

## التأثير التثبيطي لبكتريا *Bifidobacterium longum* على بعض انواع البكتريا المرضية في الحليب المتخمّر

خزعل شعبان عبد الله

قسم علوم الاغذية / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل

### الخلاصة

هدفت الدراسة لمعرفة تأثير بكتريا *Bifidobacterium longum* على اربعة انواع من البكتريا المرضية في الحليب المتخمّر وهي بكتريا *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus* , *Klebsiella pneumoniae* , *Salmonella typhi* في الحليب كل على حدى ثم لقت كل عينة منها ببكتريا *Bifidobacterium longum* ثم حضنت الدوارق على 37 م لمدة سبعة ايام . تم اجراء الفحوصات البكتريولوجية والكيميائية على العينات في الاوقات zero time ثم كل 24 ساعة لغاية اليوم السابع ، حيث تم حساب أعداد البكتريا المرضية وقياس الحموضة والاس الهيدروجيني وحساب نسبة الانخفاض في اعداد خلايا البكتريا المرضية في نهاية فترة الحضانة ، كما تم عمل عينة مقارنة لكل نوع من الانواع الاربعة لملاحظة تأثير وجود البكتريا *B. longum* ، اظهرت النتائج ان اعلى نسبة في الانخفاض كانت في البكتريا *E.coli* اذ بلغت 98.85% مقارنة مع 38.31% لعينة المقارنة لنفس البكتريا في اليوم السابع من الحضانة . كما كانت اعلى حموضة في نفس اليوم إذ بلغت 1.11% حامض لاكتيك . اما بالنسبة للأنواع الاخرى من البكتريا المرضية فقد بلغت نسبة الانخفاض في أعداد الخلايا 93.55% ، 93.83% ، 92.49% للأنواع *Staphylococcus aureus* , *Salmonella typhi* , *Klebsiella pneumoniae* على التوالي.

الكلمات الدالة :

البكتريا المرضية ، الحليب المتخمّر ،  
*Bifidobacterium longum*  
للمراسلة :

خزعل شعبان عبدالله

البريد الالكتروني:

[Dr.khazal.aldally17@gmail.com](mailto:Dr.khazal.aldally17@gmail.com)

## The Inhibition Effect of *Bifidobacterium longum* on Some Pathogenic Bacteria in Fermented Milk

Khazal Sb. Abdullah

Food Science Dept. - College of Agric. & Forestry - Mosul University

### ABSTRACT

**Key words :**  
Pathogenic Bacteria ,  
Fermented Milk ,  
*Bifidobacterium longum*

**Correspondence:**  
Khazal Sb Abdulla  
**E-mail:**  
[Dr.khazal.aldally17@gmail.com](mailto:Dr.khazal.aldally17@gmail.com)

this study was aimed to know the effect of *Bifidobacterium longum* on some pathogenic bacteria such as *Staphylococcus aureus* . *Salmoella typhi* , *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia*, These pathogenic bacteria were added to the milk as alone .the milk was inoculated by *Bifidobacterium longum* . then the flasks were incubated at 37 C for seven days . Bacteriological and chemical test were performed on all flask every day ( 24 hours ) . Total count for pathogenic bacteria . acidity and pH were measured and ratio of decreasing of pathogenic bacteria was calculated during incubation period until seventh day of incubation . Control samples for each one of pathogenic bacteria without *B. longum* . The results were shown that the higher ratio of decreasing was *E. coli* which reached 98.85 % compared with control sample which reached with 38.31% at the end of the incubation period. The higher acidity was reached 1.11% as lactic acid in the same incubation period. but the other pathogenic bacteria : *Staph. aureus* , *Samonella typhi* , and *klebsiella pneumoniae* . , were shown 93.83 % . 93.55% . 92.49 % respectively .

## المقدمة:

ازداد الاهتمام في السنوات الاخيرة بالبكتريا العلاجية (Probiotic bacteria) والتي هي تابعة لبكتريا حامض اللاكتيك ، وتعد بكتريا *Bifidobacterium longum* احد انواع البكتريا العلاجية التي تمتاز بصفاتها العلاجية و تأثيرها على البكتريا المرضية (Harvioje واخرون ،2006) وقد اتجهت الدراسات الحديثة الى تنمية البكتريا العلاجية واعطائها للانسان بأعداد كافية لتحسين الفلورا الطبيعية له في الامعاء ومن ثم الاستفادة من تأثيرها الايجابي على صحة الانسان إذ وجد انها تنشط النظام الدفاعي للجسم وتنتج بعض المواد المثبطة للأحياء المجهرية المرضية إذ يكون لها فعالية في معالجة الاسهال خاصة عند الاطفال كما لوحظ ان نواتج بكتريا حامض اللاكتيك الايضية كالأحماض العضوية وبيروكسيد الهيدروجين يكون لها تأثير سلبي على بكتريا القولون وتمنع الاعفان (الخفاجي ،2008) وقد درس Mohammed و Younis (1990) تأثير بكتريا بادي اللبن اليوكرت على بعض انواع البكتريا المرضية حيث لاحظا ان لبكتريا *L. bulgaricus* تأثير كبير على البكتريا المرضية . و اشار الشيخ ظاهر (1999) الى ان بعض انواع البكتريا العلاجية لها القدرة على تثبيط بكتريا *E.coli* وبعض انواع ال *Salmonella & Shigella* SP. وذكرت الخفاجي (2008) ايضا ان تأثير البكتريا العلاجية على البكتريا المرضية يكون خلال انتاج مواد مضادة للبكتريا المرضية وكذلك من خلال التنافس على مواقع الاتصال و التنافس على المغذيات في الامعاء كما درس Vadran واخرون (2007) تأثير بكتريا *B. longum* المخمرة لحليب الابقار والماعز على بكتريا *Salmonella enteritidis* ولاحظ ان تأثيرها على بكتريا السالمونيلا في حليب الابقار والماعز المخمر كان اكبر مما هو في حليب الابقار المخمر . كما لاحظوا بان هناك زيادة في اعداد بكتريا *B. longum* في حليب الماعز عما هو عليه في حليب الابقار تبعه زيادة الحموضة في جميع مراحل التخمر و اشار Tharmaragi و Shah (2009) الى تأثير البكتريا العلاجية على بكتريا *Bacillus cereus* كان اكثر مما هو عليه في حالة بكتريا *E.coli*.

## مواد البحث وطرقه :

تم الحصول على مزرعة بكتريا *B. longum* من مختبرات قسم علوم الاغذية /كلية الزراعة والغابات/ جامعة الموصل، والتي مصدرها من شركة Chr.Hansen الدنماركية ثم نشطت المزرعة عدة مرات على وسط حليب فرز معقم على 121 م لمدة ربع ساعة للحصول على اعلى نشاط بكتيري، ثم فحصت مجهريا للتأكد من نقاوتها وخلوها من أي تلوث ، اما مزارع البكتريا المرضية فقد تم الحصول عليها من مختبرات قسم علوم الحياة / كلية العلوم/ جامعة الموصل. وفحصت مجهريا أيضا للتأكد من نقاوتها وخلوها من التلوث.

استخدم حليب الأبقار الذي تم الحصول عليه من حقل كلية الزراعة والغابات قسم الثروة الحيوانية وتم تعديل نسبة الدهن فيه الى 3% و نسبة المواد الصلبة اللاذهنية 11% باستخدام حليب الفرز المجفف . عومل الحليب بالحرارة على درجة 85 م لمدة 30 دقيقة ثم برد الى 37 م ولقح بالبكتريا المرضية ثم اضيفت بكتريا *B. longum* بنسبة 2% ، حضنت الدوارق على 37 م لمدة سبعة ايام ثم اجريت الفحوصات البكتريولوجية و الكيمائية في العينات كل 24 ساعة وحتى اليوم السابع حيث تم تقدير اعداد البكتريا *E.coli* باستخدام الوسط الغذائي MacConky Agar و اعداد البكتريا *Staphylococcus aureus* باستخدام الوسط Manitol salt Agar وأعداد بكتريا *Salmonella typhi* والبكتريا *Klebsiella pneumoniae* باستخدام الوسط S.S.Agar وحسب ماورد في Anonymous (1978) كما تم تقدير الحموضة والاس الهيدروجيني (pH) لجميع العينات ايضا حسب Tamime و Robinsin (1985). تم عمل عينة لمقارنة Control وذلك بتلقيح الحليب بالبكتريا المرضية فقط (بدون البكتريا العلاجية *B. longum*) وتم تقدير اعداد البكتريا المرضية فيها في نفس الاوقات ايضا . كما تم حساب نسبة الانخفاض في اعداد الخلايا حسب الطريقة التي ذكرها عبدالله (1988) .

## النتائج والمناقشة :

يوضح الجدول رقم (1) تأثير بكتريا *B. longum* على البكتريا المرضية حيث يلاحظ وجود انخفاض في اعداد البكتريا *E. coli* بشكل ملحوظ إذ كان العدد 261 و.ت.م./مل في الوقت صفر ثم انخفض الى 189 و.ت.م./مل بعد مرور 24 ساعة من الحضان واستمرار الانخفاض الى ان اصبح اقل من 10 و.ت.م./مل في اليوم السابع من الحضان . وكانت الحموضة 0.16% عند الوقت صفر قابلها اس هيدروجيني 6.50 ثم ازدادت الحموضة في اليوم الثاني لتصل الى 0.42% قابلها اس هيدروجيني 5.83 ثم استمرت الحموضة بالازدياد والرقم الهيدروجيني بالانخفاض الى ان وصلت الحموضة في اليوم لسابع الى 1.11% يقابلها اس هيدروجيني 4.11 بينما كانت اعداد البكتريا *E. coli* في عينة المقارنة 321 و.ت.م./مل عند الوقت صفر واستمر هذا العدد بالزيادة الى ان وصل الى 677 و.ت.م./مل في اليوم الثالث من الحضان ثم بدا بالانخفاض التدريجي الى ان وصل الى 198 و.ت.م./مل في اليوم السابع وفي حالة البكتريا *Staph. aureus* كان العدد 133 و.ت.م./مل عند الوقت صفر يقابله درجة الحموضة 0.16% و اس هيدروجيني 6.60 ثم انخفض هذا العدد الى اقل من 10 و.ت.م./مل في اليوم السابع يقابله حموضة 1.18% واس هيدروجيني 4.00 ، وكانت اعداد بكتريا *Staph. aureus* في عينة المقارنة 256 و.ت.م./مل ثم ازدادت لتصل الى 450 في اليوم الثاني ثم بدأت بالانخفاض ليصل العدد الى 122 في اليوم السابع مقارنة مع اقل من 10 و.ت.م./مل في العينة الاعتيادية . بينما البكتريا *Salmonella typhi* كانت اعدادها 178 و.ت.م./مل عند الوقت صفر ثم انخفض هذا العدد ليصل الى 11 و.ت.م./مل في اليوم السابع وكانت الحموضة 0.94% يقابلها اس هيدروجيني 4.10 كما كانت اعداد البكتريا في عينة المقارنة 166 و.ت.م./مل عند الوقت صفر لتزداد الى 201 و.ت.م./مل في اليوم الرابع ثم تعود وتنخفض ليصل العدد 46 و.ت.م./مل مقارنة مع 11 و.ت.م./مل في العينة الاعتيادية . اما في حالة البكتريا *Klebsiella pneumoniae*. فقد كان العدد 155 و.ت.م./مل عند الوقت صفر ثم استمر بالانخفاض ليصل الى اقل من 10 في اليوم السابع من الحضان وبدرجة حموضة 0.98% واس هيدروجيني 3.90 مقارنة مع عينة المقارنة حيث كانت 411 و.ت.م./مل عند الوقت صفر ثم انخفضت الى 112 في اليوم السابع . وبشكل عام فقد يرجع الانخفاض في اعداد البكتريا المرضية الى ارتفاع الحموضة الناتجة عن نشاط البكتريا *B. longum* و انخفاض الاس الهيدروجيني الى درجة لا تتحملها هذه البكتريا وهذا يتفق مع ما ذكره Mohammed Younis (1990) من ان ارتفاع الحموضة يحد من نشاط البكتريا المرضية ، وكذلك يتفق مع ما ذكره Vedran وآخرون (2007) من ان البكتريا المرضية تكون حساسة جدا لزيادة الحموضة . وقد يرجع انخفاض اعداد البكتريا المرضية ايضا الى افراز بكتريا *B. longum* لبعض المواد المضادة لنمو البكتريا المرضية والتي منها البكتريوسين . وهذا يتفق مع ما اشارت اليه الخفاجي (2008) من ان البكتريا العلاجية المقطرة على افراز بعض المواد المضادة لنمو البكتريا المرضية كالبكتريوسين وكذلك يتفق مع ما ذكره Martinez وآخرون (2013) من ان افراد الجنس *Bifidobacterium* تنتج مواد مثبطة لنمو البكتريا المرضية والتي منها بكتريا *E. coli*، وبكتريا *Listeria* ومن هذه المواد البكتريوسين . كما يتفق ايضا مع ما ذكره Zinedine وFaid (2007) اللذان اشارا الى ان لانواع الجنس *Bifidobacterium* فعل مثبط للبكتريا المرضية وان هذا الفعل المثبط يعود لانتاجها للبكتريوسينات و بيروكسيد الهيدروجين والحموضة العالية. يوضح الجدول (2) نسبة الانخفاض الحاصلة في اعداد البكتريا المرضية منذ اليوم الاول الى نهاية فترة الحضان إذ بلغت في حالة بكتريا *E. coli* 98.85% لانسبة الانخفاض مقارنة مع 38.31% لعينة المقارنة . وفي حالة البكتريا *Staphy. aureus* بلغت نسبة الانخفاض 92.49% مقارنة مع 52.35% في عينة المقارنة . وفي حالة بكتريا *S. typhi* كانت نسبة الانخفاض 93.83% بالمقارنة مع 72.29% لعينة المقارنة . اما في حالة بكتريا *Klebsiella pneumoniae*. فقد كانت نسبة الانخفاض في نهاية فترة الحضان 93.55% مقارنة مع 72.75% لعينة المقارنة .

وقد يعود الاختلاف في نسب الانخفاض بين الانواع الاربعة من البكتريا المرضية الى مدى تحمل كل نوع للحموضة المتكونة ومدى حساسيته لها وكذلك لقابلية كل نوع على مقاومة الواد المثبطة التي تفرزها بكتريا *B. longum*. وقد يعود الانخفاض في اعداد البكتيريا في عينة المقارنة إلى تراكم نواتج عمليات الأيض المختلفة وقلّة الغذاء المتوفر في الوسط. ويستنتج من ذلك من ان لبكتريا *B. longum* تأثير كبير على البكتريا لمرضية في اللبن المنخمر . وعليه ينصح باستخدام البكتريا العلاجية والتي منها بكتريا *B. longum* في انتاج الالبان المتخمرة لما لها من فائدة كبيرة في التأثير على البكتريا المرضية .

جدول (1) يوضح تأثير بكتريا *B.longum* على البكتريا المرضية

اليوم السابع	اليوم السادس	اليوم الخامس	اليوم الرابع	اليوم الثالث	اليوم الثاني	اليوم الاول	بداية التصنيع	الوقت باليوم	
198	221	430	620	677	425	390	321	المقارنة و.ت.م./مل	<i>E.coli</i>
10>	17	21	34	89	166	189	261	العدد و.ت.م./مل	
1.11	1.08	0.96	0.93	0.88	0.7	0.42	0.16	الحموضة %	
4.11	4.21	4.5	4.62	4.91	5.29	5.83	6.55	pH	
122	155	286	311	360	450	339	256	المقارنة و.ت.م./مل	<i>Staphylococcus aureus</i>
10>	10	14	44	65	92	121	133	العدد و.ت.م./مل	
1.18	0.97	0.91	0.86	0.71	0.66	0.4	0.16	الحموضة %	
4	4.2	4.31	4.95	5.2	5.7	6.1	6.6	pH	
46	59	188	201	219	213	187	166	المقارنة و.ت.م./مل	<i>Salmonella typhy</i>
11	17	33	39	83	112	169	178	العدد و.ت.م./مل	
0.94	0.88	0.73	0.61	0.55	0.37	0.28	0.16	الحموضة %	
4.1	4.5	4.90	5.1	5.23	5.71	6	6.6	pH	
112	156	199	221	356	408	456	441	المقارنة و.ت.م./مل	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
10>	11	23	45	76	116	142	155	العدد و.ت.م./مل	
0.98	0.68	0.63	0.55	0.45	0.34	0.21	0.16	الحموضة %	
3.9	4.8	4.9	5.1	5.5	6	6.31	6.59	pH	

جدول (2):نسبة الانخفاض ( % ) في اعداد خلايا البكتريا المرضية وعينات المقارنة .

<i>B. longum</i>	المقارنة	الفترة (اليوم)	نوع البكتريا
27.58	-	1	<i>E.coli</i>
12.16	-	2	
46.38	-	3	
61.79	8.41	4	
38.23	30.64	5	
19.04	48.60	6	
82.35	10.40	7	
98.85	38.31	نهاية الحضان	
9.02	-	1	<i>Staphylococcus aureus</i>
23.96	-	2	
29.34	20.00	3	
32.30	13.61	4	
68.18	8.03	5	
28.57	45.80	6	
60.00	21.29	7	
92.49	52.35	نهاية الحضان	
5.05	-	1	<i>Salmonella typhy</i>
33.72	-	2	
25.89	-	3	
53.01	8.21	4	
43.58	6.46	5	
22.72	68.61	6	
35.29	22.03	7	
93.83	72.29	نهاية الحضان	
8.38	-	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
18.30	10.52	2	
34.48	12.74	3	
40.78	37.92	4	
48.88	9.95	5	
52.17	21.60	6	
72.72	28.20	7	
93.55	72.75	نهاية الحضان	

المصادر :

الخفاجي ، زهرة محمود (2008) الاحياء العلاجية من اجل الحياة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ،بغداد ،العراق .  
الشيخ ظاهر ، عامر عبدالرحمن (1999) دراسة مقارنة للصفات الكيموحيوية لعزلة محلية وسلالة مستوردة من بكتريا  
*L.acidophilus* واستخدامها في تصنيع منتجات علاجية .اطروحة دكتوراه ، قسم الصناعات الغذائية /كلية الزراعة  
/جامعة بغداد

- عبدالله ، خزعل شعبان (1988) العوامل المؤثرة على نشاط بادي اللبن في مصنع البان الموصل ،رسالة ماجستير ،كلية الزراعة والغابات /جامعة الموصل .
- Anonymous( 1978) Standard Method for The Examination of Dairy Products 17th ed. American Public Health Association .
- Hrvoje,P.;J.Hardi and V.Slacanac ( 2006 ) . inhibitory Effect of Goat and Caw Fermented Milk By *Bifidobacterium longum* On *Serratia marcescens* and *Campylobacter jejuni* .Czech Journal of\_ food Science 24:164-170.
- Martinez , E.M.;Attilio C.and D.C.Paul (2013). Bacterocin production by *Bifidobaclerium sp.* A Review Biotechnology Advances 31 ( 4 ) : 482-488.
- Mohammed ,F.o.and Y.A.Younis( 1990 ). Effect of yoghurt culture on some pathogenic microorganisms in fermented milks. Egyptain Journal of Dairy Science 18:369-375.
- Tharmaraj. N. and N.P. Shah (2009) . Antimicrobial effects of probiotics against selected pathoginc and spoilage bacteria in cheese based dips. International Foods Research Journal 16:261 -276.
- Tmaime , A.Y. and R. K. Robinson ( 1985 ). Yoghurt science and technology, first ed. printed in Great Britain By A.Wheaton and Co. Ltd Ester
- Vedran S.,H.Jovica ,C.Darko (2007). Inhibition of the In vitro growth of *Salmonella enteritidis* by goat and cow milk fermentation with probiotic bacteria *Bifidobacterium longun* Bb -46 .Czech Journal of Food Science 25 (6):35I-338.
- Zinedine , A. and M. Faïd (2007) . Isolation and characterization of strains of *Bifidobacterium* with probiotic properties in vitro. World Journal of Dairy and food Science 2(I):28-34.