، تستخدم حبوب Paraghurt tablets ، المحتوية على *Ent.faecium* وبادئ اليوجهورت ، فى الدنمارك فى معالجة التهابات القولون والإسهال ومعالجة وقائية من الإسهال . يحتوى كل قرص من Paraghurt على *Ent.faecium* ($١٠^{٧}$-$١٠^{٨}$ cfu/جم) ، *Str.thermophilus* ($١٠^{٣}$ cfu/جم) *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, ($١٠^{٢}$ cfu/جم).

ينتج فى جمهورية مصر العربية ناتج شبيه باليوجهورت A yoghurt-like product باستخدام سلالة واحدة أو سلالات مختلطة من *Ent.faecalis* 19 & 22 و/أو *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* . كما تم عزل سلالات Enterococci من اللبن الرايب (لبن متخمر مصرى) . تم تصنيع منتج تجريبى باستخدام ١,٥ % بادئ من كل سلالات *Ent.faecalis* ، حيث كانت على كفاءة عالية لإنتاج حامض ، مركبات كربونيل carbonyl compounds ، وتميز بنشاط أكبر فى تحليل البروتين وحصل على درجات مرتفعة عند تقويمه حسياً.

يوجد حديثاً فى الدنمارك وبعض الدول الأوروبية الأخرى ناتج يعرف بـ Gaio . يطلق على البادئ المستخدم "Causido" ويتكون من *Ent.faecium* (مصدره الأنسان) وسلالتين من *Str.thermophilus* . يحتوى الناتج النهائى الطازج على أعداد من خلايا حية من *Ent.faecium* تصل إلى حوالى ٢ × $١٠^{٨}$ cfu/مل ، وخلايا حية من *Str.thermophilus* تصل إلى حوالى ٧ × $١٠^{٨}$

cfu/مل . وقد أشارت الدراسات على أن منتج Gaio يخفض الكوليسترول فى الرجال الأصحاء متوسطى العمر.

٤-٢- الألبان المتخمرة باستخدام بكتريا حامض اللاكتيك والخمائر

تتميز هذه المشروبات اللبنية الكحولية alcoholic milk beverages بمذاق حامضى (حامض اللاكتيك) مع محتوى من الأيثانول يصل إلى ٢ % . كما تتميز هذه المنتجات بصفات رغوية foaming وفواره effervescent نتيجة إنتاج CO_2. ميكروبات البادئ غير معّرفة بدقة عندما تقارن مع الألبان المتخمرة السابق ذكرها، بالرغم من أن الخمائر وبكتريا حامض اللاكتيك دائماً تكون موجودة . من الأمثلة النموذجية لهذه الألبان المتخمرة : الكفير Kefir ، الكوميس Koumiss ولبن الأسيدوفلس المحتوى على خمائر Acidophilus-yeast milk . نشأت هذه الألبان المتخمرة فى جبال القوقاز وفى سهول شمال وشرق شمال القوقاز إلى منجوليا. تصنع هذه الألبان المتخمرة على نطاق واسع فى الاتحاد السوفيتى سابقاً USSR ، وبكميات محدودة فى بعض دول أوروبا الغربية.

٤-٢-١- الكفير Kefir

يوجد بادئ هذه الألبان فى صورة حبوب كفير kefir grains التى تتميز بأسطح غير منتظمة ومجعدة . قد تكون لون الحبوب بيضاء أو مائلة للأصفرار ، ولها قوام مرن elastic . يتراوح قطر حبوب الكفير من ١-٦ مللم (mm) أو أكثر ويتوقف ذلك على درجة التقليب أثناء النمو فى اللبن ، عند تجميع هذه الحبوب من اللبن وغسلها بالماء فإنها تكون مختلفة فى الحجم حيث يتراوح قطرها بين ٠,٥ — ٣,٥ سم ، وتشبه ثمار القرنبيط فى الشكل واللون .

أ- ميكروبات حبوب الكفير.

ميكروبات حبوب الكفير معقدة ودائماً غير ثابتة ، تتكون من أنواع غير معرّفة من البكتريا والخمائر ، وقد وجد أنواع عديدة مرتبطة بحبوب الكفير . جدول (٣-١٠) يوضح الميكروبات الموجودة فى حبوب الكفير والتى تتوقف على: (١) مصدر ودولة المنشأ و (٢) الطرق الميكروبيولوجية المستخدمة فى

تعريف الأنواع المختلفة . فمثلاً ، وجود *Acetobacter* spp. فى حبوب الكفير الأسبانى يعتبر من الملوثات . وقد أشار بعض الباحثين أن *Acetobacter aceti* *Ace.rasens*, يحسن من طعم وقوام الكفير . وقد تم عزل سلالة *Lb.kefiranofaciens* K_1 منتجة سكريات عديدة كبسولية من الكفير ، واللبن المتخمر المحضر من السلالة المعزولة يتميز بقوام خيطى (لزج) ropy ومقاوم لانفصال الشرش syneresis . وجود فطر أبيض (*G.candidum*) فى حبوب الكفير قد تكون مرغوب فيه فى بعض الأسواق ، ولكن تعتبر كملوثات غير مرغوبة فى دول أخرى .

جدول (٣-١٠): ميكروبات حبوب الكفير

١- الخمائر Yeasts

Candida kefyr	*Saccharomyces cerevisiae*
Candida pseudotroplicalis	*Torulaspora delbrueckii*
Candida tenuis	*Zygosaccharomyces florentinus*
Candida holmii	*Klyveromyces marxianus* var. *lactis*
Candida valida	*Klyveromyces marxianus* var. *maxianus*
Candida friedrichii	*Klyveromyces marxianus* var. *fragilis*
Toulopsis kefyr	*Mycotorula lactis*
Pichia fermentans	*Mycotorula lactosa*

٢- بكتريا حامض اللاكتيك Lactic acid bacteria

Lb.kefir,Lb.helveticus ، *Lb.brevis* ، *Lb.acidophilus* ، *Lb.cellobiosus* ، *Lb.paracasei* ssp. ، *Lb.delbruckii* ssp. *bulgaricus* ، *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* ، *Lb.paracasei* ssp. *alactosus* ، *tolerans* ، *Lb.paracasei* ssp. *pseudoplantarum* ، *Lb.rhamnosus* ، *Lb.kerfirgranum* ، *Lb.kefiranofaciens* ، *Lb.viridenscens* . *Lb.parakefir* ، *Lb.gasseri* ، *Lb.plantarum* ، *Lc.lactis* ssp. *cremoris* ، *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* ، *Lc.lactis* ssp. *lactis* *Leuc.mesenteroides* ssp. *dextranicum*, *Str.thermophilus*

٣- بكتريا حامض الخليك Acetic acid bacteria

Ace.rasens ، *Acetobacter aceti*

٤- فطريات Molds

Geotrichum candidum

٥- ملوثات Contaminants

Ent.durans ، *E.coli* ، *Bacillus* spp. ، *Micrococcus* spp. ، *Pediococcus* spp.

تم حديثاً دراسة طبيعية حبوب الكفير بشئ من التفصيل . الحبوب عبارة عن حبيبات جيلاتنية (٢-١٥ ملم فى القطر) التى تتكون من خليط من

الميكروبات تتجمع بطريقة منتظمة جداً . تختلف الميكروبات الموجودة ولكن قد تشمل *Lc.lactis* ssp *lactis,* ssp. *cremoris Lb.acidophilus, Lb.kefir* ، *Kluyveromyces* ، *Candida kefyr* ، *Lb.casei* ، *Lb.kefiranofaciens* وأنواع من *Saccharomyces* تشمل *Sacch. marxianus* var. *marxianus* و *Acetobacter aceti, cerevisiae* . تحت ظروف التنشيط المنتظمة ، فإن الحبوب تتكاثر فى اللبن لعدد كبير من الأجيال ، تبقى الصفات والمزايا ثابتة لا تتغير . تبدو أن حبوب الكفير تتكون من تركيب بنائي matrix ، ٥٠ % من جلوكوز وكربوهيدريت تحتوى على جلاكتوز ، كيفيران kefiran . يتكون هذا التركيب من طبقات متتالية تحتوى على بكتريا حامض اللاكتيك العصوية Lactobacilli المنتجة للكيفيران kefiran . يسود كل من Lactobacilli غير المنتجة للكيفيران والخمائر على جوانب منفصلة من هذه الطبقات . ينتج الكيفيران kefiran بواسطة *Lb.kefiranofaciens* فى مركز الحبوب حيث يكون النمو جيداً نتيجة الظروف اللاهوائية وفى وجود الأيثانول . لذلك فإن *Lb.kefiranofaciens* يكون مسئولاً عن تنمية الحبوب الذى لا يحدث فى غياب هذا الميكروب ، بالرغم من أن الحبوب غير المنشطة تحتفظ بالقدرة على إنتاج الكفير . يعتبر *Lb.kefir* ، من ميكروبات Lactobacilli الأكثر شيوعاً فى الكفير ، يوجد فقط بأعداد قليلة على سطح الحبوب .

عند تلقيح اللبن بحبوب الكفير وتحضينه يحدث انطلاق الميكروبات من حبيبات الكفير إلى اللبن ويبدأ فى النمو وإحداث التخمر . عند إزالة حبوب الكفير من اللبن بعد التخمر يسمى الناتج مزرعة الكفير kefir culture ويمكن استخدامها عدة مرات ولا تستخدم لفترات طويلة حتى لا يحدث خلل فى توازن ميكروبات الكفير .

ب- إنتاج بادئ إضافة الكفير

فى صناعة الكفير فى الاتحاد السوفيتى سابقاً USSR ، يستخدم بادئ I أو II . شكل (٣-٣) يشرح المراحل المختلفة لإنتاج البادئ . وقد يوصى بشدة باستخدام البادئ I فى إنتاج الكفير ، لكن البادئ II يستخدم فقط فى المصانع إذا لم تتوفر إمكانيات لفصل وغسل حبوب الكفير.

للمحافظة على النسبة الملاءمة بين أنواع الميكروبات المختلفة فى حبوب الكفير ولإنتاج ناتج مرتفعة الجودة فإنه يجب أن يتم التعامل مع مزارع البادئ على النحو التالى :

- يستخدم لبن فرز مرتفع الجودة ومنخفض العدد الكلى من الميكروبات ويسخن إلى ٩٥°م لمدة ١٠-١٥ دقيقة .
- تستخدم حبوب الكفير لتلقيح اللبن بنسبة تتراوح بين ١ : ٣٠ إلى ١ : ٥٠ ، عند نسبة أقل من ١ : ٣٠ فإن التوازن الميكروبى سوف يتغير ، ويفضل التنشيط اليومى .
- يقلب البادئ I مرتين خلال فترة التحضين ، بعد ٦ ساعات و ٢٢ ساعة على التوالى ، يخمر اللبن عند ٢٠°م حيث أنه عند درجات حرارة أعلى من ٢٥°م فإن التوازن بين بكتريا حامض اللاكتيك ، الخمائر *Acetobacter* spp., سوف يتغير مما يشجع على زيادة أعداد *Lactobcillus* وانخفاض فى أعداد الميكروبات الأخرى ، أساساً الخمائر *A.aceti*, ، حيث يتأثر تكوين الطعم والنكهة فى الكفير . التبريد البطئ للخثرة (١٠-١٢ ساعة) من الأمور المرغوب فيه ليسمح للميكروبات بتكوين الطعم بالدرجة المرغوبة .
- الغسيل الزائد للحبوب سوف يؤدى إلى خلل فى التوازن الميكروبى ويخفض نشاطها ، يمكن استعادة نشاط البادئ بعد تنمية الحبوب لمدة ٣-٥ أيام.

نظراً لأن إنتاج الكفير يتضمن استعادة الحبوب وإعادة استخدامها بعد غسلها ، فإن الإنتاج على مستوى واسع يكون غير إقتصادى لحد ما . يقدر الوقت اللازم للإنتاج بحوالى ٢٤ ساعة فى أوروبا ، تم إنتاج بادئ مجفد لإنتاج الكفير تجارياً حيث لا يستلزم الأمر استعادة الحبوب . وقد تم اختيار سلالات من Lactobacilli, Lactococci متجانسة التحمر و *Cand.kefyr* ، حيث تم تنمية كل نوع على حدة عند pH ثابت ، ثم التركيز والتجفيد . يتكون الخليط النهائى من *Lc.lactis* ssp. *lactis* (٧٥ %) ، *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* (٢٤ %) ، Lactobacilli (٠,٥ %) وخمائر (٠,١ %) . تم الحصول على كفير ثابت باستخدام هذا البادئ يتميز بطعم ونكهة أفضل (أى ثنائى الأسيتيل أكثر

وطعم خمائرى أقل) ، ولكن الناتج يحتوى على إيثانول ,CO_2 أقل نتيجة إلى وجود أعداد قليلة من الخمائر فى البادئ .

وقد تم فى عام ١٩٨٤ تسجيل براءة اختراع بادئ كفير لاستخدامه مرة واحدة يتكون من Lactococci ، Lactobacilli وخمائر . يلقح اللبن بـ ٢ % ببادئ خليط يحتوى على *Lc.lactis* ssp. *lactis* ، biovar *diacetylactis* ، ssp. *cremoris* وكذلك *Lb.acidophilus* ، *Lb.brevis* ssp., *Lb.delbrueckii* *lactis*, ثم يحضن عند ٢٤-٢٧°م حتى ينخفض pH إلى ٤,٤ . بعد تبريد اللبن المتخمر ، يضاف مزرعة من *Cand.kefyr* ، لكن لا يحدث تحضين بعد ذلك ، مما يعنى إحتواء الناتج على خميرة ولكن لا يتم تخمر الناتج بهذه الخميرة وبذلك يحتوى على قليل من الأيثانول أو الغاز . يساعد إنتاج هذا المنتج على تجنب إنتاج CO_2 الذى يسبب إنتفاخ عبوات الكرتون المستخدمة فى تعبئة اللبن المتخمر .

تسبب عملية تجفيد حبوب الكفير أضراراً injury لخلايا الخميرة ويقلل من أعداد خلايا الخميرة الحية فى المزارع الجافة . إضافة مخلوط يتكون من ٢٠ % محلول سكروز ونشا معقم إلى حبوب الكفير (طرية wet) لحماية خلايا الخميرة أثناء عملية التجفيد . استخدام هذا البادئ يؤدى إلى إنتاج ناتج شبيه بالكفير الناتج باستخدام حبوب الكفير ، وتحضير هذا البادئ يكون أسهل وأقل تعقيداً عند مقارنته بحبوب الكفير.

ونظراً لأن وجود CO_2 فى الكفير ضرورى ، فقد تمكن بعض الباحثين من إنتاج بادئ خليط نقى يتكون من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* + *Str.thermophilus* (٣ %) ، *Lb.acidophilus* (٣-٥ %) ومزرعة خليط من *Leuconostoc* spp. + *Lc.lactis* ssp. *lactis* (١%) لتخمير اللبن . يضاف سكروز (٦ جم/١٠٠جم) ومزرعة خميرة (١%) إلى اللبن المتخمر البارد قبل التعبئة فى زجاجات . وقد دلت الصفات الحسية أن هذا اللبن المتخمر يتميز بصفات مماثلة للكفير التقليدى المحضر بالحبوب ، هذه العملية مناسبة للإنتاج التجارى ، ويتميز الناتج بقوة حفظ جيدة ، لا يحدث فساد فى الجودة بعد ٤٢ يوماً عند ٥°م.

التطورات الحديثة فى تكنولوجيا بادئ الكفير يتضمن استخدام خلايا خمائر محملة immobilized yeast cells أو خلايا بـــادئ متعـــدد multistarter cells لإنتاج الكفير . النتائج المتحصل عليها مشجعة لأنطلاق الخلايا المناسبة وإنتـــاج نواتج التخمر المرغوبة فى الشرش واللبن ، على الترتيب ، هذه الطـــرق تكـــون مناسبة لإنتاج الكفير على نطاق واسع يحتوى على المستويات المرغوبة من حامض اللاكتيك ،CO_2 ، الأيثانول وثنائى الأسيتيل والأسيتيون acetoin. يحتوى كـــل جرام من الكفير الجيد على :

10^9 خلايا Lactococci ، $10^7 - 10^8$ خلايـــا Leuconostocs ، $10^7 - 10^8$ خلايا Lactobacilli ، $10^4 - 10^5$ خلايا خميرة و $10^4 - 10^5$ خلايا Acetobacter ، ويستخدم فى علاج اضطرابات القناة الهضمية.

جـــ- طرق الصناعة

من العادات التقليدية لمواطني القوقاز إنتاج مشروب منعش "الكفير" من لبن بقرى أو لبن ماعز باستخدام حبوب الكفير كبادئ . يوضع اللبن فى قربة جلـــد ، تلقح بحبوب الكفير ، توضع فى الشمس أثناء النهار وتؤخذ إلى المنـــزل فى الليل . تعلق القربة الجلد عادة قريبة من الباب ، بحيث أنه عند دخول أو خروج أى فـــرد من المنـــزل يدفع القربة لكى يخلط محتوى القربة . عندما يستهلك بعـــض مـــن الكفير ، يضاف لبن طازج إلى القربة . تعرف هذه الطريقـــة لإنتـــاج الكفـــير بالتخمر المستمر حيث يتوقف مستوى الحامض ، الأيثانول ,CO_2 على فترة الحجر holding time . تغسل القربة الجلد وتستخدم حبوب جديدة إذا ظهر فى الكفـــير طعم ومذاق غير مقبول.

يستخدم اللبن البقرى فى صناعة الكفير بدون تدعيم ، يعدل محتوى الدهـــن بحيث تكون بين أقل من ٠,١ إلى ٣,٢ % . يسخن اللبن إلى ٧٠°م ويجنس عند ضغط ١٢,٥ – ٢٠ MPa ، يســـخن إلى ٨٥-٨٧°م لمـــدة ١٠ دقـــائق أو إلى ٩٠-٩٥°م لمدة ٢-٣ دقيقة ، يبرد إلى حوالى ٢٢°م ويلقح ببادئ I أو II . يتـــم التخمير لمدة ٨-١٢ ساعة حتى تصل الحموضة إلى حوالى ١% حامض لاكتيـــك ، يعقب ذلك تقليب الخثرة والتبريد البطئ لمدة ١٠-١٢ ساعة . قبل التعبئة يقلـــب

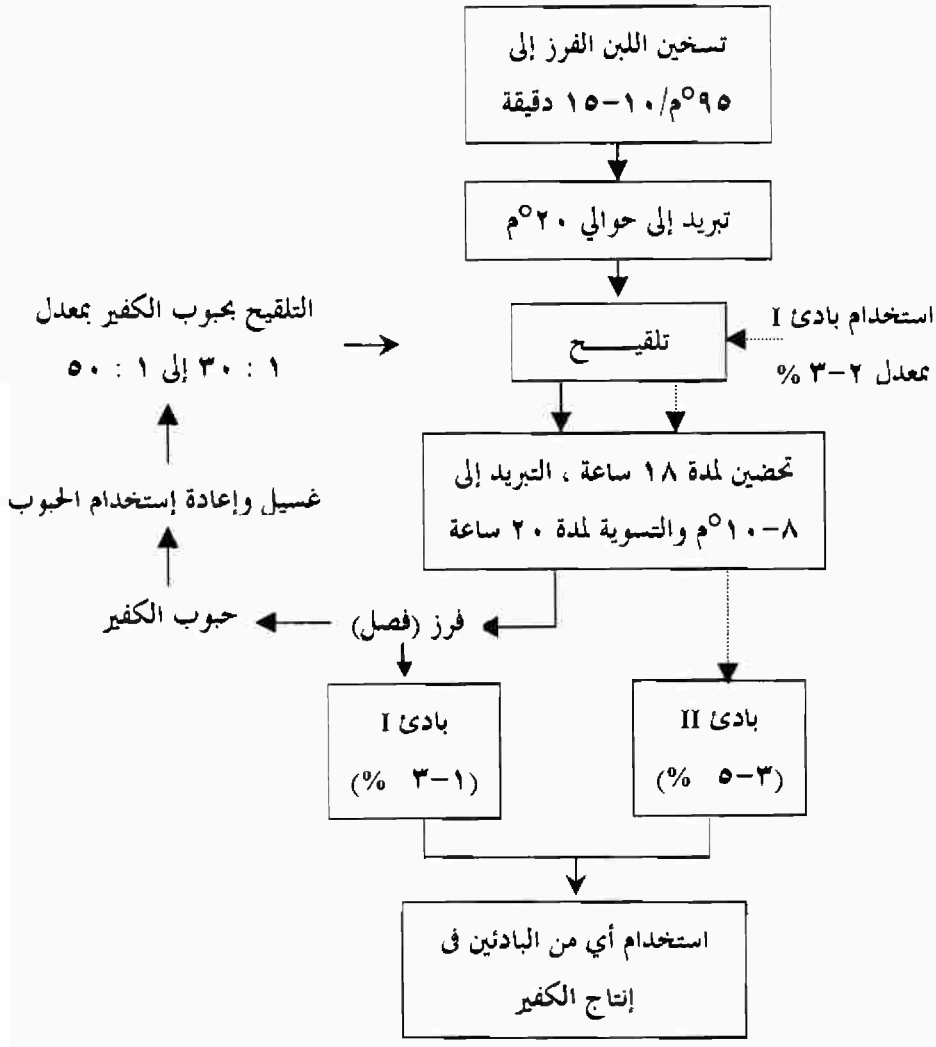
الناتج مرة أخرى ، ويعبأ فى فى عبوات التسويق (المستهلك) وتسوى ripened فى غرف التبريد .

عند صناعة الكفير باستخدام بادئ I ، يتميز الناتج بقوام متجانس ، مذاق منعش ، ومحتوى الكحول (حوالى ٠,١%) و CO_2 منخفض نسبياً عند مقارنته بالكفير التقليدى (حوالى ٢ % أيثانول) . تستخدم فى بولندا طريقة مماثلة لإنتاج الكفير على نطاق واسع ، حيث يتم الحصول على كفير مرتفع فى محتوى الكحول CO_2, نتيجة تخمير اللبن عند درجات حرارة تتراوح من ٤ إلى ١٥°م التى تشجع الخمائر . ومع ذلك ، يفضل التحضين عند ٢٥°م للإنتاج المثالى من الأيثانول والأحماض الطيارة . تتضمن الطرق الأخرى لتصنيع الكفير : (١) معاملة حرارية متعددة المراحل للبن (أى التسخين إلى ٨٧°م والتبريد إلى ٧٧°م ، والتسخين مرة أخرى إلى ٨٧°م والتبريد إلى ٧٧°م والحجز لمدة ٣٠ دقيقة) ، حيث يساعد ذلك على تحسين الصفات الريولوجية للكفير ويقلل من انفصال الشرش syneresis ، (٢) تخمير اللبن عند ٢٥°م ، يحسن من لزوجة وطعم الكفير ، (٣) إضافة كازينات الصوديوم إلى اللبن لإنتاج كفير غذائى dietetic kefir يطلق عليه osoby, (٤) معاملة اللبن لدرجات حرارة فائقة الارتفاع UHT ، وتستخدم هذه المعاملة بنجاح فى صناعة الكفير الذى يشبه فى صفاته الناتج المصنع من لبن مبستر بطريقة HTST.

تمكن مجموعة باحثين فى كندا من الوصول إلى بادئ لإنتاج الكفير ، وطريقة بديلة للصناعة تتكون من خلط اليوجهورت ولبن الأسيدوفلس ولبن خض متخمر بنسبة ٣٠ : ٣٠ : ٤٠ على الترتيب ، على أن يعقب ذلك تخمير ثانوى بالخمائر secondary yeast fermentation بعد التعبئة فى زجاجات.

ثم دراسة محتوى الكفير من معقد فيتامين B (Vitamin B-complex) باستخدام ١٠ عينات مختلفة من حبوب الكفير وألبان ثديات مختلفة (بقرى ، ماعز ، غنم ، فرس) . بادئ الكفير قد يكّون أو يستخدم بعض الفيتامينات أثناء النمو ، ويتأثر ذلك بواسطة مصدر حبوب الكفير ونوع اللبن المستخدم ، ويمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فيما يلى : (١) يزيد تركيز الثيامين thiamin بحوالى ٢٤ % فقط فى كفير لبن الغنم ، (٢) يزيد حامض الفوليك folic acid

بحوالى ٢٢ ، ٧١ ,٤٤ % فى كفير لبن البقر ، الغنم والماعز على الـــترتيب و (٣) يزيد المحتوى pyrodoxine بحوالى ٨٩ ، ٢٠ ,٤٠ % فى لبن الغنـــم ، المـــاعز والفرس ، على الترتيب .



شكل (٣-٣) : تحضير بادئات الكفير

٤-٢-٢- كوميس Koumiss (Kumys or Coomys)

يصنع الكوميس أساساً من لبن الفرس mares' milk ، حيث يحتوى هـذا اللبن على حوالى ٩٠ % رطوبة ، ٢,١ % بروتين (منها ١,٢ % كازين و٠,٩% بروتينات شرش) ، ٦,٤ % لاكتوز ، ١,٨ % دهن و٠,٣ % رمـاد . اشـتق الأسم من قبيلة Kumanes أو Kumyks التى تستوطن سهول وسط آسـيا . فى بعض الأحيان يستخدم لبن الحمار ass's milk أو لبن الإبـل camel's milk فى إنتاج الكوميس . الناتج المخضر من لبن الفرس يكون سائلاً (مشروب beverage) نظراً لأن اللبن لا يتجبن ، ويكون رمادى اللون milky gray ، خفيف ، فـوار ، وله مذاق حامضى وكحولى حاد sharp alcohol and acidic taste ، نواتـج التخمر الرئيسية عبارة عن ٠,٧ – ١,٨ % حامض لاكتيـك ، ٠,٦ – ٢,٥ % إيثانول و ٠,٥-٠,٩ % CO_2 .

أ- الطرق التقليدية

يحضر الكوميس أساساً من لبن فرس غير مسخن الذى يترك ليتخمـر فى جلد حصان مدخن smoked horses hide يطلق عليـه tursuks أو burduks . يعبأ لبن الفرس عقب الحلب فى عبوات تقلـب بأجـهزة خاصـة ، وإذا لقـح بالكوميس ، فإن الناتج يكون صالحاً للأستهلاك فى خلال ٣-٨ ساعات . عنـد استهلاك الكوميس ، يملأ tursuk بلبن الفـرس لأسـتمرار عمليـة التخمـر . الميكروبات غير معّرفة بدقة ، ولكن تتكون أساساً من بكتريا حامض اللاكتيـك العصوية المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic lactobacilli ، *Lb.delbrueckii* ، *Lb.acidophilus*, ssp. *bulgaricus* ،خمائر مخمرة للاكتوز lactose-fermenting yeasts (*Saccharoyces lactis* ، *Torula koumiss*)وخميرة غير مخمرة للاكتـوز non-lactose-fermenting yeast (*Saccharomyces cartilaginosus*) وخمـيرة غـير مخمـرة للكربوهيدريـت non-carbohydrate-fermenting yeast (*Mycoderma* spp.) . بالرغم من وجـود Lactococci فى كوميـس منغوليـاً Mongolian Koumiss ، فإن وجود هذه البكتريا فى دول أخرى قد لا تكـون مرغوبة نظراً لأن الإنتاج السريع لحامض اللاكتيك يثبط نمو الخمائر .

لحفظ بادئ الكوميس فى المناطق الريفية فى سهول آسيا ومنغوليا ، تخزن tursuks فى مكان بارد من الموسم السابق محتوى على كوميس لبن ماعز . عند بداية موسم الحلب التالى للفرس ، تملأ tursks تدريجياً بلبن الفرس ، وفى خلال ٥ أيام يسترجع البادئ نشاطه . يستخدم كوميس مرتفع الجودة فيما بعد كبادئ.

ب- الطرق التجارية

الطريقة التقليدية لإنتاج الكوميس من الصعب أن تكون تحت السيطرة ، وقد ظهرت طريقة (شكل ٣-٤) حيث يتم تحضير البادئ وصناعة المنتج فى نفس الوقت . معدل التلقيح يكون حوالى ٣٠ % ، الذى يكون أعلى معدل تلقيح فى إنتاج أى لبن متخمر أو جبن .

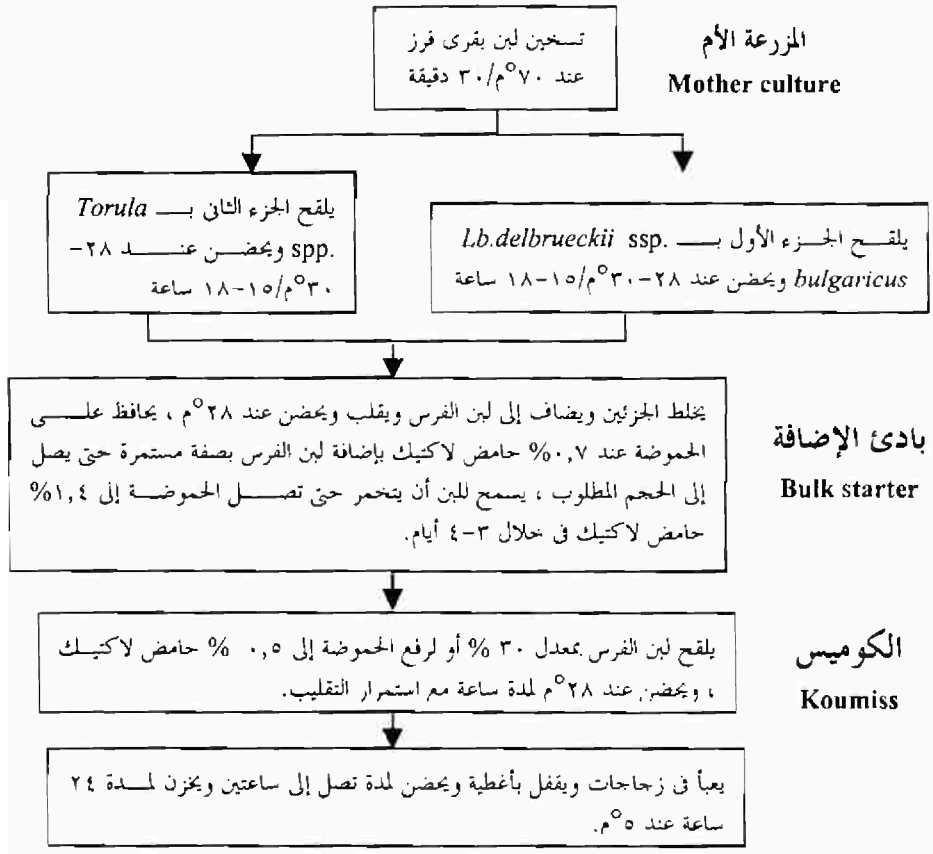
المعاملة الحرارية للبن الفرس ليست ضرورية (اختيارية) ، والتأثير المرغوب لدنترة بروتين الشرش denaturation على تكوين الجل فى الألبان المتخمرة غير مطلوب حيث أن الكوميس سائل . فى دراسة حديثة عن حساسية بروتين لبن الفرس للحرارة ، وجد أن α-La و β-Lg أقل حساسية للحرارة وذلك بالمقارنة بهذه البروتينات فى اللبن البقري . هذه البروتينات (بروتينات الشرش فى لبن الفرس) لا يحدث لها دنترة أو إذابة بدرجة كبيرة عند درجات حرارة أقل من ١٠٠°م . لذلك ، فإن المعاملة الحرارية للبن الفرس فى إنتاج الكوميس تجرى بهدف المحافظة على سلامة الصحة العامة public health safety وإعداد بيئة نمو مناسبة للبادئ دون أى منافسة من الميكروبات غير المرغوبة .

تقسم الكوميس إلى ٣ أقسام طبقاً لدرجة التخمر على النحو التالى :

الطعم		الحموضة (%)	الكحول (%)
معتدل	Mild	٠,٦-٠,٨	٠,٧-١,٠
متوسط	Moderate	٠,٨-١,٠	١,١-١,٨
قوى	Strong	١,٠-١,٢	١,٨-٢,٥

قد يحتوى الكوميس العادى على أعداد خلايا حية ٤,٩٧ × ١٠^{٧} cfu/مل من البكتريا ، ١,٤٣ × ١٠^{٧} cfu/مل من الخمائر.

التطورات فى بادئ الكوميس يتضمن : (١) استخدام *Lc.lactis* ssp. *lactis*، *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*، *Sacc.lactis* ، *A.aceti* (٠,٠٢ %) لتكوين الطعم ، وفى نفس الوقت أدخلت تحسينات تكنولوجية لإطالة فترة صلاحية الناتج إلى ١٤ يوماً ، (٢) الصفات العلاجية للكوميس ضد *Mycobacterium tuberculosis* قد تحسنت باستخدام لبن بقرى وبادئ يتكون من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، *Lb.acidophilus*, *Sacc.lactis* و(٣) وجود *Lb.leichmanii* (الذى يعرف عادة بـ *Lb.delbrueckii* ssp. *lactis*) فى الكوميس قد تأكد بواسطة بعض الدراسات ولكن لم تعطى أى أهمية عند استخدامه . نتيجة لنقص لبن الفرس ، فإنه يستخدم لإنتاج الكوميس على مستوى الصناعة ، احدى الطرق التالية:



شكل (٣-٤) : مراحل إنتاج الكوميس

١- يدعم اللبن الفرز بـ ٢,٥ % سكروز ، يسخن إلى ٩٠°م لمدة ٢-٣ دقيقة ويبرد إلى حوالى ٢٨°م . يلقح بالبادئ بمعدل ١٠% ، يقلب لمدة ١٥-٢٠ دقيقة ، ويحضن عند حوالى ٢٦°م لمدة ٥-٦ساعة حتى تصل الحموضة إلى ٠,٨-٠,٩% حامض لاكتيك. تقلب الخثرة لمدة ١٠-١٥ دقيقة ، مع التهوية وتبرد ثم تقلب مرة أخرى لمدة ١٠-١٥ دقيقة بدون تهوية aeration . بعد حوالى ٢ ساعة تنخفض درجة الحرارة إلى ١٦-١٨°م ويكون الكوميس متجانس وذات لزوجة خفيفة مع تكوين رغاوى foamy ويعبأ فى زجاجات . تحدث التسوية النهائية عند ٤°م وتتراوح الحموضة من ١,٠-١,٥ % حامض لاكتيك.

٢- يسترجع مسحوق لبن مجفف (ناتج من لبن كامل ، لبن فرز وشرش جبن) عند ٥٠°م ، يسخن إلى ٨٥-٨٧°م مع الحجز لمدة ٥-١٠ دقيقة ، يجنس عند ضغط ١٠-١٢ MPa ويبرد إلى درجة حرارة التحضين . يضاف البادئ (١٠ %) وحامض الأسكوربيك (٠,٠٢ %) إلى اللبن ، يخمر لمدة ٣-٤ ساعة مع التقليب بصفة منتظمة حتى تصل الحموضة إلى ٠,٨ % حامض لاكتيك. تبرد الخثرة إلى ١٧°م ، وتقلب بصفة منتظمة لمدة ١-٢ ساعة ، تعبأ فى زجاجات وتغطى بأغطية من رقائق الأمونيوم وأخيراً تسوى عند ٦-٨°م. يتم إنتاج كوميس ذات طعم معتدل ، متوسط أو قوى طبقاً للحموضة(١,٠-١,٣ % حامض لاكتيك) وإيثانول (٠,٦-١,٦%).

٣- يخلط ٥ أجزاء من اللبن البقرى مع ٨ أجزاء من شرش منفحة معامل بالترشيح الفائق UF (UF rennet whey) ، أى تركيز البروتين إلى الضعف ، لإنتاج لبن مماثل للبن الفرس فى التركيب (١,٥ % دهن ، ٢,٠ % بروتين ، ٥,٠ % لاكتوز و٠,٧ % رماد) . يحلل اللبن بواسطة β-D-galactosidase ، يسخن إلى ٩٥°م لمدة ١٥ دقيقة ، يبرد ، يلقح ببادئ خليط وتخمر على مرحلتين (إنتاج حامض لاكتيك لمدة ١٥ ساعة يعقبه تخمر كحولى عند ١٥°م لمدة حوالى ٢٠ ساعة) . يسوى الناتج عند ١٠°م لمدة ٤٠ ساعة ويخزن بعد ذلك عند درجة أقل من ٥°م . يكون الناتج معتدلاً عند مقارنته بالكوميس المنغولى ، وعند رفع غطاء الزجاجة ،

فإن ضغط CO_2 يسبب رغاوى زائدة . يعرف الناتج التقليدى فى منغوليا بـ Airage الذى يحتوى على ٢,٥-٣,٠ جم كحول/١٠٠جم ويقدر استهلاك الفرد بحوالى ٥ كجم /السنة .

٤- عندما يخلط اللبن البقرى بنسبة ١ : ١ مع شرش منقى clarified ويحلى بـ٢,٥ % سكروز ، فإن التركيب الكيماوى للمخلوط (أى ١,٨ % بروتين ، ١,٧ % دهن ، ٧,٠ % سكر) يشبه تركيب لبن الفرس . يسخن اللبن المعدل إلى ٨٠°م لمدة ٢٠ دقيقة ، يبرد إلى ٢٨°م ويلقح ببادئ (٥-١٠ %) يتكون من *Lc.lactis* ssp. *lactis* ، *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، *Kluyveromyces lactis* أو *Kluyveromyces fragilis*. يقلب المخلوط بشدة لمدة ١٠ دقائق ، يحضن لمدة ١٢-١٥ ساعة عند ٢٦°م حتى تصل الحموضة إلى ١,٠ % حامض لاكتيك ، يمرر خلال المجنس بدون ضغط ويعبأ فى أوعية زجاجية . يسوى الكومبس عند ٢٠-٢٥°م لمدة ٢ ساعة ويخزن عند ٤°م .

٤-٢-٣- لبن الأسيدوفلس المحتوى على خمائر Acidophilus yeast milk

يعرف القليل عن علوم وتكنولوجيا هذا المشروب من اللبن المتخمر الذى ينتج فقط فى الاتحاد السوفيتى USSR سابقاً ، حيث يسخن اللبن الكامل أو اللبن الفرز إلى ٩٠-٩٥°م لمدة ١٠-١٥ دقيقة ، يبرد إلى ٣٥°م ويلقح بـ٣-٥ % بادئ خليط (*Lb.acidophilus & Sacc.lactis*) . يعبأ اللبن فى زجاجات ، وتتم المرحلة الأولى من التخمر عند ٣٥°م حتى تصل الحموضة إلى ٠,٨% حامض لاكتيك ، ثم يعقب ذلك المرحلة الثانية من التخمر عند ١٠-١٧°م لمدة ٦-١٢ ساعة . كما هو متوقع ، فإن *Lb.acidophilus* ينتج الحامض بينما تنتج الخمائر الأيثانول و CO_2 . يخزن الناتج النهائى عند درجة حرارة أقل من ٨°م حتى الاستهلاك . يمكن إنتاج هذا النوع من اللبن المتخمر على نطاق واسع فى خزانات تخمر كبيرة ، لكن قد ينخفض محتوى CO_2 نتيجة استخدام المضخات pumping قبل التعبئة . يتميز الناتج باللزوجة ومذاق حامضى خفيف إلى حاد مع مذاق خمائرى yeasty .

نشأ هذا الناتج لمعالجة بعض الأمراض المعوية حيث أن سلالة *Lactobacillus* تتميز بنشاط قوى مضاد للميكروبات غير المرغوبة فى الأمعاء . كما أن *Sacc.lactis* تتميز بنشاط مضاد لميكروب *Myc.tuberculosis* . يحتوى الناتج عمر ٣ أيام على أقصى نشاط مضاد للميكروبات.

وقد تمكن بعض الباحثين من إنتاج هذا اللبن الذى يحتوى على أعداد حية مرتفعة من *Lb.acidophilus* (٦,٢ – ٩,٨ × ١٠^٨ cfu/مل) فى وجود خمائر مخمرة للاكتوز *Candida pseudotropicalis* أو *Sacc.fragilis* . يسخن اللبن إلى ٩٠°م لمدة ٢٠ دقيقة ، يتم التجبن فى مدة أقل من ٢٠ ساعة عند ٣٣ أو ٣٧°م . يدعم اللبن بـ ١,٥ % لبن فرز مجفف ، ٠,٥ % آجار لتحسين الخثرة . إضافة الآجار تمنع تفتت الخثرة نتيجة إنتاج CO_2 .

تعبئة هذا اللبن المتخمر فى عبوات كرتون بلاستيكية محكمة القفل قد يسبب مشكلة حيث يرفض المستهلك العبوات المنتفخة نتيجة للضغط المتولد من تكوين CO_2 داخل العبوة ، وحديثاً يستخدم فى سويسرا أغشية منفذة تسمح بهروب CO_2 وبذلك يمكن التغلب على مشكلة إنتفاخ العبوات.

٤-٢-٤-الأسيدوفلين Acidophiline or acidophilin

يشبه الأسيدوفلين لبن الأسيدوفلس المحتوى على خمائر acidophilus-yeast milk ، لكن يحتوى البادئ على *Lb.acidophilus* ، *Lc.lactis* ssp. *lactis* وخميرة الكفير kefir yeast أو بادئ كفير . يصنع هذا المشروب اللبنى milk beverage من لبن كامل أو لبن فرز مع تحليته. يستخدم الأسيدوفلين فى علاج التهابات الأمعاء والقولون ، الدوسنتاريا وغيرها من الأمراض المعوية . وفى دراسة لصفات الأسيدوفلين باستخدام سلالات من *Lb.acidophilus* R,I, Ch-2 & H بالاشتراك مع *Lc.lactis* ssp. *lactis* C-10 وحبوب الكفير ، وجد أن : (١) سلالة *Lactobacillus* H مع بادئات أخرى تعطى حموضة جيدة مرغوبة ونشاط مضاد للبكتريا ضد *M.flavus* ، *E.coli* ، *Staph.aureus, B.subtilus* ، (٢) تدعيم اللبن بـ SMP ، سكروز و/أو قشدة تحسن من الصفات الحسية.

٤-٣-الألبان المتخمرة باستخدام بكتريا حامض اللاكتيك والفطريات

تلوث الألبان المتخمرة بالفطريات عموماً غير مرغوب ، لكن فى فنلندا Finland يضاف فطر *G.candidum* مع البادئ لتخمر منتج لبن معين ، يطلق عليه فيلى Viili، يؤدى وجود الفطر إلى نموه على سطح خثرة اللبن تماماً ليعطى صفة فريدة عند مقارنته بانواع أخرى من الألبان المتخمرة .

٤-٣-١- فيلى Viili

لبن متخمر فنلندى يشبه الألبان المتخمرة الأسكندنافيه ، ولكن عندما يدعم البادئ بالفطر فإن الناتج يتميز بمذاق ، نكهة ومظهر مختلف . الأنواع المختلفة من Viili :

(١) منخفض الدهن low-fat (حوالى ٢,٥% دهن) ويعرف بـ Kevytviili .

(٢) كامل الدسم whole fat (٣,٩ % دهن) ويعرف بـ Viili .

(٣) قشدة فيلى cream Viili تحتوى على ١٢ % دهن .

عادة يكون الناتج طبيعياً natural ، لكن فى بداية الثمانينات تم طرح منتجات محلاه ومطعمة بالفاكهة تحت أسم Marjaviili فى الأسواق .

يسخن اللبن المعدل standardized milk إلى ٨٣°م لمدة ٢٠-٢٥ دقيقة بدون تجنيس ، يبرد إلى ٢٠°م ويلقح بـ٣-٤ % بادئ يتكون من *Lc.lactis* ssp. *lactis* ، *Lc.lactis* ssp. *cremoris* ، *Lc.lactis* biovar *diacetylactis* ، *Leuc.mesenteroides* ssp. *cremoris* وفطر *G.candidum* ، ثم يعبأ فى عبوات التجزئة retail cups ، يحضن عند ١٨-٢٠°م لمدة حوالى ٢٤ ساعة حتى تصل الحموضة إلى ٠,٩ % حامض لاكتيك وأخيراً يبرد . أثناء فترة التحضين ، يصعد الدهن على السطح حيث ينمو الفطر ليعطى مظهر قطيفى velvet-like للناتج .

يتكون Marjaviili من ٣ طبقات ، الفاكهة فى القاع ، لبن مجبن وطبقة قشدة بالإضافة إلى نمو الفطر على السطح . يتميز Viili بمذاق حامضى معتدل عطرى aromatic ، مطاطي stretchy ، ولكن يمكن تقطيعه بسهولة بواسطة ملعقة ، ويشبه الطعم طعم الأنواع الأخرى من اللبن الخض مع نكهة فطرية خفيفة

musty تعزى إلى *G.candidum* . ترجع فائدة طبقة القطيفة نتيجة نمو الفطر إلى منع نمو ميكروبات الفساد.

التركيب البنائى الدقيق للفيلى Viili الناتج باستخدام بادئ مكون للزوجة slime-forming starter ، قد أوضح أن المادة اللزجة ropy material تكون شبكة تعمل على التصاق الخلايا البكتيرية بالنسيج البروتينى . الخيوط اللزجة فى الفيلى Viili أكثر سمكاً عند مقارنتها بالتركيب البنائى لليوجهورت الناتج باستخدام مزارع مخاطية ropy من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* *Str.thermophilus*, الذى قد يعزى إلى التباين فى التركيب الكيماوى للمواد المخاطية slime . تنتج بادئ Viili مواد مخاطية من سكريات عديدة وبروتين بينما بادئ اليوجهورت ينتج مواد مخاطية من سكريات عديدة تحتوى على فوسفور phospho-polysaccharide.

٤-٤- الألبان المتخمرة المركزة

تصنع منتجات الألبان المتخمرة المركزة fermented milks concentrated أو المصفاه strained فى كثير من الدول . طريقة الصناعة فى المناطق الريفية تتضمن تصفية drained اللبن المتخمر (لبن فرز أو لبن كامل) باستخدام أكياس قماش cloth bags ، جلد حيوان animal skin أو أوعية خزفية earthen ware vessel . يطلق على الناتج المتحصل عليه لبنة Labneh أو Lebneh (فى لبنان ومعظم الدول العربية) تان Tan أو Than (فى رومانيا) ، توربا Torba أو Süzme (فى تركيا) لبن الزير (فى مصر) ، تشاكا Chakka أو شيركاند Shirkand (فى الهند) ، استراجستو Stragisto أو ساكولاس Sakoulas (فى اليونان) ، ماستو Mastou أو ماست Mast (فى العراق وإيران) ، باسا Basa ، زيم Zimme أو كيسيلا Kisela ، Mleko-slano (فى بلغاريا ويوغسلافيا) ، Greek-style (فى المملكة المتحدة) ، يامر Ymer (فى الدنمارك) وسكير Skyr (فى أيسلندا) .

يمكن تلخيص الطرق الصناعية المستخدمة حالياً فى صناعة منتجات الألبان المتخمرة المركزة على النحو التالى:

- الطرق التقليدية باستخدام أكياس قماش cloth bags .
- طرق ميكانيكية وتشمل :
  - فرازات nozzle separators.
  - الترشيح بالأغشية membrane filtration مثل الترشيح الفائق UF .
- إعادة تكوين recombination أو تركيب الناتج product formulation .

تصنع معظم منتجات الألبان المتخمرة المركزة باستخدام بادئ خليط mixed من بكتريا حامض اللاكتيك ، فى بعض الحالات تستخدم الخمائر .

٤-٤-١-اليامر Ymer

وهو عبارة عن لبن متخمر مركز دنماركي يحتوى على ٣,٥ % دهن ، ١١ % جوامد لبنية لادهنية SNF ، منها ٥-٦ % بروتين . يتكون البادئ من *Lc.lactis*. biovar *diacetylactis* و *Leuc.mesenteroides* ssp. *cremoris* . يصنع ناتج مماثل فى السويد ويطلق عليه Lactofil .

فى الطريقة التقليدية ، يتم تسخين اللبن الفرز إلى ٩٠-٩٥°م لمدة ٣٠ دقيقة ، يبرد إلى ١٩-٢٣°م ، يلقح ببادئ حرارة معتدلة mesophilic starter (مثل نوع BD من معامل هانسن Hansen فى الدنمارك) ، ويحضن لمدة ١٦-١٨ ساعة أو حتى يصل pH إلى ٤,٥ . تقطع الخثرة وتسخن بطريقة غير مباشرة فى خزان التخمير إلى حوالى ٤٥°م فى مدة تصل إلى ساعتين ، ويساعد ذلك على أنفصال الشرس syneresis ، ويتم التخلص من ٥٠ % من حجم اللبن فى صورة شرش. بعد ذلك تخلط قشدة (٣٦ % دهن) مع الناتج ، يجنس (تحت ضغط ٤,٩ - ٩,٨ MPa) عند ٣٥-٤٥°م ، يبرد جزئياً فى مبادل حرارى ويعبأ .

حالياً يستخدم فرازات (فرازات جبن الكوارج Quarg) وعملية الترشيح الفائق UF لإنتاج يامر Ymer على النطاق التجارى . فى الطريقة الأولى ، يسخن اللبن الفرز المتخمر إلى ٥٦-٦٠°م لمدة ٣ دقائق ، يبرد إلى ٣٧°م ويمرر خلال الفراز ، يخرج اليامر Ymer من خلال فتحات خاصة فى فراز الكوارج ليخلط مع القشدة ، يبرد ويعبأ.

مراحل التصنيع اليامر Ymer باستخدام الترشيح الفائق UF تكون على النحو التالى:

الطريقة الأولى : يسخن اللبن الفرز إلى ٩٢°م لمدة ١٥ ثانية ، يبرد إلى ٥٥°م ويتم ترشيحه بطريقة UF حتى يصل إلى التركيز المرغوب . يعدل تركيب المركز retentate باستخدام قشدة إلى ٣,٥ % دهن ، يجنس (عند ضغط ١٩,٦ MPa) عند ٦٥°م ، يسخن إلى ٨٥°م لمدة ٥ دقائق ، يبرد إلى ٢٠-٢٢°م ، يضاف البادئ ويحضن لمدة ٢٠ ساعة . تقلب الخثرة ، تبرد إلى ٥°م وتخزن لمدة ٢٤ ساعة ، تعبأ وتنقل إلى غرف التبريد . يرجع التركيب الهش brittle لليامر Ymer الناتج بطريقة UF إلى احتجاز الكالسيوم وظروف المعاملات.

الطريقة الثانية : يركز اللبن الفرز بطريقة UF عند ٥٠°م حتى تصل نسبة البروتين إلى ٦ % . يعدل محتوى الدهن فى مركز UF (retentate) إلى ٣,٥ % (المواصفات الدنماركية) ، ثم يجنس اللبن (عند ضغط ١٣,٧ MPa) عند ٧٤°م ، يزال الهواء de-aerate ويسخن إلى ٩٥-١٠٠°م لمدة دقيقة . يبرد اللبن المعامل إلى ٢٢°م ويلقح ببادئ حرارة معتدلة mesophilic (يتكون من سلالات منتجة للطعم والنكهة) ويحضن لمدة ٢٠-٢٢ ساعة . فى اليوم التالى تمزج الخثرة بلطف لمدة ساعة ، تجنس عند ضغط ٤,٩ MPa لتعطى تركيب ناعم ، ثم يبرد بعد ذلك إلى ١٢°م وتعبأ.

الطريقة الثالثة : يمكن استخدام الترشيح الفائق UF لليوجهورت الدافئ لصناعة اليامر ، وهى طريقة مماثلة لإنتاج اليوجهورت المركز أو اللبنة .

٤-٤-٢- سكير Skyr

وهو لبن فرز متخمر مركز يصنع فى أيسلندا ، يحتوى على ١٧,٥ % جوامد كلية TS ، ٠,٢ % دهن ، ١٢,٧ % بروتين ، ٣,٩ % لاكتوز و ٠,٨ % رماد . الناتج التقليدى الذى يستخدم فى إنتاجه طريقة أكياس قماش يحتوى على جوامد كلية (٢٠,٨%) .

تتكون الميكروفلورا فى السكير من بكتريا حامض اللاكتيك المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic LAB (*Str.thermophilus* ، *Lb.delbrueckii* ssp.

bulgaricus ، *Lb.helveticus*) وخميرة مخمرة للاكتوز lactose-fermenting yeast . تستخدم الطريقة التجارية فرازات ويمكن تلخيصها على النحو التالى : يسخن اللبن الفرز إلى ٩٠°م لمدة ٣٠ دقيقة ، يبرد إلى ٤٠°م ، يلقح ببادئ خليط وتخمر لمدة ٤-٦ ساعات حتى يصل pH إلى ٤,٧. يضاف أحياناً الكيموسين chymosin مع البادئ (حوالى ٢ نقطة/١٠ لتر) لتحسين جودة الناتج، يبرد إلى ١٨°م مع استمرار التخمير الثانوى secondary fermenattion لمدة ١٨ ساعة (pH ٤,١) ، يسخن إلى ٦٧°م لمدة ١٥ ثانية ، يبرد إلى ٣٥-٤٠°م ، يركز باستخدام فراز كوارج Quarg separator ، يبرد جزئياً إلى ١٠°م (قد يضاف قشدة أو فاكهة) ، يعبأ ويخزن . لتحسين المحصول ، يتم ترشيح راشح UF (permeate) باستخدام طريقة UF (حتى يصل تركيز الجوامد الكلية إلى ١٧,٥ %) ، يسخن إلى ٨٠°م ، يبرد إلى ٤٠°م ، يجنس ، يبرد إلى ١٠°م وأخيراً يخلط مع الناتج المركز قبل التعبئة . التركيب الكيماوى لهذا الناتج مماثل للناتج السابق ذكره ، ولكن يحتوى أيضاً على أيثانول (٠,٣ - ٠,٥ %) ، CO_2 ومكونات الطعم مثل الأسيتالدهيد وثنائى الأسيتيل . يقدر محصول Skyr المتوقع بحوالى ٢ كجم لكل ١٠ لتر من اللبن الفرز المستخدم .

جـ- تشاكا Chakka وشريكهاند Shrikhand.

Chakka لبن متخمر يصنع فى الهند نتيجة تصفية الداهى Dahi (اليوجهورت الهندى) باستخدام أكياس قماش . إذا تم تحلية الخثرة بالسكر ، فإن الناتج يعرف بالشريكهاند Shrikhand أو Shrikhand wadi . تستخدم سلالات مختلطة من بكتريا حامض اللاكتيك المحبة للحرارة المعتدلة لتخمير اللبن ، ولإنتاج الداهى Dahi يستخدم بادئ يوجهورت . ويفضل استخدام البادئ المختلط LF-40(*Lc.lactis* ssp. *lactis* ، *Lc.lactis* bivar *diacetylactis*) فى صناعة هذا الناتج بواسطة كثير من المنتجين فى الهند . يستخدم جهاز طرد مركزى بالصندوق basket centrifuge عند سرعة ٩٠٠ (g) لمدة ٩٠ دقيقة لإنتاج تشاكا Chakka . يمكن تحسين قوة حفظ شريكهاند بالمعاملة الحرارية عند حوالى ٧٠°م بعد التخمر حيث تستمر صلاحية المنتج حتى ١٥ يوماً من التخزين عند ٣٥-٣٧°م أو أكثر من ٧٠ يوماً عند ٨-١٠°م.

٤-٤-٤- اللبنة (اليوجهورت المركز) Labneh

يختلف التركيب الكيماوى لليوجهورت المركز strained yohurt طبقا لدولة المنشأ أو المواصفات القانونية القائمة ، فمثلا محتوى الجوامد الكلية والدهن يتراوح بين ٢٠-٢٨ % ، ٧-١٠ % ، على الترتيب . عادة يستخدم اللبن الكامل فى تحضير اليوجهورت ويتم التخلص من الشرش جزئيا باستخدام أكياس قماش . العوامل التى تؤثر على تصفية الشرش والمحصول : (١) تدعيم جوامد اللبن تساعد على زيادة المحصول ، (٢) تصفية اللبن المتخمر (pH حوالى ٤,٨) عند ٥°م بدلا من ٢٥°م يساهم أيضا فى ارتفاع المحصول نتيجة لاحتجاز الرطوبة بدرجة أكبر ، (٣) بادئ منتج للبوليمرات polymers ينتج يوجهورت مركز لزج، لكن يحتاج إلى وقت أطول لاستخلاص الشرش ، (٤) يحدث فقد أكبر لجوامد اللبن فى الشرش كلما زاد الضغط ، ومعدل نفاذية الشرش لا يكون ثابتا أثناء فترة التركيز ,(٥) يكون محصول يوجهورت لبن الماعز المركز أعلى عند مقارنته بمثيله الناتج من يوجهورت اللبن البقرى.

يستخدم مركز لبن UF (retentate) ، حوالى ٢٢ % جوامد كلية ، فى صناعة اليوجهورت المركز بطريقة مشابه لإنتاج اليوجهورت المتماسك القوام set-type . باستخدام هذه الطريقة ، لا يحدث تصفية للشرش بعد فترة التخمر . الترشيح الفائق UF لليوجهورت الدافئ يؤدى إلى ناتج مماثل لليوجهورت المركز التقليدى ، أو إضافة مركز بروتين الشرش إلى المركز UF (retentate) يمنع انفصال الشرش فى اليوجهورت المركز.

يستخدم عادة بادئ اليوجهورت فى إنتاج اليوجهورت المركز ، ومع ذلك فإن بكتريا حامض اللاكتيك المحبة للحرارة المعتدلة mesophilic LAB ، *Lb.acidophilus* ، *Ent.faecalis, Bifidobacterium* spp. تستخدم فى توليفات مختلفة لتخمير اللبن .

وقد وجد أن محتوى فيتامين B_{12} وحمض الفوليك folic acid فى اليوجهورت المركز يرتفع بحوالى ٢١ % ,٢٨ % ، على الترتيب ، عندما يستخدم *Propionibacterium freudnreichii* ssp. *shermanii* مع بادئ محب لدرجات

حرارة معتدلة (*Lc.lactis* ssp. *lactis* ٧٥ % ، ssp. *cremoris* ١٥ % ، *Leuc.mesenteroides* ssp. *cremoris* ١٠ %) .

يستخدم فراز الكوارج Quarg separator بنجاح على مستوى المصانع عند استخدام لبن فرز كمادة خام أساسية حيث تضاف قشدة إلى اللبن المركز قبل التعبئة . يحتوى اليوجهورت المركز النموذجى على جوامد كلية ٢٤ % ، دهن ٩,٦ % (حوالى ٤٠ % دهن فىالمادة الجافة) . يحتوى الشرش على ٦,١ % جوامد كلية ، التى تتكون أساسا من اللاكتوز والأملاح المعدنية ، وحوالى ٠,٥ % دهن . تصل سعة هذه الفرازات إلى ٦,٥ طن/ساعة ، طبقا لتركيب اللبن المستخدم وحموضة اللبن المتخمر قبل التركيز.

يستخدم الترشيح الفائق UF فى صناعة اليوجهورت المركز strained yoghurt حيث يتم معاملة اليوجهورت الدافئ بعد التخمير بطريقة UF . دراسة تأثير درجات حرارة المعاملات على جودة يوجهورت UF المركز قد أوصت بأن يتم الترشيح الفائق UF عند ٤٠-٥٠°م . الترشيح الفائق UF عند درجات حرارة أعلى يؤدى إلى انخفاض إعداد بكتريا اليوجهورت بحوالى دورتين لوغاريتمين . ومع ذلك ، فإن الصلابة والتركيب الدقيق لليوجهورت المركز بطريقة UF يتأثر بظروف التصنيع ، التصنيع عند ٥٠°م أو أعلى ، يجعل الناتج أكثر صلابة نتيجة لتكوين سلسلة جزيئات أكثر تعقيداً مقارنة بالتجمعات البسيطة لجزيئات البروتين . تركيب يوجهورت الماعز والغنم المركز متشابهان ، وأقل تجانساً عن مثيله الناتج من اللبن البقرى.

الترشيح الفائق UF لليوجهورت الدافئ عند درجات حرارة أعلى من ٤٥°م يزيد من معدل تلف أغشية UF الذى يقلل من معدل التدفق flux وقد يؤثر على ظروف التصنيع فى حالة التصنيع على نطاق واسع large-scale حيث تحتاج المعدات إلى غسيل متكرر بدرجة أكبر .

قد يصنع اليوجهورت المركز من منتجات ألبان معاد تركيبها . تتضمن الطريقة استرجاع الألبان المجففة (لبن كامل ، فرز ، مرتفع البروتين و/أو الكازينات) فى الماء ، وخلطها مع دهن لبن لا مائي AMF ، مثبتات stablizers، وملح (اختيارى) . يتم التعامل مع اللبن بطريقة مماثلة للطريقة المتبعة فى إنتاج

اليوجهورت المتماسك القوام set أو السائل stirred. فى النوع الآخير (السائل) ، بعد مرحلة التخمير ، يبرد الناتج جزئياً إلى ٢٠°م ، يعبأ ويبرد نهائياً إلى ٥°م فى غرف التبريد.

جبن اليوجهورت (٣٠-٣٥ % جوامد كلية) من المنتجات قريبة الشبه ، حيث تشكل الخثرة فى صورة كور balls وتعلق فى زيت نباتى . تسخين الناتج إلى ٦٥°م يساعد على تخفيض الأعداد الكلية للبكتريا الحية total viable counts بدرجة كبيرة بعد سنة من التخزين عند ٢٠°م ، وقد وجد أن الانخفاض يكون ٢-٤ دورة لوغاريتيمة وذلك للعدد الكلى ، بكتريا حامض اللاكتيك والخمائر والفطريات بعد التخزين لمدة ٦ شهور . وقد وجد أن تخزين جبن يوجهورت الماعز قد تحسن فى الجودة الحسية بدرجة كبيرة.

لبن الزير من الألبان المتخمرة المركزة التى تصنع فى صعيد مصر من اللبن الخض المتخمر ، حيث يوضع فى وعاء من الخزف المسامى (الزير) . يحدث تركيز اللبن الخض المتخمر عن طريق فقد الماء من خلال مسام الزير . يحتوى لبن الزير على ٢١-٢٣ % جوامد كلية ، ٢,٦-٤,٠ % دهن ، ١١,٤٨-١٢,١٣ % بروتين ، ٣,٣-٤,٥٣ % رماد و ٢,٨١-٣,٠ % كلوريد صوديوم . يضاف عادة ملح الطعام كمادة حافظة ولتحسين الطعم أيضاً . متوسط العدد الكلى للبكتريا فى لبن الزير ٢,٣٥ × ١٠^{٨} cfu/مل وعدد الفطريات والخمائر ٣,٧٥ × ١٠^{٧} /مل. تسود بكتريا جنس *Bacillus* حيث تمثل ٤٠ % من العدد الكلى للبكتريا ، كما توجد أيضاً *Lactobacillus* (١٦,٧ %) *Streptococcus*, (١٣,٣ %) *Staphylococcus*, (٣,٣ %) *Pseudomonas*, (١٣,٣ %) *Actinomyces*, (١٠ %)*Saccharomyces*, . كما يحتوى لبن الزير على الأحماض الأمينية الأساسية بنسب متماثلة لقيم البروتين المرجعية والموصى بها بواسطة FAO/WHO .

٥- الفوائد الصحية للألبان المتخمرة

الأهمية التاريخية للفوائد الصحية health benefits للميكروبات المستخدمة فى صناعة الألبان المتخمرة نشأت من ملاحظات العالم الروسى

متشينكوف على طول عمر سكان ريف البلقان ونظرياته لشرح صفات الألبـــان المتخمرة التى تؤدى إلى إطالة العمر.

نصح العالم إيلى متشنكوف Eli Metchnikoff فى كتابه فى عـــام ١٩٠٨ أن الإنسان يجب أن يتناول لبن متخمر محتوى على *Lactobacillus bulgaricus*، المعروف حالياً بـــ*Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* . حيث أفـــترض أن هـــذا الميكروب يستطيع أن ينمو فى أمعاء الإنســـان ويحـــل محـــل البكتريـــا التعفنيـــة putrefactive bacteria التى تستطيع النمو فى الأمعاء وبالتالى يقلل مـــن إنتـــاج المكونات السامة التى تؤثر سلبياً على الجسم . الأبحاث التى أجريت عقب كتـــاب ميتشنكوف أوضحت أن *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* لا يستطيع البقاء أو النمو فى القناه الهضمية . ومنذ ذلك الوقت فقد تأكد أن *Lb.acidophilus* هـــو النوع من بكتريا حامض اللاكتيك العصوية *Lactobacillus* spp. الذى يســـتطيع أن يقدم تأثيرات مفيدة ، حيث أنه أحد بكتريا حـــامض اللاكتيـــك العصويـــة Lactobacilli الـــتى تســـتطيع أن تبقـــى وتنمـــو فى الأمعـــاء . بالإضافـــة إلى *Lb.acidophilus* فأنه توجد بكتريا أخرى تكون قادرة على إنتاج فوائد صحيـــة أو تغذوية للمستهلك ، مثـــل *Lb.casei* ، *Bifidobacterium* spp. وبادئـــات اليوجهورت التقليدية (*Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus, Str.thermophilus*). تعتمد بعض هذه الفوائد على بقاء ونمو البكتريا فى الأمعاء ، بينما بكتريا أخرى لا تستطيع ذلك.

بالرغم من عدم التسليم بأن اللبن المتخمر يطيل العمر ، فإن جدل واســـع قد قام بين العلماء حول نظرية ميتشنكوف ، ومنهم من تبنى أن الغـــذاء الســـليم المتوازن قد يحقق الصحة للإنسان إلا أنـــهم جميعاً أتفقوا على أن الجسم تضعـــف مقاومته بتقدم العمر ، وأن الصحة تكون جيدة طالما كانت فلورا الأمعاء تحتـــوى على بكتريا من *Lactobacillus* spp. أو غيرها من البكتريا المفيدة الأخرى .

وقد أشار الكثيرون إلى القيمة العلاجية والدوائية للألبان المتخمرة ، فقـــد وصفها الأطباء القدماء لعلاج الدوسنتاريا والسل وأمراض الكبد والاضطرابـــات المعوية وغيرها ، واستخدامتها السيدات الفارسيات عوضاً عـــن مســـتحضرات التجميل الحديثة ، وفى روسيا يتم تقديم الكفير والكوميس ضمن غذاء أصحـــاب

الأمراض المزمنة ، لكن الاختلافات الميكروبية لهذه الألبان من الصعب تحديد دور هذه الميكروبات فى هذه الخواص العلاجية. فى أمريكا ، ما زال الأطباء يصفون لبن الأسيدوفلس لعلاج حالات الأمساك أو الاسهال أو الاضطرابات المعوية الأخرى .

فى السنوات الأخيرة ومع تزايد المعرفة بأهمية الميكروبات المعوية المختارة ، تم تطوير وإنتاج ألبان متخمرة جديدة تحتوى *Lb.acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. منفردة أو مختلطة مع بكتريا بادئات أخرى . وقد ساهمت هذه الألبان المتخمرة الجديدة فى انتعاش صناعة الألبان المتخمرة فى السنوات الأخيرة فى اليابان وبعض الدول الأوروبية ، حيث طرحت فى الأسواق عدد كبير من المنتجات اللبنية المتخمرة المزعم أحتوائها على صفات مفيدة أو دوائية (أقراص مجففة تحتوى على هذه الميكروبات) كما سبق الإشارة إلى ذلك . وقد أشارت معظم الدراسات العلمية فى هذا المجال إلى الفوائد التى تعقب تناول منتجات الألبان المتخمرة ، التى تتضمن فوائد صحية (وقائية prophylactic وعلاجية therapeutic) وتغذوية nutritional . الجدول (٣-١١) يوضح الدور الوقائى والعلاجى والتغذوى المحتمل لميكروبات الألبان المتخمرة . تتضمن الفوائد الصحية والتغذوية التى قد تنشأ من تناول منتجات الألبان المتخمرة fermented milk products أو منتجات محتوية على مزارع حية culture-containing products ، بصورة مستمرة ، مايلى :

١- تحسين القيمة الغذائية للبن .

٢- مقاومة العدوى المعوية .

٣- تحسين الاستفادة من اللاكتوز عند الأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز .

٤- السيطرة على مستويات كوليسترول سيرم الدم .

٥- نشاط مضاد للمواد المسرطنة.

٦- تنشيط الجهاز المناعى.

جدول (٣-١١) : الصفات الصحية والتغذوية المرتبطة بميكروبات الألبـــان المتخمرة.

الصفة	الميكروبات	الميكانيكية المقترحة
• المحافظـة علـى التـوازن الميكروبى فى الأمعاء	*Bifidobacterium* spp.	أ. إنتاج مواد مثبطة
	Lb.acidophilus	ب. تنشيط الجهاز المناعى فى العائل
• معالجة سوء هضم اللاكتوز	صفة عامة فى الألبان المتخمرة	أ. انخفاض محتوى اللاكتوز فى الناتج
		ب. الهضم الذاتى للاكتوز بواسطة إنزيم β-galactosidase الناتج من ميكروبات البادئ
• نشـاط مضـاد للمـواد المسرطنة	*Bifidobacterium* spp.	أ. التخلص مـن المـواد المشـجعة للسرطان .
	أنواع مختلفة من بكتريا حامض اللاكتيك LAB	ب. تنشيط النظام المناعى فى العائل
• انخفـاض مسـتوى الكوليسترول	*Bif.bifidum*	أ. امتصـاص الميكروبـات للكوليسترول .
	Lb.acidophilus	ب.ترسيب الكوليسترول مع أحماض الصفراء غير المرتبطة وأفرازه مـع البراز خارج الجسم
• تحسين القيمة الغذائية	*Bif.bifidum*	أ. تخليق فيتامينات مجموعـة B (*Bif.bifidum* فقط)
	Lb.acidophilus	ب. زيادة امتصاص الكالسيوم
• التخفيف من تأثيرات سـوء وظيفة الكلى	*Bifidobacterium* spp.	أ. خفض مستوى الأمنيات السامة (*Bif.bifidum* فقط)
	Lb.acidophilus	
• تحسين الاستجابة المناعيـة فى العائل	أنواع مختلفة من بكتريا حامض اللاكتيك LAB	أ. زيادة مستويات الأجسام المضادة
		ب. زيـادة نشـاط البلعمـات macrophages.

بالرغم من أن البعض قد أشار إلى أن منتجات الألبان المتخمـرة تتميز بصفات وقائية probiotic وعلاجية therapeutic ، إلاأنه يجب التمييز بين هاتين الصفتين . تعنى الصفات الوقائية الوقاية مـن الأمـراض protection against

diseases ، بينما تعنى الصفات العلاجية الشفاء من الأمراض curing following illness . ويعتقد الكثيرون أن منتجات الألبان المتخمرة أو المنتجات المحتوية على مزارع حية (غير متخمرة) تتميز بصفات وقائية أكثر منها علاجية ، حيث تزيد هذه المنتجات من المناعة وتقوى الجهاز الهضمى والدورة الدموية وتعمل على الإقلال من سرعة ظهور الشيخوخة ومقاومة الاضطرابات المعوية حيث تبيد الميكروبات الضارة (التعفنية) وتحافظ على التوازن الميكروبى فى الأمعاء ، كما تؤدى إلى خفض الكوليسترول فى سيرم الدم وبالتالى تقلل من الإصابة بأمراض تصلب الشرايين والأزمات القلبية ، ويؤخر أيضا من ظهو النموات السرطانية داخل الجهاز الهضمى . ومن المناسب حاليا التركيز على أن هذه الفوائد الصحية هى فوائد كامنة ، حيث لم يتم أجراء اختبارات أكلينيكية مناسبة للحصول على نتائج علمية محددة ضرورية لتأكيد هذه الفوائد الصحية.

٥-١- تحسين القيمة الغذائية للبن

تشير نتائج الدراسات التى أجريت على الفئران أن القيمة الغذائية لليوجهورت كانت أفضل من القيمة الغذائية للبن الذى استخدم فى إنتاج اليوجهورت . يرتبط تحسين القيمة الغذائية بالبروتين مما يعتقد أن بكتريا البادئ تفرز بعض التأثيرات المفيدة على البروتين أثناء صناعة اليوجهورت . بعض مزارع بادئات اليوجهورت تزيد من تركيزات بعض فيتامنيات B فى اللبن ، مثل الثيامين thiamine ، ريبوفلافين riboflavin ، بيرودوكسين pyridoxine ، حامض النيكوتنيك nicotinic acide ، حامض الفوليك folic acid و حامض البنتوثينك pantothenic acid و البيوتين biotin. ومع ذلك فإن هذه الزيادة قد لاتزيد بدرجة كبيرة من القيمة الغذائية للمنتجات المتخمرة . يوجد أيضا اختلافات كثيرة بين مزارع اليوجهورت فى قدرتها على إنتاج فيتامنيات خلال صناعة اليوجهورت. كما أنه من المحتمل أن بعض الفوائد قد تنتج من الإنزيمات الخلوية لبكتريا البادئ المستخدم فى صناعة منتجات الألبان المتخمرة.

٥-٢- مقاومة العدوى المعوية

بالرغم من أن نظرية ميتشنكوف الأصلية تعاملت مع استخدام Lactobacilli للسيطرة على ميكروبات الأمعاء غير المرغوبة ، فإن دراسات قليلة أجريت فى هذا المجال. معظم الدراسات المسجلة التى أجريت استخدمت Lactobacilli أو Bifidobacteria لمقاومة العدوى المعوية intestinal infections فى حيوانات التجارب .

معظم بكتريا البادئات تثبط نمو الميكروبات المرضية عن طريق الغذاء food borne pathogens معمليا *in vitro* . ومع ذلك ، فإن هذا النشاط المثبط غير متوقع حدوثه فى الجسم الحى (*in vivo*) من جميع بكتريا البادئات . وقد ركزت الدراسات على قدرة *Lb.acidophilus* , *Lb.casei* ، *Bifidobacterium* spp. على تثبيط الميكروبات غير المرغوبة فى القناة الهضمية . تناول Lactobacilli أو Bifidobacteria فى منتجات الألبان يكون لها تأثير وقائى preventative وعلاجى therapeutic فى السيطرة على الاضطرابات المعوية.

من المعروف أن LAB تتميز بنشاط مضاد للبكتريا المنقولة عن طريق الغذاء معمليا *in vitro* . تنتج الميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء foodborne pathogens سموم toxins فى الغذاء مما يسبب تسمما غذائيا food intoxication، أو قد تتكاثر فى الغذاء مسببة عدوى infection . تؤخرLAB تكاثر الميكروبات المرضية التى تنتقل عن طريق الغذاء فى النظام الغذائى food system . لذلك فإن استقرار LAB فى القناة الهضمية قد ينشأ عنه فوائد وقائية prophylactic وعلاجية therapeutic ضد العدوى المعوية intestinal infections . قد يكون الدور الوقائى مفيدا فى معالجة إسهال المسافرين traveller,s diarrhoea ، حيث يصاب المسافرين إلى دول نامية عالية التلوث باضطرابات معوية تتحول إلى عدوى حادة تسبب حالة غير مستقرة للمسافرين . وقد وجد أن بعض سلالات من بكتريا حامض اللاكتيك (مثل *Lb.acidophilus* ، *Bif.bifidum, Lactobacillus* GG فى صورة مجففة) تعطى وقاية ضد اسهال المسافرين.

أحد أسباب الاضطرابات المعوية هو تغيير فى الفلورا المعوية عقب غزو أو عدوى بالميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء . انخفاض اعداد بكتريا

القولون coliform count قد يعزى إلى انخفاض pH الناتج بواسطة حامض اللاكتيك الموجود فى اليوجهورت واللبن الحامضى . بعض الميكروبات المرضية يجب أن تستقر و/أو تتوطن فى القناة الهضمية قبل ظهور أعراض المرض . قد تؤخر LAB التوطن colonization والتكاثر بعد ذلك للميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء ، وبالتالى تمنع الحالة المرضية . فى ضوء ذلك فإن هذا المنطق يستخدم فى علاج الأمراض بمنتجات الألبان المتخمرة . بالإضافة إلى ذلك، فإن الألبان المتخمرة تقلل من أعداد أو تقضى على الميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء التى تكون قادرة على إنتاج السموم فى الغذاء والقناة الهضمية وذلك بإفراز مواد مضادة للميكروبات anti-microbial substances . يتوقف إنتاج المواد المضادة للميكروبات على الجنس ، النوع ، السلالة ، بيئة التحضين وغيرها من العوامل .

Lactobacilli – ١–٢–٥

منتجات الألبان المتخمرة المحتوية على Lactobacilli حية تستخدم بواسطة الإنسان بصفة أساسية كوسيلة مساعدة وقائية وقد امتد استخدامها للعدوى المعوية intestinal infections. حوالى ٤٠–٧٠% من الأطفال المصابين بالسالمونيلا *Salmonella* ودوسنتاريا الشيجلا dysentery *Shigella* قد تم شفائهم عندما تناولوا لبن الأسيدوفلس لفترة زمنية قصيرة . تناول لبن الأسيدوفلس لفترة زمنية طويلة يؤدى إلى تمام الشفاء (شفاء جميع المرضى ، ١٠٠% شفاء) . وقد وجد أن إعطاء ياكولت Yakult (لبن متخمر يابانى Japanese FMP) إلى ٥٠٠ فرد مصابين بالدوسنتاريا أدى إلى تمام شفاؤهم ، بينما فى مجموعة المقارنة كانت نسبة الشفاء ٩ % . تستخدم أيضا Lactobacilli غذائية dietary لمعالجة إسهال الأطفال الرضع. وقد وجد أن *Lactobacillus* GG مفيدة فى علاج اسهال الأطفال الرضع ، حيث أن هذه البكتريا قادرة على المرور حية خلال القناة الهضمية وتكوين مستعمرات مما يمنع النمو الزائد للكائنات الحية الضارة بالأمعاء وخاصة بعد العلاج بالمضادات الحيوية. وقد لوحظ تناول *Lb.acidophilus* عن طريق الفم يقلل من فترة العدوى فى الأطفال والبالغين المصابين بالسالمونيلا *Salmonella* . وقد أقترح بعض الباحثين أن الألبان المتخمرة

وLactobacilli الحية قد تكون أكثر فاعلية فى معالجة الاضطرابات المعوية عن تناول المضادات الحيوية . الأمساك مشكلة عامة لكبار السن وكذلك للأفراد الذين يتناولون وجبات غير متوازنة . وقد استخدمت مستحضرات مختلفة من *Lactobacillus* والمنتجات المتخمرة بنجاح فى علاج الأمساك . منتجات الألبان مثل الجبن تؤثر على حركة الأمعاء والأمساك . كما تم علاج الأمساك بنجاح باستخدام *Lactobacillus, Lb.casei* Shirota ، *Lb.acidophilus* NFCB1748 GG وكذلك اليوجهورت المحتوى على *Lactobacillus* GG . وقد وجد أن الألبان المتخمرة المحتوية على *Lb.acidophilus, Lb.casei* ssp. *casei* تعطى مناعة وقائية protective immunity ضد العدوى بالسالمونيلا . بالإضافة إلى ذلك، فإن أمراض الاسهال قد تظهر أعراض متشابه ولكن قد يكون هناك اختلافات واضحة فى مسبباتها actiologies . بكتريا حامض اللاكتيك LAB قد تكون وقائية prophylaxis أكثر منها علاجية therapy.

Bifidobacteria -٢-٢-٥

تحمى Bifidobacteria الموجودة فى القناة الهضمية الأطفال الرضع من العدوى المعوية . وفى أحد التجارب وجد أن مجموعة أطفال رضع (١١٤ طفل) تناولوا *B.bifidum* قد أصيبوا بالعدوى بمعدل يقل ٨ أضعاف عن مجموعة المقارنة (٧٨ طفل رضيع) تناولوا لبن خض . كما أن *B.bifidum* تصحح عدم التوازن الميكروبى فى الأمعاء الغليظة عقب العلاج بالمضادات الحيوية . فى الأطفال الرضع الذين تناولوا *B.bifidum* حية وعوامل نموها كمكملات غذائية supplements ، فإن النمو الزائد لـ *Candida albicans* فى القناة الهضمية عقب العلاج بالبنسلين قد توقف . وقد وجد أن تناول *B.bifidum* عن طريق الفم مع وجبة مقارنة controlled diet قد أنتج تأثيرات علاجية فى أطفال رضع مصابين بالتهابات معوية بكتيرية bacterial enterocolitis . كما أشارت دراسة أخرى أن تناول أطفال *B.bifidum* مجففة قد ابادت سلالات enteropathogenic *Escherishia coli* فى حوالى ٦٠% من الحالات . ويبدو أن هذه التأثيرات لا تتطلب استيطان *B.bifidum* ومع ذلك ، فإن التأثير المضاد القوى

للـBifidobacteria عندما تستخدم مع lactulose (أو عامل نمو مماثل) ضد العدوى تدل على أهمية انخفاض pH فى الأمعاء الغليظة وتأثير الوجبة الغذائية.

٥-٢-٣- أسلوب التضاد

يعزى التأثير المضاد antibiosis للألبان المتخمرة إلى نواتج عملية التخمر وإنزيمات البكتريا . التضاد الذى يرجع إلى نواتج التخمر تشمل أحماض عضوية، جهد الأكسدة والأختزال (OR) ، البكتريوسينات والمواد المضادة الحيوية. التضاد الذى يعزى إلى الإنزيمات البكتيرية تشمل البكتريا التى تعمل على انفراد أحماض الصفراء deconjugations . قد يكون هناك أكثر من عامل مسئول عن التضاد.

ارتفاع الحموضة فى اللبن تعزى أساسا إلى تخمير اللاكتوز إلى أحماض عضوية (خاصة أحماض اللاكتيك والخليك)، ويكون مصحوبا بانخفاض pH اللبن من ٦,٨ إلى ٤,٦، وهذا يؤدى إلى زيادة فترة الصلاحية shelf-life وسلامة منتجات الألبان المتخمرة ضد بعض الميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء food borne pathogens (مثل *Staph. aureus*، *Bacillus cereus*، *Salmonella* ssp.، *Clostridium* spp.) بدون إضافة مواد حافظة preservatives و / أو استخدام معاملة حرارية بعد مرحلة التخمير. النشاط المثبط inhibitory activity للأحماض العضوية يتحددبواسطة ثابت التحلل dissociation constant (pKa) وتركيز الحامض عند pH معين. لذلك، فإن الحامض العضوى الذى يتميز بثابت تحلل pKa مرتفع، يحتوى على حامض فى صورة غير متحللة undissociated بدرجة أكبر، وبالتالى يكون ذات نشاط أقوى مضاد للميكروبات . فمثلا نشاط pKa بعض الأحماض العضوية على النحو التالى:

lactic (3.85)<acetic (4.73)< propionic (4.87)< benzoic (4.19).

وقد وجد أن حامض الخليك acetic acid يحتوى على ٤ أضعاف الحامض فى صورة غير متحللة عند pH ٤,٠ - ٤,٦ مقارنة بحامض اللاكتيك. بالإضافة إلى ذلك فإن الأحماض المحبة للدهن lipophilic acids تستطيع أن تنفذ إلى داخل الخلية الميكروبية، وتتحلل منتجة أيونات أيدروجين تؤثر على النشاط الأيضى فى الخلية ويسبب التأثير المثبط.

الأحماض العضوية غير المتحللة تكون ذات تأثير ضار ضد البكتريا المرضية المنقولة عن طريق الغذاء، حيث تستطيع هذه الأحماض غير المتحللة أن تنفذ إلى داخل خلايا البكتريا وتؤثر على نشاط وفسيولوجيا الخلية. وقد تم تثبيط *Salmonella enteritidis, E.coli* بواسطة حامض اللاكتيك غير المتحلل undissociated . أسيدوفلس اليوجهورت واليوجهورت التقليدى لهما تأثير قاتل bactericidal على ميكروب *Yersinia enterocolitica* ، وقد يرجع التأثير إلى حامض اللاكتيك غير المتحلل . التضاد الذى يرجع إلى الحامض غير المتحلل يكون فعال فى الألبان المتخمرة ولكن يكون ضعيفا جدا فىالقناة الهضمية ، حيث أن ارتفاع pH يعمل على تعادل الحامض وتحويله إلى صورته الملحية salt form .

نواتج التخمر المتكونة أثناء نمو LAB تخفض من جهد الأكسدة والأختزال OR (E_h) . الجهد الموجب (E_h) يناسب الميكروبات الهوائية بينما الجهد السالب (E_h) يناسب الميكروبات اللاهوائية . عموما تنتج LAB فوق أكسيد الأيدروجين (H_2O_2) بكميات قليلة . ونظرا لأن القناة الهضمية لاهوائية ، فإن من غير المؤكد إن H_2O_2 قد يخفض بدرجة كبيرة OR . ومع ذلك ، فإن H_2O_2 قد يكون فعال خلال نظام lactoperoxidase-thiocynate system . يؤكسد H_2O_2 الثيوسيانات thiocynante إلى نواتج أكسدة سامة تكون ضارة للميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء .

التضاد الذى يرجع إلى البكتريوسينات والمواد المضادة الحيوية قد تكون أكبر فى القناة الهضمية عنه فى النظام الغذائي . تنتج Lactobacilli بكتريوسينات ذات تأثير قاتل بدرجة كبيرة علىالميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء . قد يكون هناك نتائج خادعة بالنسبة للتأثير المضاد للبكتريوسينات فىالقناة الهضمية فى وجود الإنزيمات المحللة للبروتين.

قد يلاحظ التضاد فى القناة الهضمية نتيجة إنفراد أملاح الصفراء . أملاح الصفراء غير المرتبطة (الحرة) تكون لها تأثير ضار عل نمو البكتريا بدرجة أكبر عن أملاح الصفراء المرتبطة . تستطيع LAB أن تحرر املاح الصفراء فى الأمعاء وبالتالى تثبط الميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء.

وقد اشارت الدراسات التى أجريت على الدواجن أن التغذية على خلايا *Lb.acidiphilus* أوضحت قدرة Lactobacilli على السيطرة على عدوى *Salmonella* . كما أوضحت دراسة أخرى على قدرة *Lb.acidophilus* على السيطرة على نمو *Escherichia coli* فى أمعاء الدواجن . كما أوضحت دراسات سابقة على أن تناول *Lb.acidophilus* تساعد علىمقاومة وعلاج العدوى المعوية فى الإنسان .

ميكانيكية التأثير المضاد للـ Lactobacilli أو Bifidobacteria ضد البكتريا المرضية المعوية غير واضحة . كثير من الميكروبات تفرز مواد مثبطة فى التجارب المعملية *in vitro* ، ولكن لم تتأكد هذه النتائج فىالجسم الحى *in vivo* . وتشير كثير من الدلائل على أن التأثير المضاد لا يرجع فقط إلى الأحماض التى تنتجها الميكروبات أثناء نموها . تنتج *Lb.acidophilus* مواد شبيه بالمضادات الحيوية (بعضها قد يكون بكتريوسينات bacteriocins) التى تثبط البكتريا المرضية المعوية .

معظم هذه المواد من المحتمل أن تكون بكتريوسينات ، وهى عبارة عن بروتينات التى غالبا ما تكون نشطة ضد الميكروبات المرتبطة بالسلالات المنتجة (أى نفس الجنس أو جنس آخر مشابه) . لذلك ، فإن البكتريوسينات التقليدية المتكونة بواسطة Lactobacilli أوBifidobacteria من المحتمل أن لا تكون فعالة فى تثبيط نمو البكتريا المرضية المعوية السالبة لجرام . بالإضافة إلى إنتاج المواد المثبطة ، فإن الاستبعاد عن طريق التنافس قد يشارك فى السيطرة على بعض عدوى الأمعاء . فى هذه الآلية ، تشغل Bifidobacteria, Lactobacilli مواقع الارتباط على جدار الأمعاء ، وبالتالى تمنع التصاق ونمو البكتريا المرضية .

٥-٣- سوء هضم اللاكتوز

بعض الأفراد ليس لديهم القدرة على هضم اللاكتوز بكفاءة lactose maldigesters . تعبير سوء هضم اللاكتوز lactose maldigestion يستخدم لشرح هذا الخلل . قد يستخدم تعبيرات أخرى فى الماضى مثل عدم تحمل اللاكتوز lactose intolerance وسوء امتصاص اللاكتوز lactose malabsorption . تنشأ

هذه الحالة نتيجة عدم وجود مستويات كافية من إنزيم lactase (β-galactosidasc) فى الأمعاء الدقيقة لتحليل اللاكتوز المتناول . تشمل أعراض سوء هضم اللاكتوز مغص ، انتفاخ وإسهال عقب تناول اللبن .

تحتوى بكتريا بادئ اليوجهورت على β-gal (β-galactosidase)، الذى يكون ضروريا لنمو هذه البكتريا فى اللبن . وجود بكتريا البادئ حية فى اليوجهورت يفيد الأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز . يستفاد من اللاكتوز الموجود فى اليوجهورت المحتوى على بكتريا البادئ حية بطريقة أفضل بواسطة الأفراد الذين يعانون سوء هضم اللاكتوز ، عن اللاكتوز من نفس اليوجهورت عقب القضاء على بكتريا البادئ بالحرارة (البسترة) . ترجع هذه الفائدة أساسا إلى ما يحدث فى القناة الهضمية عقب تناول اليوجهورت، *Str.thermophilus, Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* تكون غير قادرة على مقاومة الصفراء bile ، لذلك لا تستطيع تبقى أو تنمو فى الأمعاء . إنزيم β-gal لهذه البكتريا يكون خلويا (أى داخل الخلايا intracellular) وبالتالى يتم حمايته أثناء مرور الميكروب خلال المعدة . فى الأمعاء الدقيقة ، تزيد الصفراء من نفاذية خلايا الميكروب ، مما يسهل انتقال مواد التفاعل substrates مثل اللاكتوز إلى داخل الخلايا وتحليله . فى وجود الصفراء bile ، يبقى إنزيم β-gal داخل الخلايا، مفضلاً ذلك عن إفرازه إلى الوسط المحيط . وعلى الرغم من ذلك فإن بكتريا بادئ اليوجهورت لا يستطيع البقاء والنمو فى الأمعاء ، فإنها تعمل على تسهيل انتقال β-gal إلى الأمعاء الدقيقة ، حيث يحسن من الاستفادة من اللاكتوز فى الأفراد الذين يعانون من ضعف نشاط إنزيمات β-gal الداخلية.

يمكن للأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز أن يحصلوا على هذه الفوائد من تناول لبن يحتوى على *Lb.acidophilus* ، هذا الميكروب يستطيع أن يبقى وينمو فى الأمعاء . كما فى بكتريا اليوجهورت، فإن نشاط إنزيم β-gal فى *Lb.acidophilus* يكون أعلى كثيراً فى وجود الصفراء عنه فى غياب الصفراء (أى أن الصفراء يزيد من نشاط β-gal بدرجة كبيرة) . الخلايا لا تتحلل فى وجود الصفراء ، لكن تزداد النفاذية ، مما يساعد مواد التفاعل substrate على الانتقال إلىداخل الخلايا حيث يتم تحللها . ونظراً لأن *Lb.acidophilus* يستطيع أن

يقاوم وينمو فى الأمعاء الدقيقة ، فإن كميات إضافية من إنزيم β-gal قد تتكـــون عقب تناول لبن يحتوى على هذا الميكروب.

وقد أوضحت الدراسات أن لبن الأسيدوفلس غير المتخمر يكون غير فعال فى تحسين الاستفادة من اللاكتوز فى الأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز. قد يرجع ذلك إلى عدم وجود قدر كاف من β-gal فى لبن الأســـيدوفلس غـــير المتخمر المستخدم عند تناول هذا اللبن للحصول علىتأثير مفيد.

فى حالة كل من بادئ اليوجهورت و *Lb.acidophilus* ، يجب أن توجـد كمية كافية من β-gal عند تناول اللبن أو منتجات الألبان ، إذا كـــان الهـــدف تحسين الاستفادة من اللاكتوز . هذا الإنزيم يمكـــن حثـــه inducible فى هـــذه البكتريا. لذلك إذا أضيفت البكتريا إلى اللبن أو منتجات الألبان (أى لا تنمـــو فى اللبن) ، فإنه من المهم أن تكون بيئة النمو المستخدمة لإنتاج الخلايا تحتوى علـــى اللاكتوز كمصدر للسكر . يختلف مستوى نشاط β-gal بين عينات اليوجـهورت التجارية وبين سلالات *Lb.acidophilus* . لذلك إذا كان ناتج يحتوى على هـــذه البكتريا للحصول على فائدة للأفراد الذين يعانون سوء هضم اللاكتوز ، فإن يجب استخدام البادئ الذى يحتوى على مستويات مرتفعة من الإنزيم . كما يجـــب أن يبقى النشاط مرتفعاً أثناء النقل والتخزين ، حتى يمكن للمستهلك أن يحصل علـــى ناتج يحتوى على مستويات ملاءمة من الإنزيم للحصول على الفائدة .

تعتمد قدرة الألبان المتخمرة للتغلب على المشاكل التى يعانى منها الأفـــراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز على قدرة ميكروبات التخمر على تحلـــل اللاكتوز . تحتوى الميكروبات على إنزيمات تحلل السكر المســـئول عـــن هـــذه الأعراض . يمكن التغلب على هذه المشكلة فى ثلاث اتجاهات:

١- خفض محتوى الناتج من اللاكتوز نتيجة لتأثير الميكروبات.

٢- إنزيمات ميكروبية تكون نشطة فىالقناة الهضمية.

٣- استمرار نشاط الميكروبات فى القناة الهضمية.

قدرة الميكروبات على خفض محتوى اللاكتوز فى اللبن حقيقة غير مشكوك فيها . ميكروبات اليوجهورت تستطيع أن تستخدم أكثر من ٥٠% من اللاكتـــوز الموجود فى اللبن الفرز المبستر العادى ، مسببة انخفاض اللاكتـــوز مـــن حـــوالى

٥جم/١٠٠ مل إلى حوالى ٢جم/١٠٠ مل . ومع ذلك، إذا تم تدعيم اللبن بإضافة لبن فرز مجفف أو مركز بالتبخير ، حيث يرتفع محتوى اللاكتوز إلى ٧,٥-٨,٠جم/١٠٠ مل (إجراء شائع فى إنتاج اليوجهورت) ، فإن محتوى اللاكتوز النهائى بعد التخمير يكون حوالى ٤,٥-٥جم/١٠٠ مل . لذلك ، فإن محتوى اللاكتوز فى اليوجهورت سوف يكون قريبا جدا من محتوى اللاكتوز فى اللبن الفرز المبستر العادى الموجود فى الأسواق ، ويحدث ذلك لأن ميكروبات اليوجهورت تكون قادرة فقط على النمو إلى حد أقصى من الأعداد فى اللبن الذى يتوقف على عدد من العوامل الفسيولوجية والبيوكيماوية . كمية اللاكتوز فى اللبن غير محدودة ، الزيادة فى محتوى اللاكتوز فى اللبن لا تؤدى إلى زيادة فى كمية اللاكتوز المستهلكة بواسطة البكتريا.

ومع ذلك ، تحتوى البكتريا على إنزيمات قادرة على تمثيل اللاكتوز ، التى تستمر فى تأثيرها على مواد التفاعل substrate إذا لم تمتص بواسطة خلايا البكتريا. يوجد نوعان من الإنزيمات المحللة للاكتوز المرتبطة ببكتريا حامض اللاكتيك : β-D-galactosidase ، β-D-phosphogalactosidase . يؤثر الإنزيم الأول على اللاكتوز بينما يؤثر الثانى على لاكتوز فوسفات ، الذى لا يوجد طبيعياً فى اللبن ومنتجات الألبان . تحتوى ميكروبات اليوجهورت التقليدية و Leuconostocs على β-D-galactosidase ، بينما تحتوى Lactococci على β-D-phosphogalactosidase. والمعلومات فى هذا الشأن بالنسبة للـ *Lb.acidophilus,* Bifidobacteria غير واضحة ، بعض السلالات قد تحتوى على هذين الإنزيمين.

قدرة السلالات الوقائية probiotic strains على الأستمرار فى القناة الهضمية على جانب كبير من الأهمية فى هذا الشأن . تحلل اللاكتوز بواسطة هذين النوعين من الإنزيمات ممكن حدوثه إذا كانت البكتريا حية viable ونشطة فى عمليات التمثيل فى القناة الهضمية . بكتريا الـ Bifidobacteria, *Lb.acidophilus* تقاوم حامض المعدة وأملاح الصفراء ، بينما توجد بعض المؤشرات تدل على أن *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Str.thermophilus,* لا تستطيع . إذا كانت السلالات الوقائية probiotic تحتوى على

β-D-phosphogalactosidase ، فإنه من الأمور الهامة أن الخلايا لا تقاوم فقط بيئة القناة الهضمية ، ولكن تكون نشطة فى عمليات التمثيل تحت هذه الظروف البيئية ، حيث أن الخلايا الكاملة لهذا النوع من الميكروبات مطلوبة للشفاء من أعراض سوء هضم اللاكتوز . الألبان المتخمرة تساعد الأفراد الذين يعانون سوء هضم اللاكتوز ، ولكن يجب الأنتباه إلى التوليفة وأنواع الميكروبات المستخدمة فى التخمير .

٥-٤- التأثير على الكوليسترول المرتفع

من المعروف أن هناك ارتباط بين الصحة وكوليسترول السيرم . يرتبط كوليسترول السيرم المرتفع بزيادة فى عدد حالات الوفاة نتيجة لأمراض تصلب الشرايين atherosclerotic heart discases . يتكون الكوليسترول أساساً فى الكبد بالرغم من أن الأمعاء تكون كميات محسوسة من الكوليسترول . يتأثر معدل تكوين الكوليسترول بمدى توفر الكوليسترول من مصادر غذائية . وقد أقترح أن الأغذية المتخمرة تستطيع أن تخفض مستوى الكوليسترول فى السيرم وذلك بخفض امتصاص الكوليسترول فى الأمعاء ، أو بواسطة تثبيط تكوين الكوليسترول فى الكبد .

مراجعة الممارسات الغذائية لخفض كوليسترول السيرم على جانب كبير من الأهمية . التناول اليومى لكميات كبيرة من الألبان المتخمرة (٨لتر/يومياً) قد تؤدى إلى خفض مستويات كوليسترول السيرم . لذلك، يعتقد أن الألبان المتخمرة تخفض من مستوى كوليسترول السيرم.

وقد تم دراسة تأثير مستخلص ألبان متخمرة بواسطة ٣٩ سلالة مختلفة من Bifidobacteria Lactobacilli على تكوين الكوليسترول وتكوين أحماض الصفراء bile acids من الكوليسترول باستخدام خلايا من كبد الفئران . وقد وجد أن سلالات Bifidobacteria أكثر قدرة على تثبيط تكوين الكوليسترول من الخلات المحتوية على ^{14}C ، وأن المستحضرات من البان متخمرة بسلالة واحدة من *Lb.paracasei* ssp. *paracasei* قد نشطت من الأنزيم المنظم لعملية تكوين أحماض الصفراء من الكوليسترول ، مما أدى إلى الاعتقاد أن النشاط الميكروبى فى

القناة الهضمية يمكن أن ينظم مستويات كوليسترول السيرم . بعض منتجات الألبان المتخمرة أو المحتوية على ميكروبات هذه المنتجات تقلل من تأثير الكوليسترول المرتفع hypercholesterolemic فى الإنسان . تغذية الأطفال الرضع infants على وجبات مدعمة بـ *Lb.acidophilus* يؤدى إلى خفض مستويات كوليسترول السيرم خلال ٦-٩ أيام الأولى من حياة الطفل مقارنة بالأطفال الذين يتناولون وجبات لا تحتوى على Lactobacilli. يرتبط هذا الانخفاض مع زيادة أعداد *Lb.acidophilus* فى براز الأطفال الرضع . تدل هذه النتائج على أن Lactobacilli تكون مسئولة عن خفض مستويات الكوليسترول فى السيرم.

تدل الدراسات المعملية على أن نمو *Lb.acidophilus* تحت ظروف لاهوائية فى وجود الصفراء يساعد على امتصاص الكوليسترول من بيئة النمو . تختلف القدرة على امتصاص الكوليسترول فى البيئات المعملية بين سلالات *Lb.acidophilus* ، وتفشل بعض السلالات فى امتصاص الكوليسترول. عند تغذية الخنازير عليقة مرتفعة فى الكوليسترول، فإن السلالة التى لا تستطيع امتصاص الكوليسترول فى البيئات المعملية ، ليس لها تأثير على مستويات الكوليسترول فى السيرم . ومع ذلك ، فإن تغذية الخنازير على سلالة تتميز بقدرتها على امتصاص الكوليسترول قد أدى إلى خفض كوليسترول السيرم بدرجة أكبر عنه فى مجموعة حيوانات المقارنة أو مجموعة الحيوانات التى غذيت على سلالات لا تستطيع امتصاص الكوليسترول من البيئات المعملية. تدل هذه النتائج على أن السلالات التى تمتص الكوليسترول تستطيع المساعدة فى خفض مستويات كوليسترول السيرم . النتائج فى جدول (٣-١٢) توضح الاختلافات بين قدرة سلالات *Lb.acidophilus* على أمتصاص الكوليسترول أثناء النمو فى بيئات معملية.

جدول (٣-١٢):امتصاص الكوليتسرول بواسطة سلالات مختلفة من *Lb.acidophilus*.

السلالة	الكمية المتصة *(mg/ml/hr)
ATCC 4356	0.92
ATCC 4962	2.21
ATCC 4312	3.96

* تعتمد على الكمية المتبقية فى رائق المرق بعد ١٤ ساعة عند ٣٧°م

تؤكد هذه النتائج على الحاجة إلى اختيار السلالات التى تحتوى على الصفات المطلوبة للحصول على فائدة صحية أو تغذوية معينة.

بكتريا *Lactobacillus* spp. هى البكتريا السائدة فى الأمعاء الدقيقة التى تعمل على انفراد deconjugate أحماض الصفراء . كما أن هذا النشاط قد يكون عاملاً هاماً فى تأثير *Lb.acidophilus* علىالكوليسترول المرتفع . أحماض الصفراء الحرة الناتجة من زيادة انفراد أحماض الصفراء المرتبطة conjugatedفى الأمعاء الدقيقة من المحتمل أن تفرز فى البراز نظراً لعدم امتصاصها بكفاءة فىالأمعاء . بالإضافة إلى ذلك ، فإن أحماض الصفراء الحرة لا تكون فعالة مثل الأحماض المرتبطة فى تكوين جسيمات micellcs مع الكوليسترول ، التى تكون ضرورية لأمتصاصها من الأمعاء الدقيقة. لذلك ، فإن إنفراد أحماض الصفراء سوف يقلل من أمتصاص الكوليسترول الغذائى (من مصادر غذائية) من الأمعاء الدقيقة . بالإضافة إلى ذلك ، فإن استبدال أحماض الصفراء الحرة التى تفرز فى البراز ، يحتاج إلى تخليق أحماض الصفراء من الكوليسترول فى الكبد ، مما يؤدى إلى استخدام بعض كوليسترول الجسم ، الذى يؤدى إلى خفض كوليسترول السيرم.

بالإضافة إلى *Lb.acidophilus* ، توجد أنواع أخرى فى بعض منتجات الألبان المتخمرة ، تمتص الكوليسترول أثناء النمو ، تشمل *Lb.casei* ، *Bifidobacterium* spp.. يتطلب الأمر إجراء الدراسات لتقدير العوامل التى تحسن من امتصاص الكوليسترول بواسطة Bifidobacteria, Lactobacilli . مثل هذه المعلومات سوف تكون مفيدة جداً فى اختيار الميكروب للمساعدة فى خفض مستويات كولّيسترول السيرم.

وقد أشار بعض الباحثين إلى أن *Lb.acidophilus* لا يستطيع امتصاص الكوليسترول معملياً *in vitro* أثناء النمو . وقد أستخدمت فى هذه الدراسات مستويات منخفضة جداً من الكوليسترول (حوالى ٣٠ ميكروجرام/مل) فى بيئات النمو ، التى قد تكون غير مناسبة لأمتصاص معنوى بواسطة Lactobacilli .

وقد دلت هذه الدراسات على أن إنفراد أملاح الصفراء فى بيئة النمو يؤدى إلى عدم ثبات الكوليسترول فى صورة جسيمات ، مما يؤدى إلى ترسيبه مع أملاح الصفراء الحرة (غير المرتبطة deconjugated) . وقد لوحظ أن الكوليسترول

لا يمتص من البيئة بواسطة *Lb.acidophilus* عندما يبقى pH عند ٦ أثناء النمو (عند pH ٦,٠ لا تترسب أملاح الصفراء الحرة) . ومع ذلك ، هناك دراسات أخرى أوضحت أنه يتم امتصاص الكوليسترول بواسطة *Lb.acidophilus* RP32 أثناء النمو عند pH ٦,٠ . وفى دراسة أخرى أشارت إلى وجود الكوليسترول فى غشاء خلايا cell membrane بكتريا *Lb.acidophilus* النامية فى بيئة مدعمة بأملاح الصفراء وجسيمات الكوليسترول. وقد أشارت دراسة أخرى أنه لا يوجد علاقة معنوية بين امتصاص الكوليسترول وإنفراد أملاح الصفراء بواسطة *Lb.acidophilus*.

وعموماً فإن ميكروبات البادئ تستطيع تحرير أحماض الصفراء وتحويلها إلى صورة غير قابلة للأمتصاص ، أحماض الصفراء غير المرتبطة تكون أقل قدرة فى المساعدة على امتصاص الدهون فىالأمعاء وبالتالى امتصاص الكوليسترول عن أحماض الصفراء المرتبطة . كما أن الكوليسترول يتم التخلص منه نتيجة ترسيبه مع أملاح الصفراء غير المرتبطة تحت ظروف حامضية.

دراسات أخرى أجريت على الإنسان لم تؤيد التأثير الحامضى للألبان المتخمرة على الكوليسترول . فقد وجد أنه لا يوجد أى فروق معنوية فى كوليسترول السيرم بين أفراد متطوعين تناولوا ١ لتر مدعم من لبن ٢% دهن ، يوجهورت أو لبن أسيدوفلس غير حامضى sweet لمدة ٣ أسابيع . كما لم يلاحظ انخفاض مستوى كوليسترول السيرم فى أفراد استهلكوا كميات كبيرة من اليوجهورت كجزء من غذائهم . أيضاً لوحظ انخفاض كوليسترول السيرم فى متطوعين ذكور فى السجن تناولوا لبن فرز (٢,٧ لتر/يوم) أو لبن خض (٢ لتر/يوم) لمدة ٣ أسابيع .

وقد أشارت بعض الدراسات إلى أن تأثير اليوجهورت الخافض للكوليسترول يكون مؤقتاً فقط ، عندما عدل ذكور بالغين غذائهم وتناولوا ٦٨١ جم يوجهورت لثلاث فترات كل منها ١٤-٢١ يوم. تناول *Lb.acidophilus*, *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* فى صورة حبوب لم تحدث تغيير معنوى فى مستوى كوليسترول السيرم فى المتطوعين .

- *Bifidobacterium* وكوليسترول السيرم

تم دراسة دور Bifidobacteria فى خفض كوليسترول السيرم ، وقد وجد أنه من الصعب القول أن تناول كميات كبيرة من الألبان المتخمرة تؤدى إلى خفض كوليسترول السيرم . ومع ذلك فإن الأمر يتطلب دراسة أكثر وتجارب تحت ظروف محكمة controlled باستخدام سلالات LAB التى تستطيع أن تخفض كوليسترول السيرم قبل اقتراح التأثير الخافض للألبان المتخمرة على الكوليسترول hypocholesteraemic effect of FMP .

عدد محدود من سلالات *Lb.acidophilus* وبعض Bifidobacteria قد أخذت كثيرا من الاهتمام فى هذا الصدد . وقد وجد أن Lactobacilli *Bif.bifidum*, تحرر أملاح الصفراء التى يترسب مع الكوليسترول عندما ينخفض pH . كما وجد أن انخفاض الكوليسترول يرجع إلى قدرة البكتريا على تحرير املاح الصفراء. ونظرا لوجود علاقة بين أملاح الصفراء وأمتصاص الكوليسترول ، فإن بكتريا حامض اللاكتيك المحتوية على إنزيم bile salt hydrolyase قد تتميز بإمكانية خفض كوليسترول السيرم.

عملية الترسيب المشترك (أملاح الصفراء/الكوليسترول) قد تكون آلية تساهم فى خفض كوليسترول السيرم، وذلك إذا تم إفراز راسب الصفراء /الكوليسترول cholesterol-bile co-preciptate من القناة الهضمية مع البراز ، وبالتالى يحدث فقد فى الكوليسترول والصفراء . التأثير النهائى لمثل هذا الفقد من القناة الهضمية يؤدى إلى تنشيط الدورة الكبدية المعوية enterohepatic cycle التى تخلق أملاح الصفراء من الكوليسترول . قدرة البكتريا الوقائية probiotic على تحرير أملاح الصفراء قد يساعد فى عملية الترسيب المشترك ، لكن وجود أملاح الصفراء غير المرتبطة فى الأمعاء الغليظة قد تساهم فى زيادة فرصة الإصابة بسرطان القولون.

٥-٥- النشاط المضاد للمواد المسرطنة

مزارع البكتريا المستخدمة فى صناعة عدة أنواع من منتجات الألبان المتخمرة تتميز بنشاط مضاد للمواد المسرطنة anticarcinogenic أو مضاد

للمطفرات antimutagenic . كثير من الدراسات فى هذا المجال تستخدم حيوانات معملية فى توضيح فاعلية البكتريا فى تأخير ظهور الأورام. استهلاك اليوجهورت بواسطة الفئران الصغيرة تثبط ظهور خلايا الأورام . أوضحت التجارب التى أجريت على الإنسان ، أن سلالة Lactobacilli أظهرت قدرة فى مقاومة سرطان القولون ، وقد تم توصيف وتعريف هذه السلالة فيما بعد حيث أتضح أنها *Lb.casei* ssp.*rhamnosus* . تستخدم هذه السلالة تجاريا على نطاق واسع فى الألبان المتخمرة فى الدنمارك.

أنواع البكتريا التى غالبا ما تشارك فى النشاط المضاد للسرطان تكون Lactobacilli، وخاصة *Lb.acidophilus*، *Lb.delbreuckii* ssp *bulgaricus*. *Lb.casei* يبدو أن نشاط الميكروب الأخير مرتبطا مع مركب (أو مركبات) تتكون بواسطة الميكروب قبل تناول الناتج المتخمر ، حيث أن الميكروب لا ينمو فى الأمعاء . ومن ناحية أخرى ، فإن نمو و/أو تأثير *Lb.acidophilus* أو *Lb.casei* فى القناة الهضمية على جانب كبير من الأهمية فى حالات أخرى . بعض هذه الحالات قد يرجع إلى التأثيرات غير المباشرة من خلال تثبيط نمو البكتريا غير المرغوبة فى الأمعاء التى قد تنتج مواد مسرطنة carcinogens. ويعتقد البعض أن LAB لا تثبط الأورام بطريقة مباشرة ، ولكن يبدو أن التثبيط يحدث بطريقة غير مباشرة من خلال الجهاز المناعى للعائل .

توجد النترات nitrates والنيتريت nitrites طبيعيا فى الغذاء كما تتكون فى الأمعاء بواسطة بعض الميكروبات وتتحول النيتريت الى نيتروزأمين nitrosamine (مواد مسرطنة). وجود Lactobacilli فى فلورا الأمعاء يؤدى الى التحليل الحيوى للنيتروزأمين كما أن *Lb.casei* والميكروبات المشابه تقوم بتحليل النترات والنيتريت حيويا.

التأثيرات غير المباشرة على الأورام تعتبر محصلة لعديد من التأثيرات الى تحدثها الألبان المتخمرة على صحة الأنسان. ويعتقد أن معظم هذه التاثيرات ترجع الى أزالة الإنزيمات التى لها القدرة على تحويل المواد المشجعة للسرطان procarcingenic الى مواد مسرطنة carcinogenic . هذه الإنزيمات تكون موجودة فى البراز (azoreductase, nitroreductase, β-glucuronidase).

تستخدم هذه الإنزيمات لمتابعة سرطان الأغشية المبطنة حيث تزداد فرصة الاصابة بالسرطان عندما يكون مستوى هذه الإنزيمات مرتفعا فى البراز. تناول الألبان المتخمرة وخاصة لبن الأسيدوفلس يقلل من مستوى هذه الإنزيمات فى البراز.

٥-٦-تحسين الأستجابة المناعية

خلايا الـ Lactobacilli، المستخدمة فى صناعة منتجات الألبان ، قد تزيد من مقاومة العائل للأصابة بالعدوى بواسطة بعض الميكروبات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء من خلال تحسين الاستجابة المناعية للجسم enhanced immune Response . بالرغم من أن *Lb.acidophilus* و *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* لهما بعض التأثير ، فإن *Lb.casei* يبدو أنه الميكروب الرئيسى فى هذا المجال. فى ضوء المعلومات المتوفرة عن هذه المجموعة من Lactobacilli، فإنه من المحتمل أن القدرة النسبية لاحداث مثل هذا التأثير تختلف باختلاف السلالات للنوع الواحد. لضمان اتصال سلالات LAB المتناولة مع الجهاز المناعى المعوى intestinal immune system ، فإن الأمر يحتاج الى توفر واحد أو أكثر من الصفات التالية فى LAB: (١) قدرة السلالة على البقاء فى الحامض والصفراء ، (٢)حيوية السلالة فى القناة الهضمية ، (٣) الأتصال بالحواجز المعوية (الأغشية المخاطية ، الخلايا الطلائية، مجموعة الميكروفلورا)، (٤) الألتصاق بالاغشية المخاطية المعوية و (٥) إمتصاص LAB بواسطة الأغشية المخاطية. وقد وجد أن البكتريا الوقائية probiotic التى تتميز بهذه الصفات تشمل *Lb.acidophilus* NCFB 1478، *Lb.casei* Shirota ، *Lactobacillus* GG ، *Lb.acidophilus*. وقد يتضمن التاثير تنشيط البلعميات الكبيرة macrophages فى الجسم ،التى بدورها تقضى على الميكروبات المرضية. هذة الزيادة فى ميكانيكية الدفاع فى العائل قد تكون هامة جدا فى مقاومة الأمراض المنقولة عن طريق الغذاء food-borne illnesses. بالأضافة الى ذلك ، فإن ذلك يمكن أن يفسر أن استخدام بعض Lactobacilli كمساعدات غذائية dietary adjuncts تمارس بطريقة غير مباشرة بعض المقاومة لميكروبات الأمعاء.

وقد وجد أن LAB تزيد من مستويات γ-interferon لها فى الأنسان الذى ينشط الخلايا الليمفاوية B-lymphocytes (تكوين الاجسام المضادة) والخلايا القاتلة الطبيعية natural killer cells (الخلايا الليمفاوية –ت T-cells) وكذلك زيادة تخليق IgG (جلوبيولينات مناعية) مما يزيد من الأستجابة المناعية فى الأنسان ومقاومته للعدوى. تتميز *Lb. acidophilus* بقدرة منظمة لأنتاج γ-interferon، وقد يرجع ذلك الى قدرة بعض أنواع من Lactobacilli على تحليل البروتينات والببتيدات التى لها القدرة على تنشيط الجهاز المناعى. يرجع التأثير الواقى لبعض أنواع من *Lb. casei* ضد بعض البكتريا المرضية الى تنشيطها الجهاز المناعى فى الجسم.

٦- قدرة بكتريا البادئ على البقاء والنمو فى الأمعاء

جميع الفوائد الصحية والتغذوية الناتجة من تناول منتجات الألبان المتخمرة لاتعتمد على نمو وتأثير بكتريا البادىء فقط فى الأمعاء عقب الأستهلاك، بعض الفوائد قد تنتج من مواد تتكون فى اللبن فى أثناء عملية التخمر فى صناعة المنتجات، وقد يتضمن ذلك تحسين إتاحة بعض العناصر الغذائية و /أو تعديل مكونات اللبن مثل البروتينات، أى أن أعداد من بكتريا البادىء قد تكون مسئولة عن مثل هذه الفوائد.

قد يدرك الأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز فائدة نوعية specifi مرتبطة بتناول المنتجات المتخمرة . قد ترجع هذه الفائدة أساساً إلى β-gal الموجودة فى خلايا بكتريا البادئ . ومن الضرورى أن أى مزرعة بادئ تحتوى β-gal قد تعطى هذه الفائدة . من الأمور الهامة أختيار البادئات المحتوية على مستويات مرتفعة من هذا الإنزيم والتأكد من توفر مستويات كافية عند وقت الاستهلاك وذلك حتى يمكن الوصول إلى الفائدة الأفضل . بعض البادئات ، مثل Lactococci ، تحتوى على phospho-β-galactosidase (pβ-gal) ، الذى لا يحلل اللاكتوز . بعض الفوائد التى تعود على الأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز قد تنشأ أيضا من انخفاض فى مستوى اللاكتوز أثناء التخمر . فضلا عن ذلك، فإن الميكروبات تستخدم فقط الكميات اللازمة لنموها ، التى تقدر بحوالى

٢٠-٢٥ % من الكمية الكلية الموجودة فى اللبن قبل التخمر . تأتى الفائدة الرئيسية من استهلاك المنتجات المتخمرة أو المنتجات المحتوية على ميكروبات حية مصنعة ببادئات تحتوى على β-gal نشطة.

بعض الفوائد الصحية والتغذوية التى قد يحصل عليها من بكتريا البادئ تتضمن الحالات التى يستطيع فيها الميكروب أن يبقى وينمو فى الأمعاء . تعتبر بكتريا حامض اللاكتيك من الفلورا الطبيعية فى الأمعاء ، خاصة الأمعاء الدقيقة . هذه البكتريا تكون قادرة أيضا على مقاومة الظروف الحامضية فى المعدة والصفراء فى الجزء العلوى من القناة الهضمية ليصل إلى الأمعاء الدقيقة . من الأنواع الأكثر شيوعا *Lb.acidophilus* ، *Lb.casei* ، Bifidobacteria خاصة *B.infantis* ، *B.longum* ، *B.breve, B.adolescentis* . بكتريا *B.adolescentis, B.longum* من أكثر Bifidobacteria شيوعا فى الأمعاء الدقيقة للبالغين ، ومع ذلك فإن جميع الأربع أنواع توجد فى أمعاء الأطفال الرضع والأطفال . بالرغم من أنه تم عزل أنواع أخرى من Bifidobacteria, Lactobacilli من محتويات أمعاء الإنسان ، ونظرا لأن هذه الأنواع توجد بدرجة محدودة ، فإنه يعتقد أن هذه الأنواع توجد بصفة مؤقتة أكثر منها فلورا طبيعية فى الأمعاء .

الصفات العامة المطلوبة فى بكتريا البادئات أن تكون قادرة على البقاء والنمو فى الأمعاء . أحد الصعوبات التى تقف أمام البقاء حموضة العصارة المعوية gastric acidity الموجودة فى المعدة. *Lb.acidophilus* ، *Lb.casei* مقاومة للظروف الحامضية فى العصير المعوى الصناعى عند pH ٣,٠ عند ٣٧°م ، بينما *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* لا تقاوم هذه الظروف . تختلف سلالات Bifidobacteria فى قدرتها على المرور خلال المعدة . تأثير الإنزيمات مثل lysozyme الموجود فى الجزء العلوى من الجهاز الهضمى قد يكون أيضا ضارا للـ Bifidobacteria, Lactobacilli . ومع ذلك فإن الصعوبات التى تواجه الباحثين هو تحلل lysing الـ Lactobacilli بإنزيم lysozyme مما يدل على أن هذه البكتريا غير مقاومة للإنزيم وبالتالى قد تواجه قليل من الصعوبات فى التغلب على هذا العائق فى الجهاز الهضمى . ويعتقد أن الاختلافات فى المقاومة للحموضة المعوية والليسوزيم lysozyme توجد بين سلالات جميع الأنواع .

إذا كان من المتوقع أن البكتريا تبقى وتنمو فى الأمعاء الدقيقة ، فإنه من المقبول أن تكون أيضا مقاومة للصفراء . ومن المعروف منذ وقت طويل أن Lactobacilli تختلف فى قدرتها على النمو عند توتر سطحى منخفض low surface tension ، تنشأ هذه الظروف بواسطة الصفراء فى الأمعاء الدقيقة . فى دراسة مبكرة لمقارنة قدرة Lactobacilli للنمو عند توتر سطحى منخفض ، فإن ١٧ سلالة من *Lb.bulgaricus* قد فشلت فى النمو عند توتر سطحى منخفض ، بينما جميع ١٥ سلالة من *Lb.acidophilus* قد نمت تحت هذه الظروف . كما أن Bifidobacteria تنمو عند توتر سطحى منخفض ، ولكن يوجد تباين بين سلالات *Lb.casei* فى هذا الصدد. تشير دراسات حديثة إلى الاختلافات فى مقاومة سلالات *Lb.acidophilus* للصفراء . درجة مقاومة الصفراء اللازمة للنمو المثالى فى الأمعاء غير معروفة . ومع ذلك فى نفس الوقت فإنه يفضل اختيار السلالة الأكثر مقاومة للصفراء حتى يضمن قدرتها على البقاء والنمو فى الأمعاء الدقيقة .

تتوفر معلومات محدودة عن علاقة Lactobacilli للآستجابة المناعية للجسم body's immune response وتأثيرها على قدرة Lactobacilli على الأستقرار والنمو فى الأمعاء . تدل عدد من التقارير علىأن *Lb.acidophilus* تكون متخصصة من حيث العائل host specificity . فمثلا سلالة من *Lb.acidophilus* معزولة من أمعاء الإنسان قد لا تعمل فى أمعاء الدجاج . لذلك يفضل اختبار سلالات Bifidobacteria, Lactobacilli المراد استخدامها للتأكد من بقائها وعملها فى أمعاء العائل . وعموما يفضل اختبار سلالات مصدرها أمعاء الإنسان.

إذا كانت Bifidobacteria, Lactobacilli قادرة على البقاء والنمو فى الأمعاء ، فإنه يجب أن تكون قادرة على أن تتنافس مع الفلورا الطبيعية وتقاوم المواد المثبطة ، مثل البكتريوسينات ، التى قد تتكون بواسطة الفلورا الطبيعية فى الأمعاء ، وقد يعطى ذلك بكتريا Bifidobacteria, Lactobacilli ميزة نسبية فى منافسة البكتريا من نفس الأنواع أو الأنواع المشابه فى الأمعاء.

٧- الصفات المرغوبة فى البادئات

لكى يحصل المستهلك على الفوائد الصحية والتغذوية من الألبان المتخمرة فإن بعض التغيرات فى الصفات المستخدمة فى اختيار البادئ يكون ضروريا . ليس فقط أن يختار البادئ طبقا لقدرته على إنتاج الصفات الحسية المرغوبة فى الناتج لكن يجب أن تؤخذ فى الأعتبار عوامل أخرى مرتبطة بالفوائد الصحية والتغذوية. إذا كان التأثير المفيد يحتاج إلى نمو الميكروب فى الأمعاء ، فإن الصفة التى تجعل الميكروب ينمو جيدا تحت هذه الظروف يجب أن تؤخذ فى الاعتبار . تميل Lactobacilli المعوية إلى التخصصية فى العائل ، لذلك فإنه من الضرورى اختيار سلالة متسقة مع العائل (أى الانسان) لاستخدامها فى الناتج المراد إنتاجه . صفة أخرى تبدو هامة فى البقاء والنمو فى الأمعاء هى مقاومة الصفراء . لتحسين قدرة الميكروبات للبقاء والنمو فىالأمعاء ، فإنه من الضرورى أن تتنافس بدرجة جيدة مع الفلورا الموجودة طبيعيا فى الأمعاء ، وتشمل الميكروبات من نفس النوع أو قريبة من هذه الأنواع ، لذلك فإن المقاومة للبكتريوسنات تعتبر صفة هامة .

الهدف الرئيسى من اختيار المزارع هى قدرتها على إنتاج الفائدة المرغوبة . بالإضافة إلى ذلك يجب أن تحافظ على هذه القدرة أثناء الإنتاج ، التصنيع ، التوزيع والتخزين إلى أن تصل إلى المستهلك . نظراً لوجود اختلافات بين سلالات بكتريا حامض اللاكتيك ، فإنه من غير المحتمل أن سلالة واحدة من نوع واحد تكون مناسبة لأنجاز جميع الفوائد الصحية والتغذوية.

المتابعة المناسبة أو أختبار الثبات stability يكون ضرورياً للتأكد من أن الناتج المتخمر أو الناتج المحتوى على الميكروبات يصل إلى المستهلك بالصفات المرغوبة. فمثلاً إذا كان الناتج المتخمر أو المحتوى على الميكروبات يجهز كناتج مفيد للأفراد الذين يعانون من سوء هضم اللاكتوز ، فأنه من الضرورى أن يحتوى الناتج على مستوى مرتفع من β-gal عند وقت الاستهلاك ، وهذا يؤكد أن المستهلك يحصل على ناتج أكثر ملاءمة لتوفير الفائدة.

٨- مرور بكتريا حامض اللاكتيك خلال القناة الهضمية

يجب أن تبقى LAB فى القناة الهضمية حتى يمكن الحصول على الفوائد الصحية . تستمر هذه الفوائد الصحية فقط إذا لم يقضى على LAB ومكوناتها أو حدوث دنترة لها (تغيير فى طبيعتها) deneturation بواسطة الوسط الحامضى فى المعدة ، أو تحليل اللاكتيز بواسطة إنزيمات proteases المعدة . ومع ذلك فإن محتوى المعدة المرتفع من حامض الأيدروكلوريك قد يقتل LAB ويصاحب ذلك إفراز لإنزيم لاكتيز بكتريا حمض اللاكتيك فى المعدة . لكن من المحتمل أن يسبب الوسط الحامضى دنترة لإنزيم اللاكتيز . بالإضافة إلى ذلك ، فإن تحليل البروتين proteolysis قد يشمل اللاكتيز وبالتالى يفقد نشاطه . عندما يتناول LAB الحية من خلال الألبان المتخمرة ، فإن مكونات الألبان تتميز بقدرة تنظيمية ممتازة . ونظراً لأن LAB توجد فى اليوجهورت (pH ٤,٠-٤,٥) ، فإن الخلايا قد تتأقلم على الوسط المنخفض pH وقدرتها على المقاومة قد تكون أعلى فى العصارة المعوية gastric juices ، لذلك فإن الخلايا المتبقية قد تستقر فى القناة الهضمية.

تم دراسة مرور LAB خلال القناة الهضمية فى الجسم الحى *in vivo*. قدرة هذه الميكروبات على البقاء تتوقف على نوع وسلالة *Lactobacillus* والقدرة التنظيمية buffer capacity للوسط . عندما يتم إدخال *Lb.acidophilus* ، *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* إلى المعدة من خلال أنبوبة nasogatric ، فإن *Lb.acidophilus* تقاوم بدرجة أفضل عن *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ، أى لمدة أطول وعند pH أقل . ومع ذلك فإنه يوجد تباين فى قدرة السلالات المختلفة من *Lb.acidophilus* للبقاء فى المعدة . بقاء *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lb.acidophilus* فى العصارة المعوية للإنسان تزيد عندما يتم التغذية ببكتريا حامض اللاكتيك مع اللبن . ترجع ارتفاع القدرة على البقاء survivability إلى القدرة التنظيمية للبن ، التى ترفع من pH العصير المعوى . قدرة *Str.thermophilus*, *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus* على البقاء قد تكون أعلى عند تناول هذه الميكروبات من خلال اليوجهورت ، حيث أن اليوجهورت أعلى فى القدرة التنظيمية . القدرة التنظيمية لليوجهروت واللبن تعزى أساساً إلى

البروتينات . القدرة التنظيمية الأعلى لليوجهورت قد تعزى أيضا إلى وجود محتوى أعلى من جوامد اللبن وكذلك حامض اللاكتيك.

بالرغم من أن القدرة التنظيمية لليوجهورت أعلى منها فى اللبن ، فإن قيم pH العصير المعوى *in vivo* لأربعة أفراد فى هذه الدراسة لا توجد بينهم فروق معنوية للبن واليوجهورت . كما تم دراسة مرور بكتريا حامض اللاكتيك ولاكتيز اليوجهورت خلال القناة الهضمية لأفراد غير مقاومين للاكتيز ، وقد تم التحضين باستخدام تجهيزات خاصة لمراقبة التغيرات فى الأمعاء والأثنى عشر . وقد تناول الأفراد مزارع يوجهورت حية ونشطة أو يوجهورت مبستر ، مع polyethylene glycol وجراثيم *Bacillus stearothermophilus* . وقد لوحظ كل من LAB, *B.stearothermophilus* فى الأثنى عشر عقب التناول . وقد انخفضت أعداد *B.stearothermophilus* بمقدار دورة لوغاريتمية ، وقد يعزى ذلك إلى تأثير التخفيف dilution effect ، حيث أن أعداد LAB قد انخفضت بمقدار ٥ دورات لوغاريتمية نتيجة التخفيف أو موت الخلايا . كما لوحظ أيضاً نشاط اللاكتيز فى الأثنى عشر ، لكن النشاط كان أقل معنوياً بعد ٩٠ دقيقة . هذه التجربة أعطت دلائل مباشرة على وجود LAB ولاكتيز اليوجهورت فىالقناة الهضمية ، ومع ذلك فإن نشاط اللاكتيز وأعداد LAB قد أنخفض بدرجة كبيرة . وقد كان هناك انخفاضا فى محتوى اللاكتوز بعد ٩٠ دقيقة من تناول اليوجهورت الطازج أو المبستر .

وقد تم دراسة وجود اللاكتيز فى براز الأفراد غير المقاومين للاكتيز . وقد كان نشاط اللاكتيز البرازى faecal lactase أقل عقب تناول اليوجهورت مقارنة باليوجهورت المبستر. وهذه النتائج عكس المتوقع حيث أن اليوجهورت المبستر يحتوى على أعداد بكتريا حية أقل ونشاط لاكتيز أقل . لذلك فمن الضرورى مراجعة نشاط لاكتيز بكتريا الأمعاء قبل وبعد تناول الألبان المتخمرة . بكتريا القناة الهضمية gut bacteria تحتوى على نشاط لاكتيز وأنها تحلل وتخمر اللاكتوز، منتجة أيدروجين .

وقد تم دراسة تأثير العصير المعوى على نشاط اللاكتيز تحت ظروف معملية *in vitro* . وقد لوحظ أن نشاط لاكتيز اليوجهورت ينخفض مع انخفاض pH

وارتفاع الحموضة . عند إجراء هضم اليوجهورت بالعصارة المعوية تحت ظروف معملية *in vitro* gastric digestion ، فإن بكتريا حامض اللاكتيك تزيد أيضا من نشاط اللاكتيز ، نتيجة تحلل الخلايا cell lysis . وفى دراسة معملية عن تأثير أملاح الصفراء على نشاط اللاكتيز ، فقد لوحظ أن نشاط لاكتيز اليوجهورت يزيد فى وجود أملاح الصفراء معمليا *in vitro* ، الذى قد يعزى إلى التاثير التكافلى synergistic لأملاح الصفراء على اللاكتيز ، أو إلى تحلل الخلايا البكتيرية وانفراد الإنزيم . نشاط لاكتيز الخلايا البكتيرية لم يتم متابعته فى المعدة والأمعاء الدقيقة . درجة الدنترة والتحلل لإنزيم اللاكتيز فى المعدة يحتاج إلى دراسة عند تناول الألبان المتخمرة . وقد وجد أنه عند تغذية أفراد غير مقاومين للاكتيز يوجهورت ، يوجهورت مبستر ولبن لدراسة نمط امتصاص اللاكتوز lactose absorption patterns ، أن تغذية ١٨ جم لاكتوز فى اليوجهورت قد امتص بدرجة أفضل من اليوجهورت (١,٧ جم من ١٨جم أو ١٠ % من اللاكتوز غير الممتص) عما فى اليوجهورت المبستر (٢,٨ جم من ١٨جم أو ١٥ % لاكتوز غير ممتص) أو من اللبن . وقد وجد أن كمية اللاكتوز الكامل intact lactose كانت بدرجة كبيرة فى اللفائفي (الجزء الأخير من الأمعاء الدقيقة) ileum عندما تضمنت الوجبة اليوجهورت مقارنة باليوجهورت المبستر أو اللبن .

وقد وجد أن أكثر من ٩٠ % من اللاكتوز فى اليوجهورت يتم هضمه فى الأمعاء الدقيقة لأفراد غير مقاومين للاكتيز . ويعتقد أن نشاط اللاكتيز فى بادئات اليوجهورت يساعد على الامتصاص الجيد للاكتوز من اليوجهورت . ونظرا لأن ٨٥ % من اللاكتوز فى اليوجهورت المبستر يتم هضمه ، فإن ١٥ % فقط من اللاكتوز المهضوم فى اليوجهورت قد يرجع إلى بكتريا اليوجهورت.

٩- فساد الألبان المتخمرة

تتميز الألبان المتخمرة بصفة عامة بانخفاض pH وتركيز مرتفع من حامض اللاكتيك ، وبالتالى تكون بيئة إنتقائية عالية highly selective تشجع نمو الخمائر والفطريات والميكروبات المسببة للفساد . لهذا السبب يسمح بإضافة السوربات sorbate والبنزوات benzoate كمواد حافظة فى بعض الدول ، لكن فاعلية هذه

المواد تكون محدودة نتيجة ظهور سلالات مقاومة . كما أن توفر الأكسجين يلعب دورا هاما فى الحد من نمو الفطريات والخمائر غير المخمرة non-fermentative yeasts ، بينما إضافة السكريات sugars يشجع من نمو الخمائر المخمرة fermentative yeasts . يكون تركيز المواد الذائبة فى بعض الحالات مرتفعا بدرجة كافية تحدث أنخفاضا بسيطا ولكنه معنويا فى مستوى النشاط المائى a_w . لا يعتبر ذلك كافيا للحد من نمو الخمائر أو الفطريات ، بالرغم من أن سلوك ميكروبات البادئ قد يتأثر .

معظم الدراسات المتعلقة بالفساد الميكروبى للألبان المتخمرة مرتبطة باليوجهورت. ومع ذلك فإن معظم الألبان المتخمرة تتعرض لنمط مماثل من الفساد ولذلك فإن اليوجهورت يعتبر بصفة عامة ممثل لهذه المنتجات . وقد ركز الاهتمام علىميكروبات الفساد مثل الخمائر ، لكن من الضرورى أيضا تقدير دور ميكروبات البادئ فى فساد الجودة الحسية دون ظهور علامات واضحة . تتجاوز أعداد بكتريا البادئ ١٠^٨ cfu/جم أثناء التخزين لفترات طويلة عند ١٠°م أو أقل ، لكن قد تنخفض الأعداد سريعا عند درجة حرارة أعلى . استمرار نشاط بكتريا البادئ بعد عملية التخمر قد يؤثر على فترة صلاحية الناتج نتيجة لزيادة الحموضة ونشاط تحلل البروتين الذى يؤدى إلى مرارة وانفصال الشرش . قد تنشأ المرارة أيضا من موت ميكروبات البادئ نتيجة لانفراد الإنزيمات المحللة للبروتين.

تعتبر الخمائر من أهم الميكروبات المسببة للفساد وعادة تكون مرتبطة بعملية التخمر التى تؤدى إلى إنتاج غاز . من السهل التعرف على هذا الفساد نتيجة انتفاخ العبوات . خمائر مثل *Saccharomyces* spp., *Kluyveromyces marxianus* تكون أكثر مساهمة فى حدوث الفساد التخمرى fermentative spoilage واليوجهورت المضاف إليه سكريات عادة يتأثر بهذه الخمائر ، يعتبر بوريه الفاكهة الملوث نتيجة عمليات التداول غير المناسبة مصدرا رئيسيا للتلوث ، بالرغم من أن اليوجهورت المطعم بالشيكولاتة يكون أيضا أكثر عرضة للفساد بواسطة الخمائر .

الخمائر المؤكسدة oxidative yeasts تكون أيضا ميكروبات فساد هامة فى اليوجهورت . يتوقف نمو الخمائر على توفر الأكسجين ، وقد يكون قاصرا على سطح اليوجهورت الملامس للهواء . فى مثل هذه الحالات قد تتكون مستعمرات أو طبقة رقيقة (فيلم) من النمو على سطح اليوجهورت . تسمح مواد بعض العبوات مثل poly styrene بدخول كمية كافية من الهواء إلى العبوة لتدعيم نمو الخمائر المؤكسدة فى اليوجهورت . فى مثل هذه الظروف تكون الخمائر المؤكسدة قريبة من جدار العبوة ، والخمائر المتخمرة فى مركز العبوة . وقد تم عزل عدد كبير من الخمائر المؤكسدة من اليوجهورت تشمل الأنواع التالية : *Candida* ، *Debaryomyces* ، *Metschnikowia* ، *Pichia* ، *Rhodotorula* ، *Torulaspora* ، *Trichosporon* ، *Yarrowia*.

نمو الفطريات على سطح اليوجهورت الملامس للهواء يؤدى إلى ظهور طبقة mat أو أزرار buttons مرئية من الميسليوم . وقد تم عزل أنواع كثيرة من الفطريات تشمل *Absidia* ، *Alternaria* ، *Aspergillus* ، *Micelia* ، *Monilia*، *Mucor* ، *Penicillium* ، *Pullaria* ، *Rhizous*. يعتبر *Aspergillus* له أهمية خاصة حيث تشمل الأنواع التى تم عزلها سلالات منتجة للأفلاتوكسين aflatoxin (*A.flavus*) . بالرغم من أن الفطريات عادة تكون على درجة من الأهمية تلى الخمائر ، فإن نمو الفطريات فى بعض الأحيان يسبب مشكلة أكثر أهمية فى اليوجهورت المخزن لفترات طويلة عند حوالى صفر مئوى قبل تسويقه.

١٠- الجودة الميكروبيولوجية للألبان المتخمرة

تتم عادة اختبارات الجودة الميكروبيولوجية للألبان المتخمرة لحماية المستهلك من التعرض لأية مخاطر صحية والتأكد من عدم تعرض المنتج للفساد الميكروبيولوجى خلال فترة الصلاحية المتوقعة ، وكذلك للتأكد من أن مكونات مزارع البادئ موجودة بالنسب الصحيحة ، ويعتبر ذلك على درجة كبيرة من الأهمية فى اليوجهورت حيث توجد علاقة تعاونية symbiotic بين الميكروبين فى بادئ اليوجهورت . نظريا فإن النسبة المرغوبة من *Lactobacillus* إلى *Streptococcus* هى ١ : ١ فى بادئ اليوجهورت ، ونظرا لأن سلاسل

Streptococcus تكون أكثر عرضة للتفكك فإنه يتم تعويض ذلك باستخدام نسبة ١ : ٢,٧ . يمكن تقدير الأعداد نسبيا بواسطة عد المستعمرات ، بيئة التمييز بين هذين النوعين L-S differential medium المتوفرة تجاريا التى تسمح بالتفرقة بين *Streptococcus, Lactobacillus* على أساس الشكل الظاهرى للمستعمرات ، اختزال tetrazolium chloride وتحليل الكازين تكون مناسبة . تحتاج طريقة عد المستعمرات إلى وقت ، لذلك فإن طريقة الفحص المباشر بالميكروسكوب التى تعطى معلومات مباشرة قبل الاستخدام ، أكثر شيوعا.

كما يستخدم عد ميكروبات البادئ فى الناتج النهائى كوسيلة لتقويم الطزاجة freshness عند مراكز البيع . يجب أن يحتوى اليوجهورت على كل من *Lb.delbrueckii* ssp. *bulgaricus, Str.thermophilus* بأعداد *تزيد* عن 10^8 cfu/جم ويعتبر طريقة عد المستعمرات أكثر مناسبة عند هذه المرحلة .

تستخدم بيئة إنتقائية لميكروبات *Bifidobacterium* لمتابعة الأعداد فى الألبان المتخمرة العلاجية . البيئة المرجعية تحتوى على neomycin ، paromomycin ، lithium chloride,nalidixin acid كمواد إنتقائية selective، لكن تحضير هذه البيئة يكون صعبا ،وللأستخدام الروتيني يفضل استخدام بيئة بديلة تعتمد على كلوريد الليثيوم lithium chloride وبروبينونات الصوديوم sodium propionate, .

اختبار الناتج النهائى لميكروبات غير ميكروبات البادئ عادة يكون قاصرا على تقدير عدد المستعمرات على بيئة آجار مغذى لا تحتوى على كربوهيدريت ، وكذلك عد الخمائر . قد يتم عد الخمائر بطريقة عد المستعمرات ، ويفضل استخدام بيئة إنتقائية ذات pH متعادل مثل Rose bengal-chloramphenicol (RBC) ager . عد الخمائر الموجود عقب الإنتاج مباشرة يكون منخفضا جدا ، وغالبا ما تكون الأعداد المتوقعة عند هذه المرحلة قليلا جدا . الطرق المتخصصة المتضمنة فترة تحضين أولية عند ٢٥ أو ٣٠°م تستخدم بواسطة بعض المنتجين.طرق عد المستعمرات باستخدام بيئات مثل RBC قد تستخدم أيضا لعد الفطريات ، ولكن تكون غير دقيقة .

وقد أقترح البعض ألا يزيد محتوى اليوجهورت عند تسويقه عن ١٠٠ خلية خميرة حية/مل ، إذا زاد عدد خلايا الخميرة عن ١٠٠٠/مل فإن المنتج يعتبر غير مقبولا . إذا وصل عدد الفطريات إلى ١-١٠ وحدة مكونة للمستعمرة /مل فإن جودة اليوجهورت يكون مشكوكا فيه.

بالرغم من أن المواصفات الميكروبيولوجية للألبان المتخمرة فى بعض الأحيان تتضمن *Staph.aureus* ، فإن الفحص لميكروبات مرضية معينة يعتبر غير ضروريا تحت الظروف العادية . تقدير بكتريا القولون coliforms قد يستخدم كطريقة لتقويم تلوث ما بعد المعاملات post-process contamination . موت الميكروبات نتيجة للظروف الحامضية تعنى أن التقديرات يجب أن تتم مباشرة بعد التعبئة مع تفسير الناتج بحذر.

عموما تعتبر الألبان المتخمرة آمنة ، ونادرا ما يحدث عنها تسمم غذائى بأنواعه المختلفة . السبب وراء هذه الثقة يرجع إلى مستوى الحموضة فى المنتج (حوالى ١ % حامض لاكتيك) . وفى هذه الحالة فإن البكتريا المرضية المحتمل وجودها مثل أنواع السالمونيلا *Salmonella* spp. تكون غير نشطة بدرجة كبيرة، كما أنه لا توجد سجلات موثقة تؤكد حدوث تسمم غذائى بواسطة *Staphylococcus areus* .