تأثير الحليب المتخمرعلى كوليسترول الدم في الفئران عند تغذيتها على غذاء عالي الكوليسترول .

عمر عادل عبود الدرة عامر خلف عزيز الدروش

***قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة – جامعة بغداد .**

الخلاصة

شملت الدراسة الحالية على تغذية ثمانية عشر فأرا على عليقة غنية بالكوليسترول (0.3 %) لمدة أسبوعين لغرض رفع الكوليتسرول في الدم (Hypercholesterolemia) و قسمت إلى ثلاث مجموعات ست فئران لكل منها. غذيت الأولى على عليقة غنية بالكوليسترول ثم حليب فرز ورمز لها B على أنها معاملة السيطرة، وغذيت المجموعة الثانية(L) على حليب فرز متخمر بفعل *Lactobacillus acidophilus* . أما المجموعة الثالثة(B) فقد استهلكت حليب فرز متخمر ببكتريا *Bifidobacterium* spp. . اشارت النتائج الى ظهور زيادة معنوية في كمية الغذاء المستهلك من قبل المجموعة L ($P < 0.05$) ، و لم تظهر فروقات ملحوظة في كفاءة التحويل الغذائي. أظهرت النتائج فروقات ($P < 0.05$) في محتوى البراز من الدهن وكان أعلى مستوى للدهن في المجموعة L بالمقارنة مع المجموعتين Bو S . لم تكن هنالك فروقات معنوية في محتوى الدهن من الكوبروستانول بين المجموعتين L وB. و أوطأ مستوى كان في مجموعة السيطرة S.انخفض مستوى الكوليسترول المرتفع بعد أسبوع من المعاملة إلى مستويات مختلفة معنويا ($P < 0.05$) و أعلى معدلات الانخفاض كانت في المجموعة L و أوطاها في المجموعة S .

المقدمة

لوحظ سابقا ان تلقيح الحليب الفرز ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* قد عمل على زيادة العوامل المخفضة لكوليسترول الدم في الجرذان اثناء التخمر و لم يؤثر الحليب الفرز لوحده فى خفض كوليسترول الدم في الجرذان (Grunewld ، 1982) و الإنسان (Thompson وآخرون ، 1982) .من ناحية اخرى لم يلاحظ Pulusani و Rao (1983) فروقات على كوليسترول مصل الدم للجرذان لاستعمال الحليب الفرز او الحليب الفرز الملقح بانواع من بكتريا حامض اللاكتيك و منها *Lactobacillus acidophilus في تغذيتها* . وبشكل عام فان ارتفاع نسبة الكليسترول في الدم يعد خطرا على سلامة الأوعية القلبية ومن الضروري خفضه لتفادي الأزمات القلبية (Ibeaghu-Awemu وآخرون ، 2009) و استنتج Robinson و آخرون (1985) انه لا يمكن اعتبار الحليب الكامل المستهلك بالكميات الاعتيادية او حامض الاوروتيك Orotic acid كمواد منخفضة لكوليسترول الدم عندما يكون مستوى كوليسترول و دهون الدم مرتفعا . كذلك ذكر Nakajima و آخرون (1992) و Beena و Prassad (1997) إن لبكتريا *Lactococcus cremoris* ssp . *lactis* و *Bifidobacterium bifidum* دورا في خفض كوليسترول الدم. و قد ذكر في مصادر اكثر حداثة (St-Onge ، 2000) بأنه لم يلاحظ أي تأثير للحليب الكامل على خفض الكولسترول وقد لوحظ ارتفاع الكولسترول عالي الكثافة (الحميد) -HDL في الفئران التي تم تغذيتها على اللبن البفيدي Bifidus yoghurt والحليب الفرز وانخفاض في مجموعة الفئران المتغذية على اللبن الأعتيادي والحليب الفرز المجفف والشرش المكثف محلل اللاكتوز.

تاريخ استلام البحث 9 / 2 / 2011 .
تاريخ قبول النشر 3 / 4 / 2011 .

هدفت الدراسة الحالية الى معرفة مدى تاثير اضافة الحليب الفرز المتخمر ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* و*Bifidobacterium spp.* كل على انفراد في خفض مستوى الكوليسترول المرتفع

في مصل دم الفئران Hypercholesterolemia عن طريق تقدير الكوليسترول في مصل الدم و محتوى البـواز من الدهن و محتوى دهن البراز من احماض الصفراء الحرة و الكوبروستانول (احد مواد الايض الناتجة من الكوليسترول بفعل البكتريا) و معرفة الاعداد البكتيرية البرازية.

المواد و طرائق البحث

تم اعتماد العليقة التي اعتمدها المعهد الأميركي للتغذية الخاصة بالدراسات التغذوية للجرذان والفئران والتي أشار إليها Bieri و آخرون (1981) مع إجراء التعديلات الآتية:

1. الاستغناء عن الألياف في العليقة لاحتمال حدوث بعض التداخل بينها وبين معاملات التجربة لدورها في طرح أحماض الصفراء إلى البراز.
2. استعمال زيت زهرة الشمس المجهزة من الشركة العامة للزيوت النباتية في بغداد بدلاً من زيت الذرة.
3. تم تحضير خليط الأملاح مختبرياً وحسب النسب المطلوبة لإعداد العليقة، الموضحة في الجدول أدناه. وقد استعمل خليط فيتامينات نوع (كوليفيت ام) الأردني المنشأ.

جدول1. مكونات ونسب خليط الأملاح AIN(1) المحضر مختبرياً والمستعمل في العليقة* .

Ingredient	g/kg mixture
Calcium phosphate	500.0
Sodium chloride	74.0
Potassiumcitrate monohydrate	220.0
Potassium sulfate	52.0
Magnesium oxide	24.0
Manganous carbonate	3.5
Ferric citrate	6.0
Zinc carbonate	1.6
Cupric carbonate	0.3
Potassium iodate	0.01
Sodium selenite	0.01
Chromium potassium sulfate	0.55
Sucrose	To make 1000.0

* استعمل بنسبة 3.5% من العليقة.

(1) American Institute of Nutrition.

4. وتمت إضافة الكوليسترول بنسبة 0.3% من وزن العليقة لجعل العليقة عليقة قياسية غنية بالكوليسترول وليكون نظام التغذية مدعماً بالكوليسترول (Nakajima وآخرون ، 1992 ؛ Buck و Gilliland ، 1994). وقد احتوت العليقة المستعملة في التغذية على 50 غم سكروز و 20 غم كازين و 15 غم نشا الذرة المحلي و 5 غم من زيت زهرة الشمس و 3.5 غم من خليط المعادن AIN و 1.1 غم خليط فيتامينات و 1.1 غم ترترات الكولين و 0.3 غم مثيونين.مزجت مكونات العليقة الجافة مع بعضها لكل مجموعة من الفئران لوحدها، وأذيب الكوليسترول في الزيت الساخن وبصورة تدريجية ثم وضعت

المكونات الجافة في الخلاط الكهربائي مع إضافة الزيت المذاب فيه الكوليسترول وبصورة تدريجية لضمان توزيع متجانس للزيت.حضر الحليب الفرز المسترجع من حليب فرز مجفف فرنسي المنشأ وبنسبة 10%، وقد استعمل في التغذية بلا تخمير أو بعد تلقيحه ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* 43121 المستحصل عليها من ATCC، وهي ذات مصدر حيواني أو ببكتريا *Bifidobacterium* spp. المجهزة من مختبرات قسم التغذية والتصنيع الغذائي / كلية الزراعة / الجامعة الأردنية.اجري تعقيم الحليب الفرز على درجة حرارة 121° م لمدة 10 دقائق، والتلقيح بنسبة 1% من المزرعة البكتيرية المحضرة سابقاً لكل من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* 43121 وبكتريا Bif*idobacterium* spp. كل على انفراد وتم الحضن على درجة حرارة 37°م ولمدة حضن 16 ساعة بالنسبة لبكتريا *Bifidobacterium* spp. و 18 ساعة بالنسبة لبكتيريا *Lactobacillus acidophilus* لضمان الحصول على الأعداد البكتيرية المطلوبة في الحليب المتخمر.تم استعمال ذكور فئران التجارب البيضاء المجهزة من شركة الكندي لإنتاج الأدوية واللقاحات البيطرية وبعمر 6-7 أسابيع وبعدد 18 فأراً تتضمن ثلاث مجموعات تضمنت كل منها ست فئران (S ,L, B).

غذيت فئران المجموعة الأولى(S)، على العليقة نفسها الغنية بالكوليسترول لمدة أسبوعين ثم استمرت التغذية على العليقة قياسية لمدة اسبوعين وقد تم تقدير الكوليسترول الكلي في مصل دم الفئران ثلاث مرات في بداية التجربة (Zero day)، وبعد مدة أسبوعين من مدة التجربة وبعد مدة أربعة أسابيع من التجربة، وسحب الدم من المنطقة القلبية بوساطة أنبوبة سحب دم دقيقة وبعد مدة صيام حوالي 16-18 ساعة ثم أجريت عملية طرد مركزي بسرعة 3000 د/دقيقة لمدة ربع ساعة ثم سحب الراشح، وحفظ في ظروف التجميد لحين التقدير.استعملت طريقة (كلوريد الحديديك Ferric Chloride Method) في تقدير الكوليسترول(Hanok ، 1969). تم استخلاص المواد الدهنية من براز الحيوانات بالاعتماد على طريقة Folch و آخرون (1957) ، وتم تقدير اثنين من أحماض الصفراء الحرة، حامض الكوليك وحامض دي أوكسي كوليك في الجزء الدهني من المادة البرازية لحيوانات التجربة في نهاية مدة التجربة البالغة أربعة أسابيع اعتماداً على تقنية غروماتوكرافي الطبقة الرقيقة Thin-Layer Chromatography (TLC) وكما ورد في Krichevisky و Rothblat (1963) .

قدر الكوبروستانول في المادة الدهنية البرازية المستخلصة بطريقة Folch و آخرون (1957) وباستعمال تقنية (TLC) باستعمال مكونات المذيبات نفسها المستعملة في تقدير أحماض الصفراء مع استبد ال الميثانول بالأسيتون وقدر الكوبروستانول بوساطة قراءة الموجات بجهاز Densitometer أيضاً ولكن باستعمال الأشعة فوق البنفسجية (UV Light) لكون هذه المادة وميضية.

قدرت أعداد البكتيريا في نوعي الحليب المتخمر مباشرة قبل إعطا ئه للفئران، والمحضر أسبوعياً واعتمدت طريقة العد التي أشار إليها Speck (1978) والمستعم لة لتقدير أعداد بكتريا Lactobacilli في الحليب ومنتجات الألبان الأخرى وقدرت أعداد الـ Lactobacilli الحية النامية على وسط MRS الصلب وفي ظروف لا هوائية ومشبعة بغاز CO_2 وباستعمال الحاضنة اللاهوائية كما ورد في (Kiss, 1983.).تم اعتماد الطريقة التي ذكرها Harigrove وAlford (1980) في تحديد بعض المؤشرات الوزنية الخاصة بالتجربة.تم حساب كفاءة التحويل الغذائي حسب القانون: **كفاءة التحويل الغذائي = معدل وزن العليقة المستهلكة÷ الزيادة الوزنية لفئران المجموعة.**

استعمل التصميم العشوائي الكامل للتجربة بأعداد مختلفة (C.R.D) في تحليل البيانات وفقاً للنموذج الرياضي الآتي:

$$Y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

حيث أن M = المتوسط العام. T_i = تأثير المعاملات. E_{ij} = الخطأ العشوائي. Y_{ij} = قيمة المشاهدة j العائدة للمعاملة i.

استخدم النموذج الإحصائي الجاهز SAS في تحليل البيانات وباستعمال الحاسبة الإلكترونية.

النتائج والمناقشة

لقد تم تنمية بكتريا *Lactobacillus acidophillus* و .*Bifidobacterium* spp كل على انفراد في الحليب المتخمر و تحت ظروف التحضير و الحضن و التبريد بحيث تم الحصول على اعلى عدد بكتيري و الذي اعتمده Grunwahd (1982) في تغذية جرذان تجربته و تمت المحافظة على هذه الاعداد بحيث لم تظهر فروقات معنوية بين هذه الاعداد خلال التجربة و كانت بحدود 10^7 و.ت.م. / مل. أظهر الجدول (2) عدم وجود فروقات معنوية في أعداد بكتريا *Lactobacillus acidophillus* وبكتريا .*Bifidobacterium* spp في الحليب المتخمر عند التغذية وخلال الأسابيع الأربعة من مدة التجربة.

إن استخدام مدة حضن خاصة بكل كائن كان له الدور في الحفاظ على مستوى محدد ومتساوٍ تقريباً من الأعداد البكتيرية في نوعي الحليب المتخمر كما أن تحضير الحليب المتخمر، والمستعمل في التغذية بفترات منتظمة خلال مدة التجربة وحفظه في درجة حرارة التبريد لأغراض استهلاكه يعد عاملاً مهماً في ثبات الأعداد البكتيرية المستهلكة من قبل الحيوانات خلال مدة التجربة وهذا ما لاحظه Rao و آخرون (1981) واختير العدد البكتيري المرتفع في هذه الدراسة استناداً إلى بحوث سابقة في مجال خفض كوليسترول مصل دم الجرذان التجريبية وهذا العدد استعمله Grunwald (1982) واستعمل فيها الجرذان أنموذجاً تجريبياً.

جدول 2. الأعداد الحية و.ت.م. لكل من بكتريا 43121 *Lactobacillus acidophillus* وبكتريا *Bifidobacterium* spp ولأربعة أسابيع في الحليب الفرز التخمر (L و B) والمستعمل في تغذية الفئران.

المعاملات	الأسبوع الأول	الأسبوع الثاني	الأسبوع الثالث	الأسبوع الرابع
L ⊕⊗	11.8×10^7 a	17.3×10^7 a	10.3×10^7 a	62.0×10^7 a
B ⊕⊗	17.8×10^7 a	19.6×10^7 a	18.5×10^7 a	16.9×10^7 a

⊗: القيم تمثل كل منها معدل قيمتين في الأسبوع الواحد، الأولى في بداية الأسبوع والثانية في نهاية الأسبوع.
⊕: استعملت ثلاث مكررات في عملية العد ولكل معاملة.
a: عدم وجود فروقات معنوية في أعداد الخلايا لكل نوع من أنواع الحليب المتخمر والمستعمل في التغذية.

يبين جدول (3) عدم وجود فروقات معنوية بين معاملات التجربة الثلاثة S و L و B في أعداد البكتريا البرازية، وقبل بدء التغذية بالحليب الفرز S والحليب المتخمر L و B، وهذه النتائج غير متفقة مع النتائج التي توصل إليها Harris و آخرون (1976) ، وحددت تلك النتائج أعداد البكتريا اللاهوائية البرازية بأعداد تصل إلى حوالي 10^9 خلية/غم براز، وفي الظروف التقليدية للفئران أي بلا تدعيم بالبكتريا وهذا التباين في النتائج قد يكون بسبب اختلاف سلالة الحيوان المستعمل في التجربة، ولاختلاف كفاءة الوسط الزرعي المستعمل في التجربة، وقد يكون هنالك تاثير للتدعيم.

من ناحية أخرى فقد لوحظ بعد أسبوعين من المعاملات وجود زيادات معنوية على مستوى احتمالية ($p < 0.01$) للمجموعة L والتي تم فيها تغذية الفئران على حليب متخمر ببكتريا *Lactobacillus acidophillus* 43121 مقارنة بالمعاملات الأخرى S و B اللتين لم تكن بينهما فروقات معنوية في أعداد الخلايا البكتيرية اللاهوائية، وهذا الارتفاع في أعداد البكتريا اللاهوائية في براز هذه المجموعة يعد مؤشراً إيجابياً على قدرة السلالة البكتيرية *Lactobacillus acidophillus* 43121 على الاستيطان في أمعاء الفئران؛ لأن تلك البكتريا كانت من مصدر حيواني. وهذه النتيجة اتفقت مع Itoh و آخرون (1987) من حيث زيادة كبيرة في أعداد بكتريا Lactobacilli اللاهوائية في براز الفئران نتيجة التغذية المدعمة ببكتريا*Lactobacillus acidophillus* .

ويبين جدول (3) استمرار زيادة أعداد بكتريا Lactobacilli اللاهوائية في براز فئران المجموعة L بعد أربعة أسابيع من المعاملة بالحليب (L)، وهذه النتائج متفقة مع ما وجده Aklin و آخرون (

1997) من أعداد للبكتريا اللاهوائية البرازية التي حددها بـ 10^{10}-10^{11} و.ت.م/غم؛ لاستعمال هذه البكتريا في تغذية الفئران ولمدة أربعة أسابيع أيضاً.

جدول 3. أعداد بكتريا Lactobacilli و.ت.م./ غم البرازية الحية النامية على الوسط الصلب MRS في ظروف لا هوائية للفئران التي استهلكت عليقة غنية بالكوليسترول إضافة إلى التغذية بالحليب الفرز والحليب الفرز المتخمر L و B.

المعاملات	قبل بدء المعاملة	بعد أسبوعين من المعاملة	بعد أربعة أسابيع من المعاملة
S⊗	6.2×10^7 a	5.0×10^7 b	7.0×10^7 c
L⊗	4.1×10^7 a	5.7×10^9 a	26.1×10^{10} a
B⊗	3.5×10^7 a	11.5×10^7 b	8.8×10^8 b

*الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى فروقات معنوية ($P < 0.01$).
⊗ استعملت ثلاث مكررات للمعاملة الواحدة.

يظهر الجدول (4) وجود فروقات غير معنوية ($p > 0.05$) في أوزان الحيوانات في المجموعات الثلاث S و L و B خلال أسبوعين من التغذية على عليقة غنية بالكوليسترول وبمستوى 0.3%. إن عدم وجود فروقات في الوزن الابتدائي بين المعاملات S و L و B قد يعود إلى ثبات كميات الغذاء المستهلك في كل يوم ولمجموعات التجربة كافة قبل البدء بالمعاملات. إن الأوزان الابتدائية الملاحظة في جدول (4) تمثل الأوزان قبل إعطاء المعاملات للفئران. كما يلاحظ عدم وجود فروقات معنوية بين مجموعات التجربة فيما يخص الوزن النهائي للفئران عند نهاية إعطاء المعاملات، علماً أن مدة إعطاء المعاملات هي أسبوعان وكانت الفئران فيها تتغذى على عليقة قياسية، وخالية من الكوليسترول مع التغذية بالحليب الفرز بالنسبة لفئران المعاملة S ونوعي الحليب الفرز L و B على التوالي ويلاحظ كذلك ثبات وعدم وجود فروقات معنوية ($p > 0.05$) بين المجموعات الثلاث فيما يخص معدل الزيادة الوزنية للفئران.

جدول4. معدل استهلاك الغذاء والزيادة الوزنية بعد مدة أسبوعين من التغذية للفئران التي استهلكت العليقة الخالية من الكوليسترول إضافة إلى الحليب الفرز والحليب الفرز المتخمر L و B.

المعاملات	الوزن الابتدائي (غم)	الوزن النهائي (غم)	الزيادة الوزنية (غم/أسبوعين)	استهلاك الغذاء (غم/أسبوعين)	**كفاءة التحويل الغذائي**
S ⊗	24.02 a	29.83 a	5.81 a	51.16 b	8.8 a
L ⊗	23.50 a	29.63 a	6.13 a	53.04 a	8.6 a
B ⊗	22.9 a	29.61 a	6.71 a	49.98 c	7.44 a

*الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية ($p > 0.05$).
⊗ استعملت 6 مكررات للمعاملة الواحدة.

لوحظت فروقات بين معدلات الأوزان الابتدائية والنهائية للفئران وكذلك فروقات معنوية ($p < 0.05$) في معدل استهلاك الغذاء.إن ما لوحظ من زيادة في استهلاك الغذاء لحيوانات المجموعة L قد يعود إلى فروقات فردية بين الحيوانات. لوحظ أن المجموعة B التي كانت أوطأ المجموعات استهلاكاً للغذاء، قد سجلت أعلى مستويات الزيادة الوزنية حسابياً، وهذا مؤشر على كون بكتريا *Bifidobacterium* قد شاركت في رفع مستوى بعض المغذيات وزيادة فعاليتها أثناء عملية التخمر مما شارك في الارتفاع بمستوى الزيادة الوزنية؛ ولا سيما ما يلاحظ من جدول (4) من غياب للفروقات معنوية في كفاءة التحويل الغذائي بين المجموعات S و L و B. وعموماً، فإن التغذية بالحليب المتخمر ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* والحليب المتخمر بكتريا *Bifidobacterium* لم تؤدِ إلى تحسن في كفاءة التحويل الغذائي، وهذا يتفق مع ما أشار إليه Hitchins و آخرون (1983) من أن المتخمرات اللبنية لا تحقق زيادة في كفاءة التحويل الغذائي عدا منتوج اللبن بالمقارنة مع الحليب غير المتخمر. ولقد لوحظ في دراسة سابقة(St-Onge ، 2000) بأن كل ألفئران التي تم تغذيتها على اللبن البفيدي كان لها كوليسترول واطيء الكثافة -LDL(الضار) أقل بنسبة 20-27% مقارنة بتلك المتغذية على الحليب الكامل.

يلاحظ من الجدول (5) زيادة معنوية في محتوى البراز من الدهن في المجموعة L ($p < 0.05$). إن ما يلاحظ من ارتفاع واضح جداً في كمية أحماض الصفراء الحرة ، وكذلك ارتفاع كمية الدهن المطروحة مع براز الفئران للمجموعة L تعبر عن كفاءة الحليب المتخمر ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* في عملية فك الارتباط المستمر لأحماض الصفراء في الأمعاء مما أدى إلى تزايد في طرح الدهون إلى البراز وانخفاض ما يمكن أن يمتص عبر الأمعاء. إذ أن عملية امتصاص الدهون عبر الأمعاء تتأثر بصورة كبيرة بكمية أحماض الصفراء المرتبطة التي تعمل على استحلاب الدهن وتهيأته للامتصاص من جدار الأمعاء (Brandt وBersntien ، 1976). وفيما يخص المجموعة L فإن الجدول (5) يظهر ارتفاع كميات أحماض الصفراء الحرة في دهن البراز، ومن الواضح أن اختفاء الكوليسترول من العليقة قد أدى إلى زيادة كفاءة تحويل أحماض الصفراء المرتبطة إلى أحماض صفراء غير المرتبطة وهذا متوافق مع ما أشار إليه (Walker and Gilliland, 1993).إن النتيجة الخاصة بكمية أحماض الصفراء الحرة المطروحة إلى البراز في المجموعة L كانت متفقة مع ما أشار إليه Sazuki (1970) من ملاحظته تحرراً لأحماض الصفراء الحرة، ولا سيما حامض الكوليك مع براز الفئران نتيجة تدعيمه غذاء تلك الفئران ببكتريا يمكن أن تقاوم الظروف اللاهوائية. ولقد استنتج بأن لبكتريا *L. acidophilus* القابلية على ألأستقرار في القناة الهضمية (St-Onge ، 2000).

يلاحظ من الجدول (5) وجود فروقات معنوية بين المعاملات ($p < 0.05$) . إن المستوى المنخفض من الكوبروستانول في المجموعة S يعود إلى عدم التدعيم بالبكتريا للحليب الفرز وإن هذه الكميات المطروحة من الكوبروستانول هي ناتجة من فعل البكتريا المعوية الطبيعية في الأمعاء. لقد أشار Sadzikowski و آخرون (1977) إلى أن البكتريا المعوية تقوم بتحويل الكوليسترول إلى كوبروستانول في الأمعاء بصورة طبيعية كجزء من نشاطها الحيوي. إن كمية الكوبروستانول المرتفعة في المجموعتين L و B تعود إلى قدرة البكتريا المستعملة في عمليتي التخمر على زيادة تمثيل الكوليسترول في أمعاء الفئران. ويلاحظ أن مستوى الكوبروستانول قد ارتفع في المجموعة B على الرغم من اختفاء الكوليسترول من العليقة، وقصر المدة الزمنية للمعاملة، وقد يعود ذلك إلى إنتاج البكتريا *Bifidobacterium* spp. لبعض المواد أثناء التجربة و التي ساعدت على رفع فعالية أو أعداد البكتريا الطبيعية القادرة على تمثيل الكوليسترول.

جدول5. محتوى البراز من الدهن وأحماض الصفراء الحرة والكوبروستانول بعد أسبوعين من التغذية على عليقة خالية من الكوليسترول إضافة إلى الحليب الفرز والحليب الفرز المتخمر L و B.

المعاملات	المحتوى الدهني	أحماض الصفراء الحرة	الكوبروستانول

(ملغم/غم دهن)	Cholic + Deoxycholic (ملغم/ غم دهن)	(ملغم/غم براز)	
7.00 b	0.22 b	96.75 b	S*
11.15 a	29.39 a	118.23 a	L*
11.86 a	0.91 b	87.1 c	B*

الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروقات معنوية ($p < 0.05$).
* استخدمت ثلاث مكررات للمعاملة الواحدة.

ويمكن الاستنتاج بأن لبكتريا *Lactobacillus acidophilus* القدرة الجيدة على الاستيطان في أمعاء الفئران والواضحة من زيادة أعداد الـ Lactobacilli في براز المجموعة L، تظهر فعاليتها بصورة سريعة عند البدء بإعطائها الغذاء المتمثل بالحليب المتخمر في عملية تحويل الكوليسترول إلى كوبروستانول.

جدول 6. كوليسترول مصل الدم (ملغم/100 مل) للفئران التي استهلكت العليقة الخالية من الكوليسترول إضافة إلى الحليب الفرز والحليب الفرز المتخمر L و B.

بعد أسبوعين من المعاملة	⊗ بعد أسبوعين من التغذية	قبل بدء التجربة	المعاملات
82.24 c	89.75 a	63.81 a	S*
73.31 a	91.48 a	65.25 a	L*
78.93 b	92.65 a	62.37 a	B*

⊗ التغذية كانت على عليقة غنية بالكوليسترول فقط دون إعطاء أي معاملات.
* استخدمت خمسة مكررات للمعاملة الواحدة.

إن ما يلاحظ من الجدول (5) أيضاً أن المجموعة B اظهرت زيادة في كمية المطروح من الكوبروستانول إلى البراز مع الجزء الدهني.

يلاحظ من الجدول (6) عدم وجود فروقات معنوية بين المعاملات S، L، B في مستوى الكوليسترول في المصل، قبل بدء التجربة. وكذلك بعد 14 يوماً من التغذية على عليقة غنية بالكوليسترول لم تظهر عليه أية فروقات معنوية بين حيوانات المجموعات الثلاث، وقد يعود ذلك إلى استهلاك متساوٍ تقريباً من العليقة الغنية بالكوليسترول، وإن هذه المستويات من الكوليسترول في المصل بدأت بالأنخفاض معنويا ($p < 0.05$)عند إعطاء الحليب المتخمر ولمدة أسبوعين.

وتظهر هذه النتائج قدرة بكتريا *Lactobacillus acidophilus* وبكتريا *Bifidobacterium* على خفض مستوى الكوليسترول في مصل الدم عندما يكون مرتفعاً. إن هذا الانخفاض في مستوى الكوليسترول قد يعود بالدرجة الأساسية إلى زيادة تحرر أحماض الصفراء الحرة الملاحظة من الجدول (5) والخاص بالمجموعة L مما شارك في رفع معدلات هدم الكوليسترول إلى أحماض صفراء جديدة، وبالتالي انخفاض مستوى الكوليسترول في مصل الدم بصورة كبيرة ليصل إلى. وهذه النتائج متفقة مع ما توصل إليه Imaizumi و آخرون (1992) و St-Onge(2000) من خلال تجربتهم على الجرذان. كما أن بعض المواد التي من الممكن أن تكون قد ظهرت، أو ازدادت كمياتها أثناء التخمر قد ساعدت على التأثير على معدلات تخليق الكوليسترول في الكبد مثل المركب HMG، إذ أشار Beena وPrassad (1997) إلى أن عملية التخمر تزيد من تركيز المواد المخفضة للكوليسترول.

كما أظهرت التغذية بالحليب الفرز المتخمر ببكتريا *Bifidobacterium* تأثيراً جيداً في خفض كوليسترول مصل الدم للفئران بالمقارنة مع مجموعة السيطرة، على الرغم من أن أحماض الصفراء الحرة المطروحة إلى البراز مع الجزء الدهني كانت منخفضة جداً ، وقد يكون هنالك بعض العوامل التي تعمل على التأثير على أيض الكوليسترول في الكبد كحامض الخليك، إذ أشار Nakajima و آخرون (1999) إلى احتمال وجود دور للحوامض العضوية كحامض الخليك واللاكتيك في خفض معدلات التخليق الحيوي للكوليسترول في الكبد. وقد يكون لعملية تمثيل الكوليسترول الذي يفرز مع

العصارة الصفراوية أو من خلايا الأمعاء دور في عدم إعادة امتصاص الكوليسترول نتيجة تحويله إلى مواد أخرى غير قابلة للامتصاص.

ولقد اشير إلى دور وفعالية بعض الببتيدات المتكونة في أثناء تخمر الحليب والتي تقوم بعمل الهرمونات او العقاقير بتحوير الأفعال الفسيولوجية بواسطة تداخلها مع مستقبلات معينة ينتج عنها تأثيرات فسيولوجية FitzGerald وMurry (2006) و Ibeagha-Awemu و آخرون (2009) ومن هذه الببتيدات والتي لها دور في خفض الكولسترول في دم الفئران ال lactotensin α (His-Ile-Arg-Leu)- وكذلك ببتيد(Ile-Ile-Ala-Glu-Lys) واللذان ينتجان من lactoglobulin-β(Ibeaghs-Awemu و آخرون 2009). وإذا فهمنا كيفية عمل المواد الصيدلانية في خفض الكولسترول فيمكن عندها تطوير منتوج لبني له فعاليات تعاونية تحقق فعاليات وظيفية متعددة في منتوج واحد يحقق صحة وسلامة القلب.

المصادر

Akalin, A. S., S. Gonc, and S. Duzel .1997. Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum cholesterol levels in mice. *J. Dairy Sci.*, 80: 2721-2725.

Beena, A. , and V. Prassad .1997. Effect of yogurt and Bifidus yogurt fortified with skim milk powder, condensed whey and lactose - hydrolyzed condensed whey on serum cholesterol levels in rats. *J. Dairy Res.*, 46: 453-457.

Bieri, J. G. , G. S. Stoewsand and G. M. Briggs.1981. Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *Lab. Anim. Sci.* 31: 1340-1348.

Brandt, L. J. and L. H. Bernstein.1976. Bile salts, their role in cholesterol synthesis and lithogenesis. *Am. J. Gastroenterol.* 65: 17-30.

Buck, L. M., and S. E. Gilliland.1994. Comparison of freshly isolated strain of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth. *J. Dairy Sci.* 77: 2925-2933.

FitzGerald, R.J. and B. A. Murry.2006. Bioactive peptides and lactic acid fermentations. *Int. J. Dairy Technol. 59*(2):118-25.

Folch, J., Less, M., and S. Sloana-Stanly.1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509.

Grunewald, K. K. 1982. Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Food. Sci.* 47: 2078-2079.

Hanok, A. 1969. Estimation of cholesterol and triglycerides. In: Manual for Laboratory Clinical Chemistry, by, Hanok, A. Los Altos. California, USA.

Hargrove, R. E., and J. A. Alford .1980. Growth response of wealing rats to heated, aged, fractionated and chemically treated yogurts. *J. Dairy. Sci.* 63: 1065-1072.

Harris, M. A., C. A. Reddy and G. R. Carter.1976. Anaerobic bacteria from the large intestine of mice. *Appl. Environ. Microbiol.* 31: 907-912.

Hitchins, A. D., F. F. McDonough , N. P. Wong and R. E. Hargrov.1983. Biological and biochemical variables affecting the relative values for growth and feed efficiency of rats fed yogurt or milk. *J. Food Sci.*, 48: 1836-1840.

Ibeagha-Awemu, E.M., J. L. Liu and X. Zhao. 2009.Bioactive components in yogurt products. In: Bioactive Components in Milk and Milk Products by Park, Y. W., Wiley-Blackwell, John Wily & Sons, Ltd, Publication, Chapter 9, pp: 235-50

Imaizumi, K., K. Hicata and M. Zommara .1992. Effect of cultured milk products by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species on secretion of bile acids in hepatocytes in rats. *J. Nutr. Sci. Vitam.* 38: 343-351. (Abst.).

Itoh, K., W. K. Lee and Kawamura .1987. Intestinal bacteria antagonistic to *Closteridium difficiles* in mice. *Laboratory. Anim.* 21: 20-25.

Kiss, I. 1983 . Testing Methods in Food Microbiology . Elsevier, Amsterdam and Oxford.

Kritcherisky, D. and M. Rothblat.1963. Detection of bile acids in thin-layer chromatography. *Anal. Biochem*, 5: 388-392.

Nakajima, H.,Y. Suzuki , H. Kaizu and T. Hirota.1992. Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk. *J. Food Sci.* 57: 1327-1329.

Pulusani, S. R. and D. R. Rao.1983 . Whole body, liver and plasma cholesterol levels in rats fed thermophilus, bulgaricus and acidophilus milks. *J. Food Sci.* 48: 280-281.

Rao, D. R., C. B. Chawan and Pulusani .1981. Influence of milk and thermophilus milk on plasma cholesterol levels and hepatic cholesterolgenesis in rats. *J. Food Sci.* 46: 1339-1341.

Robinson, J. L., D. B. Dombrowski, L. R. Tauss and L. R. Jones.1985. Assessment in humans of hypolipidemia induced by orotic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 41: 605-608. (Abst.)

Sadzikowski, M. R., J. F. Sperry and T. D. Wilkins.1977 . Cholesterol-reduction bacterium from human feces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 34: 355-362.

Savage, D. C. 1970 . Association of indigenous microorganisms with gastrointestinal mucosal epithilia. *Am. J. Clin. Nutr.* 23: 1495-1499.

Speck, M. L. 1978. Enumeration of viable *Lactobacillus acidophilus* organisms in dairy products. *J. Food Prot.* 41: 135-137.

St-Onge, M. P., E. R. Farnworth and P. JH Jones.2000. Consumption of fermented and nonfermented dairy products: effects on cholesterol concentrations and metabolism. Am. J Clin Nutr.;71:674-81.

Thompson, L. U., D. J.A. Jenkins and D.M. M.A. Amer.1982. The effect of fermented and unfermented milk on serum cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* 36: 1106-1111.

Walker, D. K., and S. E. Gilliland .1993. Relationships among bile tolerance, bile salt deconjucation, and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*.

EFFECT OF FERMENTED MILK ON MICE BLOOD CHOLESTEROL LEVEL FEEDING .

Omar A. A. Al-Dorrah **Amir K. A. Al-Darwash**

***Department of Food Science - College of Agriculture - University of Baghdad.**

ABSTRACT

The present study included feeding eighteen mice on cholesterol-enriched diet of 0.3 % for two weeks to increase the blood cholesterol and divided into three groups of six rats. First was fed on cholesterol rich feeds and then on skim milk as control (S) while the second group (L) was fed on skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. The third group (B) was fed on skim milk fermented by *Bifidobacterium spp.*

There was an increase ($p < 0.05$) in feed intake for group L 2, but no significant difference was appeared in feed conversion efficiency. Results showed differences ($p < 0.05$) among treatments in feed lipids and the highest level and lowest levels were in group L and group B , respectively .A significant increase ($p < 0.05$) in group L was found compared with S and B . There was no significant difference between group L_2 and group B_2 in the level of coprostanol in fecal lipids which was low in group S .The high level of cholesterol was decreased ($p < 0.05$) after two weeks of treatment and the highest decrease was in group L and the lowest was in group S .

Key words: Reduction of Blood cholesterol in rat, *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium.*