تأثير الألبان المتخمرة في مستوى الكوليسترول لدم الفئران
1- التأثير في المستوى الطبيعي للكوليسترول

عمر عادل عبود الدرة عامر خلف عزيز الدروش فارس عبد علي العبيدي

قسم الصناعات الغذائية -- كلية الزراعة -- جامعة بغداد

وحدة الأمراض المشتركة
كلية الطب البيطري -- جامعة بغداد

المستخلص

اجريت تجربة على المستوى الطبيعي للكوليسترول في دم الفئران استغرقت 4 اسابيع باستعمال ثمانية عشر فأراً وزعت الى ثلاث مجموعات (معاملات) تضم كل معاملة ستة فئران اطعمت عليقة غنية بالكوليسترول الذي كانت نسبته 0.5% فضلاً على ثلاثة انواع من الحليب وبحجم 1 مل/حيوان في اليوم وكالاتي:- 1-المجموعة (S1) استهلكت الحليب الفرز(السيطرة) ، 2-المجموعة (L1) استهلكت الحليب الفرز المتخمر بفعل بكتريا *Lactobacillus acidophilus* 43121 ، 3 -المجموعة (B1) استهلكت الحليب الفرز المتخمر بفعل بكتريا *Bifidobacterium*. بعد مرور اسبوعين ظهرت زيادة معنوية ($P < 0.01$) في اعداد بكتريا *Lactobacilli* في المجموعة L1 ، اما بعد مرور اربعة اسابيع فقد حدثت زيادة معنوية ايضاً للمجموعة L1 وكذلك المجموعة B1 بالمقارنة مع مجموعة السيطرة S1.

كان محتوى البراز من الدهن ومحتوى الدهن من احماض الصفراء والكوبروستانول مرتفعاً بدرجة معنوية ($P<0.01$) في المجموعة L1 بالمقارنة مع المجموعتين B1 و S1 وكذلك في المجموعة B1 بالمقارنة مع S1. كان مستوى الكوليسترول منخفضاً بدرجة معنوية ($P<0.01$) في المجموعة L1 بالمقارنة مع المجموعتين B1 و S1 بعد مرور اسبوعين ، واستمر الانخفاض معنوياً في المجموعة L1 بعد مرور اربعة اسابيع من المعاملة وبالمقارنة مع B1 و S1.

في هذا البحث اظهرت بكتريا *Lactobacillus acidophilus* مقدرة جيدة في الاستيطان في امعاء الفئران ولها كفاءة جيدة على تحويل الكوليسترول الى كوبروستانول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(2) : 165 - 172, 2005 Al-Dorrah *et al.*

EFFECT OF FERMENTED MILKS ON LEVEL OF BLOOD CHOLESTEROL IN MICE
1- EFFECT ON NORMAL CHOLESTEROL LEVEL

O. A. Al-Dorrah **A. K. Al-Darwash** **F. A. A. Al-Obaidi**

Dept. of Food Technology
College of Agriculture - University of Baghdad

Zoonosis Unit
Coll. of Veterinary Medicine
Univ. of Baghdad

ABSTRACT

An experiment was carried out on the normal cholesterolemia for 4 weeks using three groups of mice. Each of six animals. All groups fed on 0.5% cholesterol enriched diet in addition to daily feeding with three types of milk 1 ml/animal/day, 1. group (S1) , skim milk (control), 2. group (L1), skim milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* 43121 and 3. group (B1), skim milk fermented with *Bifidobacterium*. After two weeks, a significant increase appeared ($P < 0.01$) in number of *Lactobacilli* in feces of group (L1). After 4 weeks, there was significant increase in group (L1) too as group (B1) comparing with the control group (S1).

Fecal lipids and free bile acids coprostanol in these lipids were significantly higher ($P < 0.01$) for group L1 compared with group S1 or B1 and for group B1 compared with group S1. Level of cholesterol was significantly lower ($P < 0.01$) in group L1 after two weeks compared with S1 and B1 and this significant low level continued even after 4 weeks in group L1 comparing with groups S1 and B1.

In this study *Lactobacillus acidophilus* 43121 has a good ability for colonizing in the gastrointestinal tract of mice and has good efficiency for degradation cholesterol to coprostanol.

المقدمة

من انواع البكتريا المستعملة في تصنيع الكثير من منتجات الالبان المتخمرة في العالم هي بكتريا *Lactobacillus acidophilus* وبكتريا *Bifidobacterium* التي تستعمل في تصنيع الكثير من منتجات الالبان المتخمرة العلاجية المدعمة للحياة Probiotic products ، لاسيما ان الاتجاه العالمي الحديث نحو الأغذية الطبيعية بعيداً عن الأدوية والمضافات الغذائية.

*تاريخ استلام البحث 2004/9/29 ، تاريخ قبول البحث 2004/12/19
(*)بحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الأول.

(*)Part of M.Sc. thesis of the first author.

وتعتمد الية خفض الكوليسترول عن طريق استهلاك الالبان المتخمرة على عوامل مباشرة تظهر اثناء وجود البكتريا العلاجية داخل القناة الهضمية كربط الكوليسترول ، او تمثيله ، او فك ارتباط احماض الصفراء اي التفاعلات التي تقوم بها البكتريا على الستيرويدات الحامضية والمتعادلة في الامعاء ، وعوامل اخرى غير مباشرة تظهر او ترفع تركيزها في اثناء عملية التخمر خارج الجسم الحي بفعل البكتريا (2).

اشار Rao وزملاؤه (20) الى ان استعمال الحليب المتخمر بوساطة بكتريا *Streptococcus thermophilus* له تأثير اوضح في خفض كوليسترول الدم في الجرذان بسبب بعض مواد الايض الناتجة من التخمر كالكحول مثلاً مع عدم تراكم الدهون في اكباد الحيوانات مقارنة بالمجموعة المغذاةعلى الحليب الكامل ، الذي يعود الى محتواه من حامض الاوروتيك الذي من الممكن ان يكون قد تعرض الى عمليات ايض في اثناء التخمر لانه يعد عامل نمو لبعض اجناس بكتريا حامض اللاكتيك. بينما لم يلاحظ Rossow وزملاؤه (21) اي تغير على كوليسترول دم بعض المتطوعين الذين استعملوا اللبن او الحليب الفرز او الحليب الكامل عدا ما لاحظه من انخفاض قليل جداً في مستوى دهون دم المجموعة التي تناولت الحليب الفرز.كذلك لم يلاحظ Pulusani و Rao(19) فروقا في كوليسترول مصل الدم للجرذان لاستعمال الحليب الفرز او الحليب الفرز الملقح بانواع من بكتريا حامض اللاكتيك.

لاحظ Nakajima وزملاؤه (18) ان تغذية الجرذان على عليقة غنية بالكوليسترول بنسبة 0.5% (وزن/وزن) رفعت مستوى كوليسترول مصل الدم ، لكن استعمال بكتريا *L. lactis ssp. cremoris* قد منع زيادة كوليسترول المصل في تلك الجرذان ، اما اضافة بكتريا *Bifidobacterium* bifidum الى اللبن فانه يزيد من كفاءة اللبن عند استعماله في عملية خفض كوليسترول الدم (3).

اجريت هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير البكتريا *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium* كل على انفراد الموجودتان في الحليب الفرز المتخمر في كوليسترول مصل الدم في الفئران في المستوى الطبيعي للكوليسترول في الدم Normal Cholesterolemia وبمرافقة التغذية على عليقة غنية بالكوليسترول .

المواد وطرائق العمل

استخدمت العليقة المعتمدة من قبل المعهد الامريكي للتغذية والخاصة بالدراسات التغذوية للجرذان والفئران واشار اليها Bieri وزملاؤه (4) مع استبعاد الالياف من العليقة لاحتمال حدوث بعض التداخل بينها وبين معاملات التجربة لدورها في افراز احماض الصفراء مع البراز واستعمل زيت زهرة الشمس المجهز من الشركة العامة للزيوت النباتية في بغداد بدلاً من زيت الذرة. وحضر خليط الاملاح (AIN) مختبرياً وحسب الاوزان المطلوبة (ملغم) لاعداد العليقة المكونة من Calcium phosphate 500.0 و Sodium chloride 74.0 و Potassium citrate monohydrate 220.0 و Potassium sulfate 52.0 و Magnesium oxide 24.0 و Manganous carbonate 3.5 و Ferric citrate 6.0 و Zinc carbonate 1.6 و Cupric carbonate 0.3 و Potassium iodate 0.01 و Sodium selenite و Chromium potassium sulfate 0.55 و sucrose 1000.0. واستعمل بنسبة 3.5% من العليقة. واضيف الكوليسترول بنسبة 0.5% لجعل العليقة عليقة قياسية غنية بالكوليسترول (5 ,18). وقد احتوت العليقة المستعملة في التغذية على 50 غم سكروز و20 غم كازين و15 غم نشا الذرة المحلي و5 غم من زيت زهرة الشمس و3.5 غم من خليط المعادن AIN و 1.1 غم خليط فيتامينات و1.1 غم ترترات الكولين و0.3 غم مثيونين. مزجت مكونات العليقة الجافة مع بعضها لكل مجموعة من الفئران لوحدها ، واذيب الكوليسترول في الزيت المساخن وبصورة تدريجية ثم وضعت المكونات الجافة في الخلاط الكهربائي مع اضافة الزيت المذاب فيه الكوليسترول وبصورة تدريجية لضمان توزيع متجانس للزيت.

حضر حليب الفرز المسترجع من حليب فوز مجفف وبنسبة 10% وقد استعمل في التغذية بلا تخمير او بعد تلقيحه ببكتريا L.A 43121 المتحصل عليها من ATCC ، او ببكتريا(Bif) المجهزة من مختبرات قسم التغذية والتصنيع الغذائي/كلية الزراعة/الجامعة الاردنية. واجري التعقيم بدرجة حرارة 121 م لمدة 10 دقائق ، والتلقيح بنسبة 1% من المزرعة البكتيرية المحضرة وتم الحضن على درجة حرارة 37 م ولمدة حضن 16 ساعة بالنسبة لبكتريا Bif. و18 ساعة بالنسبة لبكتريا L.A لضمان الحصول على الاعداد البكتيرية المطلوبة في الحليب المتخمر.

تم استعمال ذكور فئران التجارب البيضاء المجهزة من شركة الكندي لانتاج الادوية واللقاحات البيطرية وبعمر 6-7 اسابيع وبعدد 18 فأرا وقسمت الى ثلاث مجموعات تضمنت كل منها ستة فئران.

استغرقت التجربة اربعة اسابيع للمجموعات الثلاثة اذ تمت تغذية المجموعة S1 على عليقة غنية بالكوليسترول بدون تقنين *ad libitum* (العليقة توضع على عليقة التغذية وبكمية متشابهة لكل حيوانات التجربة) فضلا على التغذية على الحليب الفرز المسترجع بنسبة 10% والمعقم بوساطة انبوبة اختبار معقمة وبحجم 1 مل/حيوان/يوم . اما المجموعة L1 ، فقد تمت تغذيتها على عليقة غنية بالكوليسترول ايضا بالاضافة للحليب الفرز المسترجع بنسبة 10% والمتخمر ببكتريا لاكتوباسيلس اسيدوفيلس (L.A) وبحجم 1 مل/حيوان/يوم. والمجموعة الفرعية الاخيرة B1 ، فقد تمت تغذيتها على عليقة غنية بالكوليسترول اضافة للحليب الفرز المسترجع بنسبة 10% والمتخمر ببكتريا بفيدوبكتريوم (Bif) وبحجم 1 مل/حيوان/يوم.

تم تقدير الكوليسترول الكلي في مصل دم الفئران بثلاثة مكررات في بداية التجربة وبعد اسبوعين واربعة اسابيع من التجربة ، وسحب الدم من المنطقة القلبية بوساطة محقنة طبية بعد مدة صيام حوالي 16-18 ساعة اجريت عملية طرد مركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة ربع ساعة تم سحب الراشح ، وحفظ في ظروف التجميد لحين التقدير.

استعملت طريقة كلوريد الحديديك (Ferric Chloride Method) التي ذكرها Hanok (12) في التقدير وتم استخلاص المواد الدهنية من براز الحيوانات باتباع طريقة Folch وزملاؤه (8).

تم تقدير اثنين من احماض الصفراء الحرة ، حامض الكوليك وحامض دي اوكسي كوليك في الجزء الدهني لبراز حيوانات التجربة في نهاية مدة التجربة باستخدام كروماتوكرافي الطبقة الرقيقة (TLC) (16). قدر الكوبرستانول (احد مشتقات الكوليسترول المتعادلة) في المادة الدهنية البرازية المستخلصة بطريقة Folch وزملاؤه (8) وباستعمال تقنية (TLC) ايضا وباستعمال مكونات المذيبات نفسها المستعملة في تقدير احماض الصفراء مع استبدال الميثانول بالاسيتون وقراءة التركيز بجهاز Densitometer باستعمال الاشعة فوق البنفسجية (UV Light) لكون هذه المادة من مادة لاصفة Fluorescent.

قدرت اعداد البكتريا في نوعي الحليب المتخمر مباشرة قبل اعطاءه للفئران ، والمحضر اسبوعيا واستخدمت طريقة العد التي أشار اليها Speck (22) لحساب اعداد البكتريا التابعة للجنس Lactobacilli في الحليب ومنتجات الالبان الاخرى وقدرت اعداد خلايا Lactobacilli الحية النامية على وسط De –Man, Rogosa and Sharp (MRS) الصلب وفي ظروف لا هوائيه ومشبعة بغاز CO_2 وباستعمال الحاضنة اللاهوائية (13).

تم وزن الفئران قبل البدء بإعطاء المعاملات ومرة اخرى بعد أربعة أسابيع من التجربة وتم حساب كفاءة التحويل الغذائي حسب القانون أدناه:

$$\text{كفاءة التحويل الغذائي} = \frac{\text{معدل وزن العليقة المستهلكة}}{\text{الزيادة الوزنية لفئران المجموعة}}$$

استعمل التصميم العشوائي الكامل للتجربة باعداد مختلفة (C.R.D) في تحليل البيانات وفقا للانموذج الرياضي الاتي :

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

اذ ان : M = المتوسط العام و Ti = تأثير المعاملات و Eij = الخطأ العشوائي و Yij = قيمة المشاهدة J العائدة للمعاملة i . واستخدم اختبار دنكن متعدد المديات لاختبار معنوية الفروق بين المعدلات .

النتائج والمناقشة

من المهم المحافظة على عدد معين من البكتريا خلال تغذية الفئران التجريبية وقد اظهر الجدول (1) عدم وجود فروق معنوية في اعداد بكتريا L.A وبكتريا Bif في الحليب المتخمر عند التغذية وخلال الاسابيع الاربعة من مدة التجربة.

ان استخدام مدة حضن خاصة بكل كائن كان له الدور في الحفاظ على مستوى محدد ومتساوي تقريبا من الاعداد البكتيرية في نوعي الحليب المتخمر كما ان تحضير الحليب المتخمر والمستعمل في التغذية بفترات منتظمة خلال مدة التجربة وحفظه في درجة حرارة التبريد لاغراض استهلاكه يعد عاملا مهما في ثبات الاعداد البكتيرية المستهلكة من قبل الحيوانات خلال مدة التجربة وهذا ما لاحظه Rao وجماعته (20). واختير العدد البكتيري المرتفع (10^7 خلية/مل) في هذه الدراسة استنادا الى بحوث سابقة في مجال خفض كوليسترول مصل دم الجرذان التجريبية وهذا العدد استعمله Grunewald (11) واستعمل فيها الجرذان انموذجا تجريبيا.

جدول 1. الاعداد الحية CFU لكل من بكتريا L.A 43121 وبكتريا Bif. ولاربعة اسابيع في الحليب الفرز المتخمر (L و B) والمستعمل في تغذية الفئران

المعاملة	الأسبوع الاول	الاسبوع الثاني	الاسبوع الثالث	الاسبوع 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 أي الاسبوع الواحد ، الاولى في بداية الاسبوع والثانية في نهاية الاسبوع.
a عدم وجود فروق معنوية في اعداد الخلايا لكل نوع من انواع الحليب المتخمر والمستعمل في التغذية.

يبين جدول (2) عدم وجود فروق معنوية بين معاملات التجربة الثلاثة S1 و L1 و B1 في اعداد بكتريا الـ Lactobacilli اللاهوائية البرازيـة ، وان هذه النتائج غير متفقة مع النتائج التي توصل Harris وزملاؤه (14) اذ حددت تلك النتائج اعداد البكتريا اللاهوائية البرازية باعداد تصل الى 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 التجربتين. لوحظت بعد اسبوعين من المعاملات وجود زيادات معنوية ($P < 0.01$) للمجموعة L1 والتي تم فيها تغذية الفئران على حليب متخمر بفعل بكتريا L.A. 43121 مقارنة بالمعاملتين الاخريتين S1 و B1 اللتين لم تكن بينهما فروق معنوية في اعداد الخلايا البكتيرية اللاهوائية ، وهذا الارتفاع في اعداد البكتريا اللاهوائية في براز هذه المجموعة يعد مؤشراً ايجابياً على قدرة السلالة البكتيرية L.A 43121 على الاستيطان في امعاء الفئران ، لان تلك البكتريا كانت من مصدر حيواني. وهذه النتيجة اتفقت مع ما وجده Itoh وزملاؤه (15) اذ اشاروا الى حصول زيادة كبيرة في اعداد بكتريا *Lactobacilli* اللاهوائية في براز الفئران نتيجة التغذية المدعمة بالبكتريا L.A. . كذلك لوحظ استمرار زيادة اعداد خلايا *Lactobacilli* اللاهوائية في براز فئران المجموعة L1 بعد اربعة اسابيع من المعاملة بالحليب (L) ، وهذه النتائج متفقة مع ما وجده Akalin وزملاؤه (2).

كما بين الجدول (2) ازدياد اعداد خلايا *Lactobacilli* اللاهوائية البرازية للمجموعة B1 وبعد اربعة اسابيع من المعاملة ، وهذا الاختلاف في الاعداد وفي هذه المدة قد يعود الى مقاومة الجهاز المناعي في الفئران للبكتريا Bif المستعملة في تخمر الحليب ، ثم للتغذية اليومية المستمرة بالحليب الحاوي على تلك البكتريا فقد انخفض النشاط المناعي في الفئران مما ادى الى ارتفاع في نشاط البكتريا الخاص بالتكاثر والانقسام داخل القناة الهضمية للفئران ، ومن ثم زيادة في اعداد البكتريا المطروحة مع البراز.

تعد الاعداد المرتفعة من البكتريا *Lactobacilli* مؤشراً على زيادة احتمالية قيامها بالفعل المباشر لاغراض السيطرة على كوليسترول الدم، اذ اشار Walker و Gilliland (9) الى اهمية ان تكون البكتريا ذات مقدرة جيدة على زيادة اعدادها في الجزء المعوي عند التغذية بالحليب الحاوي عليها ، مقاومتها لاملاح الصفراء ، ومن ثم زيادة احتمالات اجراء بعض التغيرات الانزيمية والتأثير في كوليسترول الدم.

جدول 2. اعداد بكتريا *Lactobacilli* البرازية الحية النامية على الوسط الصلب MRS في ظروف لاهوائية للفئران التي استهلكت عليقة غنية بالكوليسترول فضلا على التغذية بالحليب الفرز والحليب المتخمر L و B

المعاملات	قبل بدء المعاملة	بعد اسبوعين من المعاملة	بعد اربعة اسابيع من المعاملة
S1*	6.2×10^7 a	5.0×10^7 b	7.0×10^7 c
L1*	4.1×10^7 a	5.7×10^9 a	26.1×10^{10} a
B1*	3.5×10^7 a	11.5×10^7 b	8.8×10^8 b

*استعملت ثلاثة مكررات للمعاملة الواحدة.
الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تشير الى فروق معنوية ($P < 0.01$).

يلاحظ من الجدول (3) عدم وجود فروق معنوية في معدل الزيادة الوزنية لحيوانات التجربة وفي كفاءة التحويل الغذائي خلال الاسابيع الاربعة من التجربة ، وهذه النتائج متفقة مع ما وجده Prassad و beena (3) عند تغذية الجردان باللبن المدعم ببكتريا Bif ومتفقة ايضاً مع النتائج التي توصل اليها Rao و Pulusani (19) التي أشارت الى عدم وجود فروق معنوية بين الجرذان التي استهلكت الحليب الفرز فقط ، ومجموعة الجرذان التي استهلكت الحليب المتخمر ببكتريا .L.A. لقد لوحظ اختلاف في نتائج التجربة الحالية التي اجريت على الفئران مقارنة بنتائج Chikia وزملاؤه (6) التي توصلوا اليها من خلال تجربته على الجرذان التي استعمل فيها حليب متخمر ببكتريا Bif ، اذ لاحظ وجود فروقات بين معاملاته فيما يخص معدل استهلاك الغذاء والزيادة الوزنية.

جدول 3. معدل الزيادة الوزنية والغذاء المستهلك وكفاءة التحويل الغذائي للفئران التي استهلكت العليقة القياسية بالكوليسترول فضلا على الحليب الفرز والحليب الفرز المتخمر L و B

المعاملات	معدل الوزن الابتدائي(غم)	معدل الوزن النهائي(غم)	معدل الزيادة الوزنية (غم/4 اسابيع)	الغذاء المستهلك (غم/2 اسبوع)	الغذاء المستهلك (غم/4 اسابيع)	كفاءة التحويل الغذائي
S1*+	20.39 a	28.6 a	8.47 a	40.53 a	88.6 a	10.5 a
L1+	21.20 a	29.8 a	8.6 a	41.67 a	89.9 a	10.5 a
B1*+	20.76 a	29.16 a	8.4 a	41.09 a	89.1 a	10.6 a

* استعملت 5 فئران للمعاملة في الاسبوع الاخير فقط من التجربة.

+ استعملت 6 حيوانات للمعاملة الواحدة وبعمر 6-7 أسابيع في بداية التجربة لجميع المعاملات ولمدة أربعة أسابيع.

بالنسبة لمحتوى البراز من المواد الدهنية وبعد اربعة اسابيع من المعاملة يلاحظ من الجدول (4) ان هناك فروقا معنوية بين المعاملات الثلاثة S1 و L1 و B1 ($P<0.01$) اذ كان المحتوى الدهني للمجموعة L1 اعلى من بقية المجموعات وهو 171.15 ملغم/غم براز ، كما ان محتوى الدهن من احماض الصفراء الحرة Cholic acid + Deoxycholic acid كان عالياً ايضاً مقارنة بمجموعة السيطرة (S1) او بمجموعة B1 . ويعد ذلك دليلاً على فك ارتباط احماض الصفراء وتحويلها الى احماض حرة (17).

ان الزيادة في محتوى براز المجموعة B1 من الدهن بالمقارنة مع المحتوى الدهني لمجموعة السيطرة S1 القياسية يعطي مؤشراً على احتمال وجود فعالية لبعض المواد الناتجة اثناء التخمر ببكتريا Bif في الحد من امتصاص الدهون ، او انخفاض فعالية نظام الامتصاص بسبب ما يلاحظ من ارتفاع مستوى احماض الصفراء في الجزء الدهني من البراز بالمقارنة مع مجموعة السيطرة ، الذي يعزى الى قابلية ربط بعض الاحماض مع خلايا بكتريا .Bif التي كانت اصلاً غير مرتبطة بفعل البكتريا المعوية الطبيعية في الامعاء ، وهذا يتفق مع الفرضية التي نصت على ان من الممكن ربط بكتريا .Bif الى بعض الستيرويدات ومنها احماض الصفراء الحرة والمرتبطة وزيادة طرحها الى براز الجرذان(6).

يلاحظ في الجدول (4) ان المجموعة (S1) التي تناولت الحليب الفرز غير المتخمر كان مستوى الدهن في برازها 91.71 ملغم/غم براز وهو اوطأ من جميع مستويات الدهن في المعاملات الاخرى ، وهذا يعني ان هناك زيادة في معدلات امتصاص الدهن لانخفاض تركيز الدهون في الدم.

يلاحظ من الجدول (4) ايضا وجود فروق معنوية بين معاملات التجربة ($P<0.01$) فيما يخص كمية الكوبروستانول (وهو المادة الناتجة بفعل الاختزال البكتيري للكوليسترول) ، والمطروحة مع الدهون في براز الفئران ، فيلاحظ ان كمية الكوبروستانول المطروحة تكون في اعلى قيمتها في المجموعة L1

بالمقارنة مع قيمة الكوبروستانول في المجموعة S1 ، ان هذا الارتفاع يعود بالدرجة الاساس الى وجود بكتريا *Lactobacillus acidophilus* في الحليب المتخمر ، التي اظهرت مقدرة جيدة على استيطان امعاء للفئران وعدم وجودها في الحليب الفرز الذي استهلكته فئران المجموعة S1. ان هذه الزيادة في كميات الكوبروستانول والناتجة بسبب التدعيم ببكتريا *Lactobacillus acidophilus* متفقة مع نتائج اخرى(8).

جدول 4. محتوى البراز من الدهن وأحماض الصفراء الدرة والكوبروستانول بعد أربعة أسابيع من التغذية على عليقة غنية بالكوليسترول فضلا على الحليب الفرز والحليب الفرز المتخمر L و B

المعاملات	المحتوى الدهني للبراز (ملغم/غم براز)	احماض الصفراء الدرة Cholic + Deoxycholic (ملغم/غم دهن)	الكوبروستانول (ملغم/غم دهن)
$S1^+$	91.71 c	0.142 c	6.08 c
$L1^+$	171.15 a	17.34 a	13.73 a
$B1^+$	127.21 b	9.26 b	10.75 b

+ تم استعمال ثلاثة مكررات للمعاملة الواحدة .

الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($P < 0.01$) .

ان بعض البكتريا المعوية ومنها بكتريا *Lactobacillus acidophilus* وبكتريا *Bifidobacterium* لها المقدرة على تحويل الكوليسترول الى كوبروستانول ومواد اخرى في الامعاء وخارج جسم الكائن الحي (9).

يلاحظ من الجدول (5) حصول ارتفاع في كوليسترول مصل الدم لمجموعات فئران التجربة S1 و L1 و B1 وبعد اسبوعين من التغذية على عليقة غنية بالكوليسترول وللمجموعات الثلاث. ولقد أشير في تجارب سابقة الى ان الكوليسترول الغذائي الذي يضاف الى العلائق سبب زيادة في كوليسترول الدم لبعض حيوانات التجارب كالارانب والجرذان والفئران والخنازير(1, 3, 10). والمقترح ان عاملاً او اكثر مسؤول بصورة مباشرة او غير مباشرة في السيطرة على عرقلة ازدياد مستوى الكوليسترول في الدم في المجموعة L1 بالمقارنة مع المجموعة B1 والمجموعة القياسية S1.

جدول 5. كوليسترول مصل الدم (ملغم/100 مل) للفئران التي استهلكت الطيقة الغنية بالكوليسترول فضلا على الحليب الفرز المتخمر L و B

المعاملات	قبل بدء المعاملة	بعد اسبوعين من المعاملة	بعد اربعة اسابيع من المعاملة
$S1^+$	62.33 a	90.68 b	100.68 b
$L1^+$	63.17 a	72.78 a	84.78 a
$B1^+$	60.54 a	85.45 b	97.04 b

+ تم استعمال خمسة مكررات للمعاملة الواحدة .

الحروف المختلفة تشير الى وجود فروق معنوية ($P < 0.01$) بين المعاملات .

ان استعمال البكتريا *Lactobacillus acidophilus* في تخمير الحليب الفرز قد ادى الى نتائج جيدة في خفض كوليسترول مصل الدم في الفئران . وهذا يتفق مع ما وجده Grunewald (11) من انخفاض ملحوظ ($P<0.05$) بالمقارنة مع الحليب الفرز المستعمل في تغذية الجرذان ولكنه لم يناقش مسألة تمثيل الكوليسترول ، او فك ارتباط احماض الصفراء ، بسبب ما لاحظه من ثبوت في اعداد بكتريا *Lactobacilli* البرازية خلال الثمانية والعشرين يوما من التجربة.

يمكن الاستنتاج ان بكتريا *Lactobacillus acidophilus* اظهرت قدرة جيدة في الاستيطان في امعاء الفئران والواضحة من زيادة اعداد خلايا *Lactobacilli* في برازها واظهرت فعالية في خفض تركيز الكوليسترول بتحويله الى كوبروستانول.

المصادر

1-Abo-El-Khair, I. A. A. and M. A. Nadia. 1993. Influence of feeding *Lactobacillus acoidophilus* on serum cholesterol levels of rabbits. Egypt. J. Microbiol. 28 : 259-269.

2-Akalin,A. D., S. Gone and S. Duzel. 1997.Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum cholesterol level in mice .J. Dairy Sci. 80:2721-2725.

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

4-Bieri, J. G., G. S. Stoewsand and G. M. Briggs. 1981. Report of the American institute of nutrition committee on standards for nutritional studies. Lab. Anim. Sci. 31 : 1340-1348.

5-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.

6-Chickia, T., H. Nakano and K. Uchida. 1987. Deconjucation of bile acids by human intestinal bacteria implanted in germ-free rats. Lipids 22 : 669-672.

7-Folch, J., M. Less 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.

8-Fukoshima, M. and M. Nakano. 1997. Effect of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat and cholesterol enriched diet. Brit. J. Nutr. 76 : 857-867.

9-Gilliland, S. E. and D. K. Walker. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. FEMS. Microbiology Review 87:175-188.

10-Gilliland, S. E., C. R. Nelson and C. Maxwell. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. App. Environ. Microbiol. 49 : 377-381.

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

12-Hanok, A. 1969. Estimation of cholesterol and triglyceroides. In: Manual for Laboratory Clinical Chemistry. by Hanok, A. Los Altos, California , U.S.A.

13-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.

14-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.

15-Itoh, K., W. K. Lee and R. Kawamura. 1987. Intestinal bacteria antagonistic to *clostridium difficile* in mice. Laboratory Anim. 21: 20-25.

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

17-McIntyre, N., K. Kirsch, J. C. Orr and K. J. Isselbacher. 1971. Sterols in the small intestine of the rat, guinae pig and rabbit. J. Lipid. Res. 12 : 336.

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

19-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.

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

21-Rossow, J. E., E. M. Burger, P. V. Vyver and J. J. Ferreira. 1981. The effect of skin milk, yogurt, and full cream milk on human serum lipids. Am. J. Clin. Nutr. 34 : 351-356.

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