المجلة العلمية لجامعة الملك فيصل
The Scientific Journal of King Faisal University
العلوم الأساسية والتطبيقية
Basic and Applied Sciences

تدعيم عجينة التمر بالبكتيريا المدعمة للحيوية *Bifidobacterium Lactis* Bb-12 المغلفة بألجينات الكالسيوم

عبدالله محمد الغزال[1] و فرج علي صالح[2] و مطلق محمد العتيبي[2]
[1]مستشفى بقيق العام، التجمع الصحي الأول بالمنطقة الشرقية، وزارة الصحة، بقيق، المملكة العربية السعودية
[2]قسم علوم الأغذية وتقنيتها، كلية العلوم الزراعية والأغذية، جامعة الملك فيصل، ، الأحساء، المملكة العربية السعودية

Fortification the Dates Paste Bifidobacterium Lactis Bb-12 Microencapsulated of Calcium Alginate

Abdullah Mohammed Alghazal[1], Farag Ali Saleh[2] and Motlaq Mohammed Alotaibi[2]
[1]Bqaiq General Hospital, First Health Cluster of Eastern Province., Ministry of Health, Bqaiq, Saudi Arabia
[2]Food Science and Technology Department, College of Agriculture and Food Science, King Faisal University, Al Ahsa, Saudi Arabia

KEYWORDS
الكلمات المفتاحية
Dates manufacturing, date products, digestive, functional foods, probiotic bacteria
الأغذية الوظيفية، البكتيريا النافعة، الصناعات التحويلية للتمور، القناة الهضمية، منتجات التمور

RECEIVED الاستقبال 27/01/2020
ACCEPTED القبول 15/05/2020
PUBLISHED النشر 01/12/2020

https://doi.org/10.37575/b/agr/2203

الملخص

اهتم العلماء في الآونة الأخيرة بالأغذية الوظيفية وخصوصاً الأغذية المدعمة للحيوية التي تمتلك عدد من الفوائد الصحية. تتعرض البكتيريا المدعمة للحيوية في تلك الأغذية لمخاطر متعددة أثناء تواجدها في المنتج الغذائي وعند مرورها في القناة الهضمية عند تناول الغذاء، لذلك كان الهدف الأساسي للبحث هو محاولة الحفاظ على تلك البكتيريا بصورة حية وبأعداد كافية عند مرورها بالقناة الهضمية وكذلك عند تخزين المنتج الغذائي للاستفادة من تلك الفوائد الصحية للبكتيريا المدعمة للحيوية، تم خلط البكتيريا المدعمة للحيوية من نوع *Bifidobacterium lactis* Bb-12 الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم مع عجينة التمر من صنف الخلاص وتعرضها لظروف مشابهة للقناة الهضمية (المعدة والأمعاء). تم تتبع أعداد البكتيريا المدعمة للحيوية الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم في عجينة التمر أثناء التخزين المنتج الغذائي، في نهاية الأسبوع السابع انخفضت أعداد البكتيريا الحرة في عجينة التمر لتصل إلى 106 وحدة ومكونة للمستعمرة لكل جرام، واستمرت البكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم محتفظة بأعداد تصل إلى 106 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام حتى الأسبوع العاشر. ودراسة التغير في قيم الأس الهيدروجيني في عجينة التمر قبل إضافة البكتيريا المدعمة للحيوية الحرة والمغلفة بالجينات الكالسيوم سجل pH 5.87 ومع تقدم مدة التخزين لوحظ انخفاض طفيف لكل من المنتج المدعم بالبكتيريا الحيوية سواء الحرة أو المغلفة بألجينات الكالسيوم. تم تحليل الأحماض العضوية (حمض الأستيك، حمض اللاكتيك) في عجينة التمر والتي عكست كمون البكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم وانخفاض نواتج أيضها. وأجري التحكيم الحسي لمنتج عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحيوية حيث لا يوجد اختلاف معنوية بين العينة الضابطة وكل من عجينة التمر المدعم بالبكتيريا الحرة أو بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم. وهذا يدل على أن إضافة كل من البكتيريا الحرة والبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم لم تؤثر تأثيرا معنويا على الصفات الحسية لمنتج عجينة التمور. لذا تعتبر عجينة التمر من الأغذية المناسبة لتدعيمها بالبكتيريا المدعمة للحيوية وتعطي عجينة التمر فرصة جيدة للدمج والتكامل مع المكونات الأخرى كالحبوب والحلويات والآيسكريم.

ABSTRACT

Recently, scientists have been interested in functional food, especially probiotic food, which has many health benefits. Probiotic bacteria are exposed to many risks during their presence in food products and after passing through the gastrointestinal tract, which may lead to their death. Therefore, the main goal of this study is to keep probiotic bacteria alive longer. Free and calcium alginate-encapsulated Bifidobacterium lactis were separately mixed with date paste and exposed to simulated gastrointestinal conditions. After seven weeks, the number of free B. lactis was reduced in the date paste by up to 106 cfu/g. The encapsulated bacteria retained their numbers up to 106 cfu/g until week ten. Examining the pH values in the date paste before adding free and calcium alginate-encapsulated bacteria indicated that it was pH 5.87. Over time, a slight decrease in pH values in each product supported with free and calcium alginate-encapsulated bacteria was observed. The analysis of organic acids (acetic, lactic) in the date paste reflected the common bacteria encapsulated and low outputs metabolism. The sensory analysis of date products fortified with probiotic bacteria was evaluated. The results showed insignificant differences between the control sample and the date paste fortified with free and encapsulated probiotic bacteria. This indicates that the addition of both free and encapsulated probiotic bacteria did not show any significant effect on the sensory properties of date products.

1. المقدمة

تعتبر فاكهة التمور الأكثر إنتاجاً واستهلاكاً في المملكة العربية السعودية. وتستهلك التمور على هيئة تمر كامل أو في صورة عجينة التمر أو دبس التمر (El-Shaarawy *et al.*, 1989). وعجينة التمر توفر فرصة جيدة للدمج والتكامل مع مكونات أخرى كالحبوب والحلويات والآيسكريم وتعمل على تحسين جودة المنتج عن طريق زيادة المعادن والفيتامينات ومضادات الأكسدة (Manickavasagan *et al.*, 2012) ومن ناحية أخرى أصبح المستهلكون أكثر وعي بالصحة وبالأغذية الوظيفية فإن مفتاح التسوق الناجح وقبول الغذاء الجديد لا يعتمد فقط على مفهوم جودة الغذاء ولكن يعتمد أيضا على القيمة المضافة للأغذية الوظيفية (Khedkar *et al.*, 2017) وتعرف البكتيريا المدعمة للحيوية على أنها "كائنات حية دقيقة عند تناولها بالقدر الكافي تحقق فوائد صحية للعائل" (WHO/FAO, 2001) ومن أنواع البكتيريا المدعمة للحيوية هي Bifidobacterium وهي بكتيريا موجبة الجرام لا هوائية وغير متحركة ولها أهمية كبيرة في صحة الأنسان عبر حياته يرتبط وجودها في الجهاز الهضمي تحقق فوائد صحية وذلك في إنتاجها الأحماض الدهنية والفيتامينات وتطوير الجهاز المناعي والوقاية من اضطرابات الأمعاء (O'Callaghan and Van Sinderen, 2016) ومن هذا المنطلق كانت أفكار الباحثين في هذا المجال منصبة على أن تكون هذه البكتيريا في صورة حية وبأعداد لا تقل عن 10^6 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام من المنتج الغذائي حتى تحقق الفوائد الصحية لجسم الإنسان (Kurmann *et al.*, 1992; Uribe *et al.*, 2018). وعند تناول الأغذية المدعمة للحيوية فإن البكتيريا تتعرض لظروف قاسية يمكن بسببها أن تفقد حياتها نتيجة تلك الظروف التي تتعرض إليها طول فترة تخزين المنتج الغذائي وكذلك أثناء مرورها عبر القناة الهضمية وبعد تناول المنتج. ظلت هذه المشكلة من المشكلات الخطيرة التي تعيق الاستفادة من تلك البكتيريا من فوائدها الصحية والعلاجية (Cook *et al.*, 2012). أكدت الكثير من الأبحاث العلمية أن البكتيريا المدعمة للحيوية لا تتحمل ظروف القناة الهضمية ويموت جزء كبير منها عند تناولها ووصولها للأمعاء. كما اقترح الباحثون أن أفضل طريقة للحفاظ على حيوية تلك البكتيريا عند تناولها ومرورها خلال القناة الهضمية هي عمل تغليف دقيقة للبكتيريا المدعمة للحيوية من مواد غروية غير قابلة للهضم. لذا دأب الباحثون والعلماء على البحث عن طريقة تعمل على وقاية هذه البكتيريا من تلك الظروف القاسية للمحافظة على حيويتها. حيث قام (Afzaal el al., 2019) استخدام البكتيريا المدعمة للحيوية من النوع *Lactobacillus Casei* المغلفة بألجينات الكالسيوم في منتج الآيسكريم. ودراسة (Prasanna and Gnaralampopoulos, 2018) باستخدام البكتيريا المدعمة للحيوية من النوع *Bifidobacterium Longum* المغلفة بألجينات الصوديوم في منتج الحليب. ودراسة (Seyedain-Ardabili *et al.*, 2016) تدعيم بعض أنواع من المخبوزات بالبكتيريا Lactobacillus المغلفة بألجينات الكالسيوم والنشاء المقاوم حيث ساعد التغليف على زيادة بقاء البكتيريا المدعمة للحيوية في المخبوزات وتساعد على مقاومة الحرارة.

لذلك كان الهدف من هذا البحث هو محاوله عمل حماية للبكتيريا المدعمة للحيوية عن طريق عمل تغليف يعمل على وقاية البكتيريا من الموت أثناء

Corresponding Author: Abdullah Mohammed Alghazal abgh559@hotmail.com ,00966556933220 المؤلف المراسل: عبدالله محمد حسين الغزال

تناولها مع الغذاء، واختبار وضع هذه البكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم في منتج عجينة التمور ودراسة تأثير ظروف المنتج الغذائي على حيوية البكتيريا المدعمة للحيوية أثناء عملية التصنيع والتخزين. وبالتالي نجمع بين الفوائد الغذائية للتمور والفوائد الصحية والعلاجية للبكتيريا المدعمة للحيوية لنحصل على منتج من التمر ذو قيمة غذائية وعلاجية في آن واحد. والأبحاث في تدعيم التمور بالبكتيريا المدعمة للحيوية نادرة (Al-Otaibi and Saleh, 2010). لذلك إنتاج منتج من التمور مدعم بالبكتيريا الحيوية ويعتبر منتج غير لبني يناسب شريحة كبيرة من المستهلكين اللذين يعانون من حساسية منتجات الألبان.

2. المواد وطرق العمل

2.1. المواد المستخدمة:

المواد المستخدمة في إجراء التجربة هي عجينة التمر من صنف الخلاص تم شراؤها من السوق المحلي لمدينة الهفوف. والبكتيريا المدعمة للحيوية من النوع *Bifidobacterium lactis* Bb-12 (كرستيان هانسن، الدنمارك). مادة عمل تغليف للبكتيريا هي ألجينات الكالسيوم (Sigma, USA). العصارة الهضمية أملاح الصفراء والبنكرياتين وإنزيم الببسين (Sigma, Aldrich).

2.2. طرق العمل:

- تنشيط البكتيريا المدعمة للحيوية Bifidobacterium lactis Bb-12: نُمّت بكتيريا *Bifidobacterium lactis* Bb-12 في بيئة MRS broth وأضيف إلى هذه البيئة مادة L-cystein HCl وهذه المادة تساعد على استهلاك الأكسجين من البيئة المحيطة و تجعل الظروف لا هوائية وبذلك تكون مناسبة لنمو *Bifidobacterium lactis* بعد ذلك حُضنت البكتيريا داخل الحضان (Germany, EN60529, Memmert) في ظروف لا هوائية على درجة 37°م لمدة 24 ساعة. يتم أجراء عملية الطرد المركزي على 1700 لفة في الدقيقة وذلك لفصل خلايا البكتيريا عن سائل MRS broth. تم غسل خلايا البكتيريا بمحلول saline solution مرتين واجري طرد مركزي مرة أخرى.
- عمل تغليف للبكتيريا بمادة ألجينات الكالسيوم: تم عمل تغليف للبكتيريا باستخدام مادة غروية، حضر محلول 2% من مادة عمل تغليف للبكتيريا وهي ألجينات الكالسيوم في محلول ملحي 0.9% ثم يعامل حرارياً على درجة حرارة 96م لمدة 6 دقائق. ثم نخلط 60 مل من محلول مادة عمل تغليف للبكتيريا مع 20 مل من معلق الخلايا البكتيريا، ثم نضعه في حمام مائي على درجة 47م مع التقليب المستمر ونضع 10 جم زيت نباتي (زيت الذرة) ويضاف إليه 0.01 جم من مادة Tween 80 ثم يوضع على مسخن مسطح على درجة حرارة 40م مع التقلب المستمر، ثم يترك لمدة 10 دقائق حتى يتكون مستحلب وتظهر حبيبات الدقيقة لخلايا البكتيريا. يتم كسر المستحلب بواسطة إضافة 150 مل كلوريد البوتاسيوم 0.3 عياري كما جاء في دراسة (Kailasapathy, 2006) مع الاستمرار في التقليب فتظهر طبقتين، الطبقة العلوية عبارة عن الزيت والطبقة السفلية عبارة عن خلايا البكتيريا المغلفة. نضع هذه المحتويات في قمع فصل ويتم التخلص من الطبقة العلوية (طبقة الزيت) ونحتفظ بالطبقة السفلية (طبقة الخلايا البكتيريا المغلفة) يتم غسيل طبقة خلايا البكتيريا المغلفة بمحلول كلوريد البوتاسيوم 0.3 عياري مرتين وفي المرة الأخيرة تجرى عملية الطرد المركزي لفصل كلوريد البوتاسيوم عن خلايا البكتيريا المغلفة.
- تحضير عصارة المعدة: حضرت بيئة MRS broth وبضبط قيمة الأس الهيدروجيني إلى (2 pH) باستخدام حمض الهيدروكلوريد 0.1 عياري ثم نضيف إنزيم الببسين 3جم/لتر حسب دراسة (Nazzaro et al., 2009). ثم نعمل تحضين للبكتيريا الحرة والبكتيريا المكبسلة في عصارة المعدة لمدة 180 دقيقة على درجة حرارة 37مْ وبعد ذلك يتم عمل طرد مركزي بسرعة 1700 لفة في الدقيقة لعصير المعدة للحصول على البكتيريا مرة أخرى.
- تحضير عصارة الأمعاء: حضرت بيئة MRS broth وبضبط قيمة الأس الهيدروجيني (5 pH) يحتوي على إنزيم البنكرياتين 1جم/لتر وأملاح الصفراء 4.5 جم/لتر حسب دراسة (Nazzaro et al., 2009). ثم نعمل تحضين للبكتيريا المستخدمة بعد الحصول عليها من ظروف المعدة على درجة حرارة 37مْ لمدة 60 دقيقة بعد ذلك يتم عمل طرد مركزي بسرعة 1700 لفة في الدقيقة لعصير الأمعاء للحصول على البكتيريا مرة أخرى.
- تحضير عجينة التمر: حضرت عجينة التمر معملياً تم إزالة النوى من التمر وعمل معاملة حرارة للتمر بالماء المغلي لمدة 60 ثانية ثم تجفيف التمر في فرن التجفيف على درجة حرارة 50مْ لمدة 24 ساعة وتم فرم التمر للحصول على العجينة (Al-Otaibi and Saleh, 2010).
- عد البكتيريا المدعمة للحيوية الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم: أتبعت طريقة (Adhikari *et al.*, 2003) تم عد المستعمرات البكتيريا (CFU/ml) وتم ذلك بواسطة الزراعة في أطباق بتري تحتوي على MRS agar تحتوي على مادة L-Cysteine hydrochloride محتوية على 1مل من العينة بعد عمل التخفيف المتسلسل في محلول ملحي 0.9% ثم تصب العينة في الطبق وتضاف البيئة مع تحريك لتوزيع الجيد للبكتيريا في الطبق وترك لتتصلب ثم تصب طبقة أخرى من البيئة بدون تحريك وترك لتتصلب ثم تحضن على درجة حرارة 37مْ لمدة 48 ساعة تحت ظروف لا هوائية باستخدام gar للظروف لاهوائية المحتوية على Gas Pak System لإنتاج الغاز لتوفير البيئة اللاهوائية.
- معرفة كفاءة مادة تغليف البكتيريا بألجينات الكالسيوم: يتم تحرير البكتيريا من ألجينات الكالسيوم تبعا لطريقة (Nazzaro et. al., 2009) بوضعها في محلول سترات الصوديوم 1% عند الأس الهيدروجيني (7.4) pH ويتم التقليب المستمر لمدة 30 دقيقة وهي داخل الحضان على درجة حرارة 37مْ لمعرفة كفاءة البكتيريا المنطلقة من ألجينات الكالسيوم. وبعدها يتم العد حسب طريقة (Adhikari *et al.*, 2003).
- تقدير رقم الأس الهيدروجني pH: تم تقدير رقم الأس الهيدروجيني في عينة عجينة التمر باستخدام جهاز pH meter بعد عمل معايرة للجهاز بواسطة محلول منظم ذو رقم هيدروجيني (10 – 7.4 pH).
- تقدير الاحماض العضوية: تم تقدير الأحماض العضوية وهي حمض الاكتيك وحمض الأستيك في عينات عجينة التمر باستخدام طريقة (Dinkci *et al.*, 2007).
- التقييم الحسي: أجري التحكيم الحسي بإضافة البكتيريا المدعمة للحيوية الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم ومزجها مع عجينة التمر بواسطة جهاز تجنيس العينات (Stomacher) ووزعت العينات في أطباق بعدد (54) طبق لكل محكم (3) أطباق كل طبق يحمل حرف (A,B,C) طبق يحتوي على عجينة تمر بدون إضافة البكتيريا المدعمة للحيوية كعينة ضابطة وطبق يحتوي على عجينة التمر مضاف فيها البكتيريا المدعمة للحيوية الحرة وطبق يحتوي على عجينة التمر مضاف فيها البكتيريا المدعمة للحيوية المغلفة بألجينات الكالسيوم وكانت العينات جميعها مجهولة للمقيمين بواسطة 18 مقيم تم اختيارهم من أعضاء هيئة التدريس وطلاب قسم علوم الغذاء والتغذية، كلية العلوم الزراعية والأغذية، جامعة الملك فيصل. استخدمت طريقة (Al eid, 2006) بأتباع أربع معايير ممتاز (10) جيد جداً (9- 8) مقبول (7-6) غير مقبول (5-0) لتحديد صفات المنتج الغذائي وهي صفة الطعم، الرائحة، القوام، المظهر العام، اللون، القبول العام.
- التحليل الاحصائي: تم إجراء التحليل الإحصائي أحادية الاتجاه (لاختبار الفرق بين المستويات عامل واحد) وكذلك أجراء التحليلات الإحصائية ثنائية الاتجاه (لاختبار الفرق بين مستويات عاملين والتداخل بينهم) وتم أجراء اختبار الفرق بين المتوسطات باستعمال طريقة أقل فرق معنوي LSD عند مستوى معنوية 5%.

3. النتائج والمناقشة

3.1. تتبع الأعداد الحية لبكتيريا *Bifidobacterium lactis* الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم عند خلطها مع منتج عجينة التمر وتأثير الظروف عصارات الهاضمة للمعدة والأمعاء على حيوية تلك البكتيريا المدعمة للحيوية:

تم تحضير عصارة المعدة تحتوي على بيئة broth MRS وتحتوي على 3جم /لتر من إنزيم الببسين ودرجة (2)pH وتم تعقيم العصارة المعدية باستخدام فلتر الترشيح 0.22 µm . و تم تحضير مادة لها صفة جلية وهي ألجينات الكالسيوم لعمل تغليف للبكتيريا المدعمة للحيوية من النوع *Bifidobacterium lactis* Bb-12. تم وضع البكتيريا المدعمة للحيوية الحرة والبكتيريا المدعمة للحيوية المغلفة بألجينات الكالسيوم في ظروف مشابهة لمعدة الإنسان كلاً على حدة ثم تم التحضين على درجة حرارة 37مْ لمدة 3 ساعات ثم عمل طرد مركزي للتخلص من العصارة المعدية 1700 لفة/ دقيقة للحصول البكتيريا الحرة والبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم وبالتالي يتم وضعها في العصارة المعوية المحتوية على بيئة broth MRS عند الأس الهيدروجيني (5) pH وتحتوي على إنزيم البنكرياتين 1جم/ لتر والأملاح الصفراء 4.5جم/ لتر والتي سبق تعقيمها باستخدام فلتر الترشيح 0.22 µm ثم تحضين على درجة حرارة 37مْ لمدة 60 دقيقة ثم عمل طرد مركزي للتخلص من العصارة المعوية 1700 لفة/ دقيقة للحصول على البكتيرية الحرة والبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم وإجراء التخفيفات المطلوبة في المحلول الملحي وثم عملية عد للبكتيريا باستخدام طريقة الأطباق المصبوبة لمعرفة أعداد البكتيريا ومدي تأثرها بالظروف التي تعرضت لها في البيئة المشابه للمعدة والأمعاء. أعداد البكتيريا *B. lactis* الحرة قبل وضعها في عجينة التمر 8.52 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام تأثرت البكتيريا الحرة قبل خلطها مع عجينة التمر ووضعها في المعدة تأثيرا سلبيا معنويا حيث انخفض العدد إلى 7.99 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام. وازداد الانخفاض أثناء التواجد في ظروف الأمعاء حتى وصل العدد إلى 7.89 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام. ويتضح من هذه النتائج قد حدث موت جزء من بكتيريا *B. lactis* الحرة قبل وضعها في عجينة التمر وتعرضها لظروف المعدة والأمعاء. تتفق هذه النتائج مع دراسة (Hassanzadeh *et al.*, 2017) أن أعداد البكتيريا الحرة تنخفض عند مرورها بالقناة الهضمية . أما تلك البكتيريا الحرة التي تم خلطها مع عجينة التمر وتعرضها لظروف المعدة والأمعاء فقد انخفض عددها ولكن بصورة غير معنوية عند تعرضها لظروف المعدة والأمعاء من 8.70 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام قبل وضعها في ظروف المعدة والأمعاء إلى 8.41 وحده مكونة للمستعمرة لكل جرام بعد وضعها في ظروف الأمعاء كما هو موضح في الجدول (1) وهذا يدل على أن عجينة التمر ساهمت بعمل وقاية لتلك البكتيريا من ظروف المعدة والأمعاء. بالنسبة للبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم فلم يلاحظ ثمة

فروق معنوية بين أعداد تلك البكتيريا قبل وبعد وضعها في عجينة التمر عند تعرضها في ظروف المعدة والأمعاء. وعند مقارنة تأثير عجينة التمر وعملية تغليف البكتيريا *B.Lactis* عند وضعها في ظروف المعدة والأمعاء يتبين أن تغليف البكتيريا بألجينات الكالسيوم يقوم بدور وقائي أكبر من الدور التي تقوم به عجينة التمر عند تعرضها لظروف المعدة والأمعاء. تتفق مع ماذكر في دراسة (Obradovic *et al.*, 2019; Turhan, 2019) بأن التغليف ونوع مادة التغليف له دور في حماية البكتيريا من الموت. ودراسة (Olivares *et al.*, 2017) أن تغليف البكتيريا تحميها بنسبة 75% في القناة الهضمية.

جدول (1) الأعداد الحية لبكتيريا ***Bifidobacterium lactis*** المتواجدة في منتج عجينة التمر في ظروف مشابهة لظروف المعدة والأمعاء

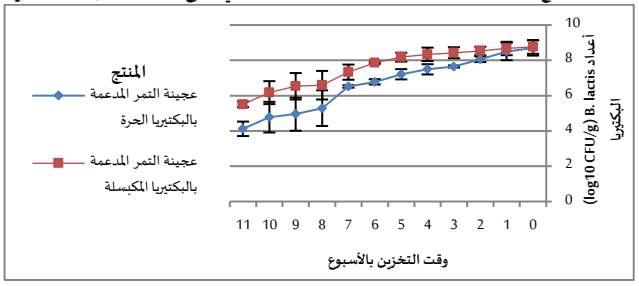
الظروف	أعداد البكتيريا B .lactis (log10 CFU/g)			
	البكتيريا الحرة قبل وضعها في عجينة التمر	البكتيريا الحرة بعد وضعها عجينة التمر	البكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم قبل وضعها في عجينة التمر	البكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم بعد وضعها عجينة التمر
الأعداد الأولية	8.52±0.09Aa	8.70±0.43Aa	8.54±0.15Aa	8.76±0.39Aa
عصارة المعدة	7.99±0.08Bb	8.52±0.35Aa	8.43±0.02Aa	8.75±0.38Aa
عصارة الأمعاء	7.89±0.09Bb	8.41±0.33Aa	8.39±0.03Aa	8.67±0.42Aa

الأحرف الكبيرة الغير متشابهة تشير إلى الصفوف بوجود اختلاف معنوي عند مستوى معنوية (P<0.05)
الأحرف الصغيرة الغير متشابهة تشير إلى الأعمدة بوجود اختلاف معنوي عند مستوى معنوية (P<0.05)

3.2. تخزين منتج عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا *Bifidobacterium lactis* الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم على درجة حرارة 5±1مْ لمدة (11) أسبوع:

تم تقسيم عجينة التمر إلى قسمين القسم الأول تم إدخال البكتيريا المدعمة للحيوية *Bifidobacterium lactis* Bb-12 في الصورة الحرة والقسم الثاني تم إدخال تلك البكتيريا المدعمة للحيوية في الصورة المغلفة بألجينات الكالسيوم وتم مزج البكتيريا مع عجينة التمر بواسطة جهاز تجنيس العينات (Stomacher) بوضع عينات عجينة التمر المحتوية على البكتيريا المدعمة للحيوية داخل اكياس بلاستيكية خاصة معقمة مدة 5-8 دقائق. ويتم تتبع أعداد البكتيريا خلال فترة التخزين على درجة حرارة الثلاجة 5±1مْ لمدة (11) أسبوعا وإجراء التخفيفات المطلوبة في المحلول الملحي وثم عملية عد للبكتيريا باستخدام طريقة الأطباق المصبوبة لمعرفة أعداد البكتيريا ومدي تأثرها بالظروف التي تعرضت لها في البيئة المشابه للمعدة والأمعاء. أعداد البكتيريا الحرة في عجينة التمر اكبر من 10^8 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام حتى نهاية الأسبوع الثاني من التخزين أما من بداية الأسبوع الثالث حتى نهاية الأسبوع الخامس كانت الأعداد ضمن 10^7 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام وفي الأسبوع الثامن من التخزين توالت الانخفاضات لتصل إلى أقل من 10^6 وحدة مكونه للمستعمرة لكل جرام في نهاية الأسبوع السابع. أما في حالة خلط البكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم مع عجينة التمر ظلت عجينة التمر محتفظة بأعداد البكتيريا المكبسلة في حدود 10^8 وحدة مكونه للمستعمرة لكل جرام حتى الأسبوع الخامس واحتفظت بأعداد البكتيريا بحدود 10^7 وحدة مكونه للمستعمرة لكل جرام إلى الأسبوع السابع وفي الأسبوع العاشر استمر الاحتفاظ بالأعداد الحية للبكتيريا بأعداد لا تقل عن 10^6 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام ويتضح ذلك من خلال شكل (1) ولكي تستطيع هذه البكتيريا أن تعبر القناة الهضمية بسلامة وتؤدي الفوائد الصحية والعلاجية المرجو منها لابد من وجود البكتيريا بأعداد 10^6 وحدة مكونة للمستعمرة لكل جرام في المنتج وقت الاستهلاك. وهذه النتائج تتفق مع دراسة (Li *et al.*, 2019; Dias *et al.*, 2018) بأن الكبسولة تطيل عمر البكتيريا المدعمة للحيوية وتخزين المنتج على درجة حرارة 4مْ أفضل من التخزين على درجة حرارة 25مْ.

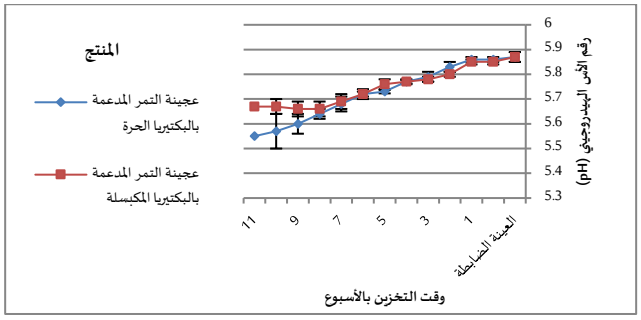
شكل (1) تتبع أعداد البكتيريا ***Bifidobacterium lactis*** في منتج عجينة التمر أثناء التخزين



3.3. التغير في الأس الهيدروجيني (pH) في عجينة التمر المدعم بالبكتيريا المدعمة للحيوية الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم *Bifidobacterium lactis* أثناء التخزين لمدة (11) أسبوع على درجة حرارة 5±1مْ:

التغير في قيمة الأس الهيدروجيني سجل pH في عجينة التمر قبل إضافة البكتيريا الحرة أو المغلفة بألجينات الكالسيوم 5.87 ومع التقدم في مدة التخزين لوحظ انخفاض طفيف في رقم الأس الهيدروجيني لكل من عينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة والمدعمة بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم. ظل الانخفاض غير معنوي في عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة حتى الأسبوع الثالث من التخزين. أما في عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم فقد ظل الانخفاض في قيمة الأس الهيدروجيني بصورة غير معنوية كما هو في الشكل (2). هذه النتائج تتفق مع دراسة (Sipailiene and Petraityte, 2018) بان تغليف البكتيريا المدعمة للحيوية تعتمد على المواد المستخدمة والبيئة وكذلك سلالة البكتيريا تلعب دور هام في جودة تغليف للبكتيريا. وتتفق مع دراسة (Gheisari *et al.*, 2018) تغليف البكتيريا بألجينات الكالسيوم تحافظ على قيمة pH دون تغير يذكر وهذا يدل على ضعف نشاط التمثيل الغذائي للبكتيريا نتيجة تغليف البكتيريا بألجينات الكالسيوم.

شكل (2) التغير في قيمة الأس الهيدروجيني (pH) في عجينة التمر المدعم بالبكتيريا ***Bifidobacterium lactis***



3.4. تقدير نسبة الأحماض العضوية (حامض الأستيك و حامض الاكتيك) في منتج عجينة التمر المحتوي على البكتيريا المدعمة للحيوية Bifidobacterium lactis الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم أثناء فترات التخزين (0-5-11 أسبوع):

حدثت زيادة تدريجية في الأحماض العضوية مع تقدم وقت التخزين لكل من عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة والبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم وكانت نسبة حامض الأستيك في منتج عجينة التمر المحتوي على البكتيريا الحرة أكبر من منتج التمر المحتوي على البكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم وذلك بعد (5-11 أسبوعا) من فترة التخزين كما هو في جدول (2) وهذا يدل على النشاط الأيضي للبكتيريا الحرة كان أكبر من النشاط الأيضي للبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم وهذا يرجع إلى فعل التغليف بألجينات الكالسيوم التي قللت من النشاط الأيضي لتلك البكتيريا وهذا يتفق مع دراسة (Song *et al.*, 2019) بأن البكتيريا الحرة تزيد معدل إنتاج الأحماض العضوية في المنتج الغذائي. أما حامض الاكتيك فقد وجد نسبة هذا الحامض حدث العكس زيادة في حامض الاكتيك في عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم عن عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة بعد التخزين لمدة أحدى عشر أسبوعاً.

جدول (2) نسبة الأحماض العضوية في عجينة التمر المدعم بالبكتيريا الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم باستخدام جهاز HPLC

المنتج	نوع حامض العضوي	وقت التخزين بالأسبوع		
		0	5	11
عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة	الأستيك	0.57	0.96	2.30
	اللاكتيك	0.19	0.43	0.93
عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم	الأستيك	0.59	0.95	2.14
	اللاكتيك	0.21	0.42	1.21

3.5. قياس الصفات الحسية لمنتج عجينة التمر المدعم بالبكتيريا

Bifidobacterium lactis الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم:

تم عمل عجينة التمر بدون إضافة البكتيريا المدعمة للحيوية كعينة ضابطة للمقارنة، وعجينة التمر مضاف فيها البكتيريا المدعمة للحيوية الحرة وعجينة التمر مضاف فيها البكتيريا المدعمة للحيوية المغلفة بألجينات الكالسيوم وجميع العينات مجهولة للمقيمين. أظهرت نتائج تحليل الصفات الحسية لمنتج عجينة التمر عدم ظهور فروق معنوية في الطعم بين العينة الضابطة وعينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة أما عينة التمر المدعمة بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم حدث انخفاض معنوي بالمقارنة بالعينة الضابطة وفي نفس الوقت لم يحدث فروق معنوية بين تلك العينة وعينة عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة. أما باقي الصفات الحسية (الرائحة، القوام، المظهر، اللون، القبول العام) لم يحدث فروق معنوية تذكر بين عينة الضابطة وبين عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة والمدعمة بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم ويتضح ذلك من خلال جدول (3).

جدول (3) التقييم الحسي لمنتج عجينة التمر المدعم بالبكتيريا *Bifidobacterium Lactis* الحرة والمغلفة بألجينات الكالسيوم

المنتج	الصفات الحسية					
	الطعم	الرائحة	القوام	المظهر	اللون	القبول العام
العينة الضابطة	7.92±0.49^{a}	8.15±0.55^{a}	7.53±0.77^{a}	7.46±0.96^{a}	8.07±0.64^{a}	8.00±0.81^{a}
عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا الحرة	7.23±1.23^{ab}	7.53±1.12^{a}	7.07±1.03^{a}	7.07±0.64^{a}	8.07±0.95^{a}	7.23±0.96^{a}
عجينة التمر المدعمة بالبكتيريا المغلفة بألجينات الكالسيوم	6.92±0.95^{b}	7.38±1.38^{a}	7.23±0.83^{a}	7.69±1.03^{a}	7.69±0.85^{a}	7.46±0.87^{a}

الأحرف الصغيرة الغير متشابهة تشير إلى الأعمدة بوجود اختلاف معنوي عند مستوى معنوية (P<0.05)

نبذة عن المؤلفين

عبدالله محمد الغزال

مستشفى بقيق العام، التجمع الصحي الأول بالمنطقة الشرقية، وزارة الصحة، بقيق، المملكة العربية السعودية، 00966556933220، abgh559@hotmail.com

أ. الغزال حصلت على الشهادة الجامعية من جامعة الملك فيصل. بكالوريوس وماجستير علوم الأغذية وتقنيتها و ماجستير علوم الأغذية وتقنيتها. يعمل كأخصائي تغذية بمستشفى بقيق العام التابع لوزارة الصحة من عام 1428 ولا زلت على رأس العمل.

فرج علي صالح

قسم علوم الأغذية وتقنيتها، كلية العلوم الزراعية والأغذية، جامعة الملك فيصل، ، الأحساء، المملكة العربية السعودية، 00966553529005، farag_ail@hotmail.com

أ.د. إبراهيم متخصص في علوم الأغذية (تخصص دقيق كمياء وتحليل الأغذية والألبان)، ومجالات الاهتمام الأغذية المدعمة للحيوية وعلاقتها بالصحة و التحاليل الدقيقة للأغذية والألبان والجديد في مجال الزيوت والدهون، والمواد الحافظة ومضادات الأكسدة الطبيعية.

مطلق محمد العتيبي

قسم علوم الأغذية وتقنيتها، كلية العلوم الزراعية والأغذية، جامعة الملك فيصل، ، الأحساء، المملكة العربية السعودية، 00966553904070، mutlag1@hotmail.com

د. العتيبي حاصل على درجة الدكتورة من جامعة ريدنج بالمملكة المتحدة، درجة الماجستير والبكالوريوس من جامعة الملك فيصل. له مشاركات في العديد من المؤتمرات والندوات المحلية والإقليمية والدولية، ونشر العديد من الأبحاث العلمية في المجلات المتخصصة المحكمة، وأشرف على العديد من رسائل الماجستير بجامعة الملك فيصل، ومحكم العديد من رسائل الماجستير.

المراجع

Adhikari, K., Mustapha, A. and Grun, I. U. (2003). Survival and metabolic activity of microencapsulated Bifidobacterium longum in stirred yoghurt. *Food Microbiology and Safety*, **68**(1), 275–80.

Afzaal, M., Khan, A. U., Saeed, F., Arshad, M. S., Khan, M. A., Saeed, M., Maan, A. A., Khan, M. K., Ismail, Z., Ahmed, A., Tufail, T., Ateeq, H. and Anjum, F. M. (2019). Survival and stability of free and encapsulated probiotic bacteria under simulated gastrointestinal conditions and in ice cream. *Food Science & Nutrition*, **8**(3), 1649–56.

Al Eid, S. M. (2006). Chromatographic separation of fructose from date syrup. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **57**(1/2), 83–96.

Al-Otaibi, M.M. and Saleh, F.A. (2010). Fortification of some dates with Probiotic fermented milk. *Egyptian Conference for Dairy Science and Technology*, **11**(n/a), 497–509.

Araujo-Uribe, N.D., Villadiego, O. S. R., Campuzano, O. I. M. and Ramirez, L.A. G. (2018). Viability of probiotic bacteria Bacillus polymyxa, Bacillus megaterium and Lactobacillus delbruekii subsp. *Bulgaricus microencapsulated under the spray-drying technique, Dyna*, **85**(204), 272–6.

Cook, M.T., Tzortzis, G., Dimitris, C.D. and Khutoryanskiy, V. V. (2012). Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery (Review). *Journal of Controlled Release*, **162**(1), 56–67.

Dias, C. O., Almeida, J. D., Pinto, S. S., Santana, F. C., Verruck, S., Muller, C. M., Prudencio, E. S. and Amboni, R. D. (2018). Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in Passion Fruit Juice: A functional non-dairy Product for Probiotic delivery. *Food Bioscience*, **24**(n/a), 26–36.

Dinkci, N., Akalin, A. S., Gonc, S. and Unal, G. (2007). Isocratic Reverse-Phase HPLC for determination of organic acids in Kargi Tulum cheese. *Chromatographic Supplement*, **66**(n/a), 45–9.

El-Shaarawy, M. I., Mesallam, A. S., El-nakhal, H. M. and Wahdan, A. N., (1989). Studies on extraction of dates. In: *The second symposium on the date palm*, King Faisal University, Al Ahsa, Saudi Arabia, 3-6/03/1986.

Gheisari, H.R., Davar, M. and Shekarforoush, S. S. (2018). Stability of microencapsulated *lactobacillus casei* in mango fruit juice and its survival at simulated human gastro-intestinal condition. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, **7**(1), 64–71.

Hassanzadeh, A.M., Khiabani, M. S., Sadrnia, M., Divband, B., Rahmanpour, O., Jabbari, V., Gholizadeh, P. and Kafil, H. S. (2017). Immobilization and microencapsulation of *Lactobacillus Caseii* and *Lactobacillus plantarum* using zeolite base and evaluating their viability in gastroesophageal-intestine simulated condition. *Ars Pharm*, **58**(4), 163–70.

Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Food Science and Technology*, **39**(10), 1221–7.

Khedkar, S., Carraresi, L. and broring, S. (2017). Food or pharmaceuticals? Consumers Perception of health-related borderline Products. *Pharma Nutrition*, **5**(4), 133–40.

Kurmann, J.A., Rasic, J.L. and Kroger, M. (1992). Encyclopedia of fermented fresh milk products: an international inventory of fermented milk, cream, buttermilk, whey, and related products. Pub. *Van Nostrand Reinhold New York*, **42**(10), 1157–63.

Li, M., Jin, Y., Wang, Y., Meng, L., Zhang, N., Sun, Y., Hao, J., Fu, Q. and Sun, Q. (2019). Perparation of Bifidobacterium breve encapsulated in Low methoxy Pectin beads and its effects on yogurt quality. *Journal of Dairy Science*, **102**(6), 4832–43.

Manickavasagan, A., Mohamed, E. M. and Sukumar, E. (2012). *Dates: Production, Processing, Food, and Medicinal Values* (*Medicinal and Aromatic Plans-Industrial Profiles*). Boca Raton, FFlorida. 442: CRC Press

Nazzaro, F., Florinda, F., Raffale, C., Alfonso, S. and Pierangelo, O. (2009). Fermentative ability of alginate- probiotic encapsulated Lactobacillus acidophilus and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, **1**(3), 319–23.

Obradovic, N., Lijakovic, I. P., Krunic, T., Belovic, M., Rakin, M. and Bugarski, B. (2020). Effect of Encapsulated Probiotic Starter Culture on Rheological and Structural Properties of Natural Hydrogel Carriers Affected by Fermentation and Gastrointestinal Conditions. *Food Biophysics*, **15**(1), 18–31.

O'Callaghan, A. and Van Sinderen, D. (2016). Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota. *Front Microbiol.* **7**(n/a), 925.

Olivares, A., Silva, P. and Altamirano, C. (2017). Microencapsulation of probiotics by efficient vibration technology. *Journal of Microencapsulation,* **34**(7), 667–674.

Prasanna, P.H.P. and Charalampopoulos, D. (2018). Encapsulation of *Bifidobacterium longum* in alginate-dairy matrices and survival in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, cow milk and goat milk. *Food Bioscience*, **21**(n/a),72–9.

Seyedain-Ardabili, M., Sharifan, A. and Tarzi, B.G. (2016). The production of symbiotic bread by microencapsulation. *Food Technol Biotechnol*, **54**(1), 52–9.

Sipailiene, A. and Petraityte, S. (2018). Encapsulation of probiotics proper selection of the probiotic strain and the influence of encapsulation technology and materials on the viability of encapsulation microoranisms. *Probiotics and Antimicro*, **10**(1),1–10.

Song, C. E., Kuppusamy, P., Jeong, Y. I., Shim, H. H. and Lee, K. D. (2019). Microencapsulation of endophytic LAB (KCC-41) and its probiotic and fermentative potential for cabbage kimchi. *International Microbiology*, **22**(1), 121–30.

Turhan, E.U. (2019). optimization of entrapment substances for microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* shirota against gastric conditions. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **25**(4), 531–7.

WHO and FAO. (2001). Report of a Joint FAO/WHO Expert consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. In: *American Cordoba Park Hotel*, Cordoba, Argentina, 1–4/10/2001.