

Dept. of Public Hygiene,
Fac. of Veterinary Medicine, Al-Bath Univ., Syria.

IMPROVEMENT THE SENSORY PROPERTIES OF LOCAL YOGHURT BY ADDITION OF WHEY PROTEIN CONCENTRATE

(With 9 Tables)

By

N. AL-AMOR ; Y. HANAN and R. ATRA

(Received at 18/1/2011)

تحسين الخواص الحسية للبن الرائب المحلي باستخدام مركز بروتين المصل

نصار العمر ، يحيى خان ، رمضان عطرة

تبحث هذه الدراسة في نوعية اللبن الرائب المحلي المثبت بإضافة مزيج من بودرة الحليب منزوع الدسم SMP ومركز بروتين المصل WPC. أحدث التخمر باستعمال بادئين مختلفين (بادئ اللبن الرائب، بادئ بروبيوتك). لوحظت اختلافات حسية معنوية بين المنتجات، حيث حصل المنتج ذو النسبة 1/6 WPS/SMP على أفضل تقييم حسي. ووجد أن استخدام بادئات البروبيوتك مع إضافة مركز بروتين المصل خفضت الحموضة اللاحقة للبن الرائب مما يؤثر إيجاباً على ثباتيته خلال مدة الصلاحية.

SUMMARY

The aim of the study was investigation of quality of settype yoghurt stabilized with addition of skim milk powder (SMP) and whey protein concentrate (WPC) blends. Fermentation was performed with two different starters (yoghurt culture, probiotic culture). Significant rheological differences have been noticed between the resulting yogurts, products with SMP/WPC ratio at 6/1 obtained the best sensory score. the use of probiotic starter and addition of WPC to yoghurt significantly decreased lactic acid concentration which positively influenced its stability during shelf life.

Key words: Milk, yoghurt, whey, protein.

INTRODUCTION

مقدمة

عرف الإنسان اللبن الرائب (اليوغورت) منذ ٦٠٠٠ سنة، ولعل كلمة "yoghurt" جاءت من كلمة "جوجورت" التركية والتي ظهرت في القرن الثامن (Rasic et al., 1978).

والراجح أن اللبن الرائب أنتج في الشرق الأوسط ، حيث كانت صلاحية الحليب محدودة نتيجة للبيئة الصحراوية، ثم أدخله الأتراك الرحل للأرياف كمنتج لبني محفوظ ، أما اليوم فتستعمل أسماء متنوعة لتشير للبن الرائب أو منتجات مشابهة).

(Tamime et al., 1980; Tamime et al., 1985; Akin et al., 1994)

يعرف اليوغورت حسب دستور مفوضية الأغذية FAO/WHO بأنه "منتج لبني متخثر يتحصل عليه بفعل *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* في الحليب (المبستر أو المركز) مع أو بدون إضافات (بودرة الحليب ، بودرة الحليب المقشود ، بودرة المصل)، هذا ويجب أن تكون الأحياء المجهرية في المنتج النهائي حية ووافرة. (Mareschi et al., 1989 ، FDA 1996c)

عند تحضير خلطة اليوغورت غالباً ما تضاف مواد لبنية لزيادة المادة الصلبة الكلية، بغية تحسين خواصه، وبشكل تقليدي تستعمل بودرة الحليب منزوع الدسم (SMP) *skim milk powder* لإغناء الحليب، ولكن الجودة المتزايدة والوفرة لمركبات بروتين المصل (WPC) *whey protein concentrate* إضافة لخواصها الوظيفية والصحية جذبت المصنّعين إليها، وجعلت منها بديلاً شائعاً لبودرة الحليب منزوع الدسم في صناعة اللبن الرائب.

وقد تستعمل مواد غير لبنية (نشاء، صمغ، جيلاتين، عديد السكريد). (Tamime et al., 1994 ; Tamime et al., 1999 ; Sodini et al., 2005) (Mistry et al., 1992).

ويعرف المصل بأنه السائل الأصفر المخضر الذي يرشح من خثرة الجبن المتجلطة أثناء عملية تصنيع الجبن، يحوي المصل تقريباً نصف الجوامد الكلية بالحليب الكامل ، يتركب المصل من ٩٣% ماء و ٦,٣٥% جوامد كلية (Huffman et al., 1996 ; Chandan et al., 1997).

اعتبر المصل لسنوات طويلة منتج ثانوي لتصنيع الجبن، وقد كان التخلص منه مشكلاً، فغالباً ما يستخدم في تغذية الحيوان أو يطرح في المجاري والأنهار والبحار (Smithers et al., 1996).

ومع تنامي الوعي بأهمية الغذاء الصحي والطرق البديلة للتحكم بالوزن أصبحت منتجات المصل لكونها مصدراً غنياً بالبروتين والفيتامينات والأملاح وفقيراً

بالطاقة، وذا فعالية حيوية فريدة ، أصبحت اليوم منتجا لبنيا أساسيا.
(Casper *et al.*, 1999).

ولصعوبة استعمال المصل بالشكل السائل، لابد من خضوعه لعمليات التقطية والترشيح والتكثيف، للحصول على منتجات المصل المتنوعة.
(Smithers *et al.*, 1996).

فمركز بروتين المصل (WPC) ينتج بواسطة الترشيح الفائق للمصل ، لتركيز جزيئات البروتين، من خلال طرد اللاكتوز والمعادن وغيرها من المركبات ذات الوزن الجزيئي المنخفض؛ والتي تصفى من المصل إلى الراشح، في حين يتركز البروتين في الجزء المحجوز، وبحسب نوع المنتج النهائي المطلوب تتم المعاملة فقد يحوي المنتج النهائي (٣٤ إلى ٨٠%) بروتين، لذا توجد أنواع مختلفة من مركبات بروتين المصل هي:

WPC80 , WPC70 , WPC60 , WPC50 , WPC34 . ويتركب بروتين المصل من: بيتالكتوغلوبولين ٥٠ - ٥٥% وألفا لاکتوبومين ٢٠ - ٢٥% وجليكومكروبيتيد (GMP) ١٥ - ٢٠% وغلوبيولينات مناعية (Ig) ١٠-١٥% وألبومين المصل البقري (BSA) ٥ - ١٠% ولاكتوفرين ١ - ٢% ولاكتوبيروكسيداز ٥% وأنظيمات حالة (ليزوزيمات) ١%. (Russell *et al.*, 2004; Beucler *et al.*, 2004).
(Francis *et al.*, 2000).

إن التركيب الفريد لمركز بروتين المصل الذي يجمع خواص تصنيعية (تهليم ولزوجة) وخواص تغذوية وعلاجية واسعة، يضيف الكثير لنوعية اللبن الرائب، والتي تدعمها من الجانب الآخر الفوائد المرجوة من أحياء البروبيوتك (حافظات الحياة) Probiotic المستخدمة في عملية التخمر اللبني مثل *Bifidobacterium* و *L. acidophilus* و *St. thermophilus* و *L. bulgaricus* حيث عرفت أحياء البروبيوتك Probiotic حسب FAO/WHO بأنها أحياء مجهرية، عندما تستهلك بكميات كافية تمنح المضيف منافع صحية.

ولإحداث التأثير الصحي الإيجابي المطلوب يجب أن تتراوح بين ١٠٦-١٠٩ CFU/g (Robinson *et al.*, 2002).

أول من أطلق مصطلح البروبيوتك (Probiotic) هما Lilley و Stillwell عام ١٩٦٥ ويعني "لأجل الحياة". في حين أن العالم Henry Tissier أول من عزل جراثيم *Bifidobacterium* من أمعاء رضيع مغذى على حليب الأم، وقد اقترح تطعيم أمعاء الرضع الذين يعانون من الإسهال بهذه الجراثيم، ثم استعملت هذه الجراثيم في إنتاج أنواع مختلفة من اللبن الرائب في أنحاء العالم.
(Lilley and Stillwell, 1965).

إن أحياء البروبيوتك Probiotic بما تولده من منتجات تخمر فعالة، تتآزر مع بروتينات المصل لتحسين نوعية اللبن الرائب جاعلة منه غذاء استثنائيا.

فقد أشار باحثون كثر للأثر الإيجابي لإضافة مركز بروتين المصل (WPC) عند صناعة اللبن الرائب لما يحمله من خواص وظيفية وتصنيعية، إضافة WPC للحليب المعد لصناعة اللبن الرائب زاد ثباتية الخثرة الناتجة وتماسكها، من خلال زيادة قوة جلنتة (تهليم) الكازين وبالتالي تزايد قدرة اللبن الرائب على حمل الماء ومنع انفصال المصل. (Cheng *et al.*, 2000; Beucler *et al.*, 2004) إن التأثيرات المحسنة لاستخدام WPC تتجاوز تحسين خواص اللزوجة والتلاحم ومنع انفصال المصل إلى دعم إنتاج مركبات النكهة في اللبن الرائب، فقد وجد تزايد إنتاج الأستالدهيد بزيادة نسبة بروتين المصل للحليب (Huginin *et al.*, 1999).

إن معظم الأبحاث الحديثة تدعم التأثير المحسن لمركز بروتين المصل على المنتج، ففي دراسة حديثة على الخواص الفيزيائية للبن الرائب المدعم بخمس مراكز بروتينية تجارية متنوعة (٣٤٠ غ/كغ)، تنوعت النتائج لتشير بمجمها إلى تحسن الخواص الحسية للبن الرائب المنتج بإضافة مركز بروتين المصل. (Sodini *et al.*, 2005).

لم يقتصر التأثير المحسن لمركز بروتين المصل على الخواص الحسية للبن الرائب فحسب؛ ولكنه يؤثر على نوعية اللبن عموماً ، ففي دراسة Sady, M. التي تناولت دراسة نوعية اللبن الرائب اللادسم؛ المنتج بتدعيم الحليب لمستوى بروتين ٥% من خلال إضافة مزيج من WPC و SMP ليخلص في دراسته بأن النوعية الأفضل كانت للبن المدعم بالخلطة SMP/WPC بنسبة ٢/١ ؛ وأن إضافة الخلطة ذات النسبة ١/٠ خفضت بشكل معنوي الخواص الحسية للبن، كما لاحظ أن إضافة WPC للبن خفض بشكل معنوي تركيز حمض اللبن والذي أثر بشكل إيجابي على ثباتية اللبن خلال مدة تخزينه، مشيراً إلى زيادة مواد النكهة وارتفاع التعداد الكلي لجراثيم البادئ. (Sady *et al.*, 2007).

ولعل العلاقة بين تعداد جراثيم البادئ وبروتين المصل هي علاقة مثبته ومدروسة ، فمن استراتيجيات تحسين قدرة أحياء البروبيوتك إغناء الحليب بالمواد الغذائية ، فيتحسن نمو جراثيم *L. Bulgaricus* و *St. Thermophilus* بشكل مباشر في الحليب المدعم بمركز بروتين المصل ومعزول بروتين المصل (Dave *et al.*, 1996; McComas *et al.*, 2003).

إن التعاضد في إحداث الأثر الصحي والتغذوي يدعم هذا الانسجام في استخدام WPC مع أحياء البروبيوتك وخصوصاً *L. bulgaricus* و *St. Thermophilus* والتي تستعمل كعوامل داعمة في عملية تخمر اللبن إلى جانب جراثيم البادئ الأساسية (Robinson *et al.*, 2002 ; Tamime *et al.*, 1999). فالقيمة الغذائية والصحية للبن الرائب وما يمتاز به من مزايا مقارنة مع الحليب كثيرة ومدونة، لكن ما يهتما هنا هو تركيز الضوء على فوائد بروتينات المصل وأحياء البروبيوتك في اللبن.

ولعل أهم ما يميز اللبن هو تخفيض أعراض سوء هضم اللاكتوز، والحاصل نتيجة لنقص كمية وفعالية أنزيم اللاكتاز في وبما أن تصنيع الـ WPC يعتمد على تركيز البروتين واستبعاد مكونات المصل الأخرى وخاصة اللاكتوز لينخفض لأقل من ٥% في WPC80 في حين يشكل اللاكتوز ٥٠-٧٠% من مكونات بودرة الحليب منزوع الدسم. (Huffman *et al.*, 1996; Pasin *et al.*, 2000). أما من جانب جراثيم البادئ فقد أظهرت الأبحاث الكثيرة الدور الفعال لبادئ اللبن وخاصة *St.thermophilus* و *L. bulgaricus* في تخفيض هذه الأعراض. (Mustapha *et al.*, 1997; Guarner *et al.*, 1998; Schorsch *et al.*, 2001) (Kim.1983; Huis *et al.*, 1994;

إن أهمية بروتينات المصل تتجلى في أوضح صورها في اللبأ، وما هذا التركيز العالي لبروتينات المصل فيه إلا صورة جلية لأهميتها ومنافعها الجليلة، فمن الجدير بالذكر أن الطفل المغذى على حليب الأم يتناول حوالي ٣ غرام لاکتوفرين يومياً خلال الأسبوع الأول من الحياة، وكما هو معروف فإن هذا الطفل يملك فلورا أمعاء أغنى منها لدى الطفل المغذى بالزجاجة وخاصة بالنسبة للبوفيدوباكتير والعصيات البنية، مثل هذه الفلورا تترافق بشكل طبيعي مع مقاومة متزايدة لاستعمار الجهاز الهضمي من قبل الجراثيم الممرضة (Reiter *et al.*, 1985 ; Van Hooijdonk *et al.*, 2000; Walzem *et al.*, 2002). إن غنى مركز بروتين المصل بالبروتين والمعادن ، وانخفاض محتواه من الدهون والطاقة يجعل منه غذاءً صحياً ينصح به خبراء التغذية وخاصة للصغار والمسنين بالإضافة لكونه اختياراً مثالياً للرياضيين أو من يعانون البدانة.

وقد تضافرت الأبحاث الحديثة التي تدعم القول بأن تناول الألبان المتخمرة وبروتين المصل يلعب دوراً في تخفيض مخاطر السمنة المتفشية والوقاية من هشاشة العظام ودعم بناء العظام وتقويتها، بالإضافة لكونها تشكل مصدراً جذاباً في برامج الحمية الغذائية عالية البروتين حيث يزيد من حجم وقوة العضلات خاصة إذا ما ترافق ذلك مع برنامج تدريب ثابت (Zemel *et al.*, 2003) ; Burke *et al.*, 2001; Aoe *et al.*, 2001 ; Yamamura *et al.*, 2002 ; Lands *et al.*, 1999 ; Toba *et al.*, 2000 ; Toba *et al.*, 2001 ; (Takada *et al.*, 1996; Smithers *et al.*, 1996; Takada *et al.*, 1997

ومن المسلم به أن منافع اللبن المدعم ببروتين المصل والحاوي على أحياء البروبيوتك تكون أوضح، فبالإضافة لتأثير بروتين المصل في خفض الكولسترول وجد دوراً مساعد لأحياء البروبيوتك، فالأسيدوفلس تستطيع خفض تركيز الكولسترول في أوساط النمو؛ كما أظهرت الدراسات البشرية تأثيراً خافضاً للكولسترول في الدم نتيجة استهلاك اللبن الحاوي على الأسيدوفلس؛ رغم أن هذا التأثير لا يكون طويلاً؛ مظهراً الحاجة لاستهلاك المزارع بشكل مستمر (Taranto, 1998) ; Gilliland *et al.*, 1985; Walker *et al.*, 1993; Buck *et al.*, 1994 ; (Ackley *et al.*, 1983

إن هذا التآزر بين أحياء البروبيوتك وبروتين المصل يبرز مجدداً في مقاومة السرطان، فقد وجد تأثير لكل من مركز بروتين المصل وأحياء البروبيوتك في منع ومعالجة السرطان (Smithers *et al.*, 1998 ; Tsuda *et al.*, 2000) (Weinberg *et al.*, 1996; Sekine *et al.*, 1997; Tsuda *et al.*, 1998).

إن مدار التأثير النافع لتناول أحياء البروبيوتك يبرز في التحسينات المناعية المترافقة مع تعديلات ميكروفلورا الأمعاء، وما ينجم عنها من منع ومعالجة العديد من الأمراض كالتهاب الكبد والسرطان الإسهالات الفيروسية والجرثومية وإصابات فطور الكانديدا والحساسية (Yoo *et al.*, 1998 ; Robinson *et al.*, 2002) (Suzuki *et al.*, 1989).

فأظهرت العديد من الدراسات تأثير بروتين المصل (اللاكتوفيرين) المضاد للجراثيم، حيث يملك مركز بروتين المصل تأثيراً مدمراً على جراثيم الهليكوباكتر بيلوري المسببة لحوالي ٩٠% من حالات قرحة الاثني عشر (Early *et al.*, 2001; Di Mario *et al.*, 2003).

ويعضد هذا التأثير لبروتين المصل تأثيراً أحياء البروبيوتك على هذه الجراثيم، فقد وجد أن لعصيات الأسيدوفلس تأثيراً كابحاً لبتيريا *H. pylori* (Bhatia *et al.*, 1989; Midolo *et al.*, 1995).

بالإضافة لما سبق ذكره من فوائد غذائية وعلاجية، فإن المنافع المحتملة للبروتينات بما يحويه وما يضاف له من بروتينات مصل وأحياء بروبيوتك كثيرة، فمن حالات الحساسية والتهاب الجلد والتهاب الكبد ونقص المناعة المكتسب والاضطرابات الهضمية ؛ ودوره الهام في تحسين التعافي وشفاء الجروح ورفع المناعة بعد العمليات الجراحية، وأثره المخفف للإجهاد والمريح للأعصاب، وتنشيط الوظيفة الإدراكية وغير ذلك (Markus *et al.*, 2002; MacKay *et al.*, 2003) (Zimecki *et al.*, 2001; Vesovic *et al.*, 2002 ; Okada *et al.*, 2002) (Graeff *et al.*, 1996; Markus *et al.*, 2000).

كل ذلك يدفعنا للعمل الجاد والمبني على أسس علمية بغية إيجاد سبل تقود لتحسين خواص هذا المنتج الفريد ؛ تغذية وصحية؛ بما يعود على المستهلك والمصنع بالفائدة المرجوة.

هدف وأهمية البحث: تكمن أهمية هذه الدراسة في كونها تبحث في خواص منتج لبني هام من حيث القيمة الاقتصادية والصحية، لإيجاد سبل النهوض بهذه الصناعة الأساسية، التي حازت اهتمام الباحثين حول العالم، حيث تعتبر هذه الدراسة نواة لمشروع وطني كبير في محاولة الاستفادة من كميات المصل الكبيرة الناتجة عند تصنيع الأجبان، والتي تهدر دون الاستفادة منها، فكان هدف هذا البحث تحسين النوعية الحسية والغذائية والصحية للبروتينات في سورية، من خلال استخدام البادئات الحافظة للحياة وإضافة مركز بروتين المصل.

MATERIALS and METHODS

المواد وطرائق العمل

المواد:

- الحليب المستخدم في تحضير المزارع الجرثومية هو حليب فرز، كما استخدمنا حليب خام من أجل تحضير عينات اللبن الرائب.
- بودرة الحليب المستخدمة كانت من إنتاج شركة (HILMAN U.S.A)
- مركز بروتين المصل المستخدم في الدراسة هو مركز بروتين مصل ٨٠% (WPC 80)، من إنتاج شركة (HILLMAN U.S.A).
- الياقات المستخدمة نوعين:
 - الياق A : LYOFAST 172F من إنتاج شركة SACCO الإيطالية. وهو بادي مجفد يحتوي مزرعة اللبن العادية (*L. bulgaricus* ، *St. thermophilus*).
 - الياق B : ABY-3 من إنتاج شركة CHR HANSEN الدنماركية، وكما يدل اسمه فهو بادي بروبيوتك يحتوي مزرعة اللبن العادية بالإضافة إلى (*Bifidobacterium* (BB-12) و *L. Acidophilus*(LA-5).

طرق القياس:

التقييم الحسي أجري بعد الاستعانة بالعاملين في مخبر شركة ألبان حمص والبالغ عددهم تسعة أشخاص، علماً أن التقييم تم استناداً إلى درجة خمس خواص أساسية هي: المظهر، الطعم، القوام، انفصال المصل، الحموضة. حيث أعطيت كل صفة ١٠ نقاط، تمنح للمنتج الذي يحقق الشروط المثالية، ثم تجمع النقاط التي حصل عليها المنتج، ليحسب متوسطها الحسابي والذي يمثل التقييم الحسي للبن الرائب.

طريقة العمل:

• التجربة الأولى:

- تم تحضير عدة مزارع جرثومية من مزرعة أم محضرة من بادي A
- حضرت المزرعة الأم من البادي A وفق الخطوات التالية:
 - غلي لتر حليب فرز ٩٣° م لمدة ١٥-٢٠ دقيقة
 - تبريد الحليب إلى الدرجة ٤٢-٤٥°م
 - إضافة ١ غ من البادي A
 - تحضين على الدرجة ٤٢-٤٥°م
 - تبريد إلى الدرجة ١٠° م
 - حفظ في البراد ٤-٨° م.
- تحضير المزرعة الأولى من المزرعة الأم وفق الخطوات التالية:
 - غلي لتر حليب فرز ٩٣° م لمدة ١٥-٢٠ دقيقة
 - تبريد الحليب إلى الدرجة ٤٢-٤٥° م

- إضافة بادئ المزرعة الأم بنسبة ٣%
 - تحضين على الدرجة ٤٢-٤٥°م
 - تبريد إلى الدرجة ١٠°م
 - حفظ في البراد ٤-٨°م.
- حضرت مزرعة ثانية من المزرعة الأولى بنفس الخطوات السابقة.
 - تم تحضير لبن رائب من المزارع السابقة وفق الخطوات التالية:
 - غلي حليب خام لمدة ١٠ دقائق
 - تبريد الحليب إلى الدرجة ٤٢-٤٥°م
 - إضافة البادئ بنسبة ٢%
 - تحضين على الدرجة ٤٢-٤٥°م
 - تبريد إلى الدرجة ١٠°م
 - حفظ في البراد ٤-٨°م.
- التجربة الثانية:
 - كررت الخطوات المذكورة في التجربة الأولى، لكن مع البادئ B فحضرت مزرعة أم ومزرعة أولى وثانية ، ثم حضر لبن رائب من هذه المزارع.
- التجربة الثالثة:
 - تم تحضير لبن رائب بمزج نسب مختلفة من المزرعة الأم للبادئ A مع المزرعة الأم للبادئ B على النحو A:B وفق النسب التالية: ١:٩ ، ٢:٨ ، ٣:٧ ، ٤:٦ من أجل الوصول لأفضل خلطة بادئ.
- التجربة الرابعة: حضر لبن رائب عند نسب بادئ مختلفة لتحديد نسبة البادئ الفضلى فأضيف البادئ عند النسب ١% ، ٢% ، ٣% ، ٤% ، ٥%
- التجربة الخامسة:
 - حضر لبن رائب مع إضافة نسب مختلفة من بودرة الحليب المقشود لتحديد النسبة المثلى حيث كانت نسب SMP المختبرة: ١% ، ١,٥% ، ٢% ، ٢,٥% ، ٣%.
- التجربة السادسة: تم تحضير لبن رائب مع إضافة مركز بروتين المصل بنسب متدرجة لتحديد أفضل نسبة وكانت نسب الإضافة: ٠.5% ، ١% ، ١,٥% ، ٢% ، ٢,٥%
- مع ملاحظة أن إضافة بودرة الحليب ومركز البروتين يجب أن تكون قبل المعاملة الحرارية.
- التجربة السابعة: حضر لبن رائب باستخدام خلطة البادئ، مع إضافة بودرة حليب منزوع الدسم ومركز بروتين المصل وفق خطة دولهرت الرياضية.
 - مبدأ خطة دولهرت ١٩٧٠:
 - لدراسة تأثير إضافة مركز بروتين المصل مع بودرة الحليب المنزوع الدسم على نوعية اللبن الرائب المحلي عند استخدام بادئ البروبيوتك تم الاعتماد على الخطة التجريبية للعالم دولهرت.

حيث اعتمدت خطة تجريبية حسب القالب المبين من قبل العالم Doehlert 1970. التي تعطي عدداً من النقاط أو الشروط التجريبية مطابقة للمعادلة $K^2 + K + 1$ حيث K هو عبارة عن عدد العوامل المدروسة. في هذا النموذج هناك نقطة تتوضع في المركز أم النقاط الأخرى فتتوضع في المحيط (الشكل ٣). في خطتنا التجريبية هناك ثلاث عوامل مدروسة. واحد من هذه العوامل هو نسبة إضافة بادئ البروبيوتك (B%) ؛ حيث تمت دراسة تأثيرها عند ثلاث مستويات العامل الآخر هو نسبة إضافة بودرة الحليب منزوع الدسم إلى اليوغورت (SMP%) حيث تمت دراسة تأثيرها عند خمسة مستويات، أما العامل الثالث فهو نسبة إضافة مركز بروتين المصل (WPC%) فتمت دراسة تأثيرها عند سبعة مستويات.

حسب خطة دوهرلرت، فإن تأثير العوامل الثلاثة تم اختياره حسب ١٣ شرطاً تجريبياً ، أما النقطة المركزية (٠,٠,٠) فقد كررت ثلاث مرات، فلقد درست نسبة البادئ (B %) عند ثلاث مستويات هي 2 ، 3 ، 4 % تم اختيار هذه النسب مع مراعاة النسبة الفضلى لإضافة البادئ، حيث اخترنا قيمة أعلى وأخرى أدنى منها لتغطي المجال المستخدم للبادئ.

بينما درست (SMP%) عند خمسة مستويات وهي: 1، 1.5، 2، 2.5، 3 % القيم اختيرت لأنها تشكل مجالاً حول أنسب قيم إضافة الـ SMP المستخدم في تصنيع اللبن الرائب في الدراسة.

أما WPC% فقد تمت دراسة تأثيره عند سبعة مستويات، تراعي النسبة الأفضل لإضافة مركز بروتين المصل إلى اللبن الرائب وهذه المستويات هي: 0.25 ، 0.5 ، 0.75 ، 1 ، 1.25 ، 1.5 ، 2 %.

الشروط	القيمة حسب الخطة			القيمة التجريبية		
	Starter%	SMP	WPC	Starter%	SMP%	WPC%
C1	0,000	1,0	0,000	٣	٣	1
C2	0,000	+0,5	+0,866	٣	2.5	2
C3	+0,816	+0,5	+0,289	٤	2.5	1.25
C4	-0,816	+0,5	-0,289	٢	2,5	0.75
C5	0,000	+0,5	-0,866	٣	2.5	0.25
C6	0,000	-0,5	+0,866	٣	1.5	2
C7	+0,816	-0,5	0,289	٤	1.5	1.25
C8	-0,816	-0,5	-0,289	٢	1.5	0.75
C9	0,000	-0,5	-0,866	٣	1.5	0.25
C10	-0,816	0,0	0,577	٢	2	1.5
C11	0,000	0,0	0,000	٣	2	1
C12	0,816	0,0	-0,577	٤	2	0.5
C13	0,000	-1,0	0,000	٣	1	1

RESULTS

النتائج

• التجربة الأولى:

تم تحضير عدة مزارع جرثومية من مزرعة أم محضرة من بادئ A ، ثم تحضير لبن رائب. أشارت النتائج عند زرع البادئ في ثلاث مزارع متتالية إلى عدم وجود فروق بين المزارع الثلاث من حيث التقييم والعوامل المدروسة (جدول ١)

جدول ١: مزارع البادئ A

المزرعة الخاصية	المزرعة الأم	المزرعة الأولى	المزرعة الثانية
زمن لتحضين / ساعة	٢,٣٠	٢,٤٠	٢,٤٥
الحموضة المعاييرة D	٧٥	٧٥	٧٥
التقييم الحسي	١٠	١٠	١٠

وقد وجد أن اللبن المنتج من المزارع الثلاث يتسم بحدوث تطور حموضة لاحقة بسيط خلال التخزين وضمن الشروط القياسية السورية. ومن الجدير ذكره أن الخواص الحسية لم تتأثر خلال مدة التخزين، في حين حافظت المزارع الثلاث على خواص متقاربة خلال مدة التخزين.

جدول ٢: تغير حموضة اللبن المحضر مع الزمن

الزمن (يوم)	الحموضة المعاييرة D		
	لبن مزرعة أم	لبن مزرعة أولى	لبن مزرعة ثانية
١	٧٩	٧٩	٨٠
٢	٨٠	٨٠	٨١
٣	٨٠	٨١	٨٢
٤	٨١	٨٢	٨٣
٥	٨١	٨٢	٨٣

• التجربة الثانية: تم تحضير عدة مزارع جرثومية، ثم لبن رائب من البادئ B.

جدول ٣: مزارع البادئ B

المزرعة الخاصية	المزرعة الأم	المزرعة الأولى	المزرعة الثانية
زمن التحصين/ساعة	٢,٤٥	٢,٥٠	٢,٥٠
الحموضة المعاييرة D	٧٥	٧٥	٧٥
التقييم الحسي	٦	٧	٨

بالنظر للجدول (٣) نلاحظ انخفاض في التقييم الحسي للمزرعة الأم، ثم يتزايد تدريجياً ، وهذا الانخفاض عائد لظهور صفة المطاطية وأثار طعم حلو في المنتج.

جدول ٤: تغير حموضة اللبن المحضر من البادئ B مع الزمن

المزرعة (يوم)	الحموضة المعاييرة D		
	لبن المزرعة الأم	لبن المزرعة الأولى	لبن المزرعة الثانية
١	٧٩	٨٠	٨٠
٢	٨٠	٨١	٨١
٣	٨٢	٨٢	٨٢
٤	٨٢	٨٣	٨٣
٥	٨٢	٨٣	٨٣

من خلال الجدول (٤) نلاحظ تطور ضعيف للحموضة اللاحقة أثناء التخزين، وبالتالي ثباتية في مواصفات المنتج، في حين يظهر عدم وجود فروق معنوية بين لبن المزارع الثلاث.

• التجربة الثالثة:

تحضير لبن رائب بمزج نسب مختلفة من المزرعة الأم للبادئ A مع المزرعة الأم للبادئ B من أجل الوصول لأفضل خلطة بادئ.

جدول ٥: نسب مزج البادئين

المزرعة B:A	لبن مزرعة أم	لبن مزرعة أولى	لبن مزرعة ثانية	التقييم الحسي
١:٩	٧٩	٧٩	٨٠	١٠
٢:٨	٧٩	٨٠	٨٠	١٠
٣:٧	٨٠	٨٠	٨١	٨
٤:٦	٨٠	٨٠	٨١	٧

ملاحظة: هذه القياسات والقيم أخذت على لبن بعمر يوم.

كما يظهر الجدول (٥) فالنسبة المثلى لمزج البادئين B:A كانت ٢:٨ وذلك تبعاً للتقييم الحسي.

• التجربة الرابعة :

تحضير لبن رائب عند نسب بادئ مختلفة لتحديد نسبة البادئ الفضلى.

جدول ٦: تطور الحموضة خلال التحضين باختلاف نسبة البادئ

الحموضة المعيارية D						النسبة %
180	150	120	90	60	30	
62	57	52	40	29	22	١
76	71	61	49	37	25	٢
80	75	63	52	39	27	٣
82	76	65	53	40	29	٤
86	80	69	59	48	32	٥

يظهر من الجدول (٦) أنه عندما تكون نسبة البادئ قليلة يحدث تطور ضعيف للحموضة مع ضعف (هشاشة) في الخثرة الناتجة، كانت أفضل النتائج مع النسبة ٣%.

• التجربة الخامسة:

تحضير لبن رائب مع نسب مختلفة من بودرة الحليب المقشود لتحديد النسبة الأمثل.

جدول ٧: تغير الحموضة باختلاف نسبة SMP

٣	٢,٥	٢	١,٥	١	٠	SMP%
						زمن/يوم
٨٢	٨١	٨٠	٨٠	٧٩	٧٩	1
٨٣	٨٢	٨١	٨١	٨٠	٨٠	2
٨٤	٨٣	٨٢	٨٢	٨١	٨٠	3
٨٥	٨٣	٨٢	٨٢	٨١	٨١	4
٨٦	٨٤	٨٢	٨٢	٨١	٨١	5
٧	٨	١٠	٩	٨	٨	تقييم حسي

من خلال الجدول (٧) نلاحظ:

- عدم وجود فروق بين اللبن الشاهد واللبن المحضر عند النسبة ١%.
- كانت أفضل نسبة لإضافة بودرة الحليب منزوع الدسم هي ٢%.

• التجربة السادسة:

تم تحضير لبن رائب مع إضافة مركز بروتين المصل بنسب متدرجة لتحديد أفضل.

جدول ٨: تغير الحموضة حسب نسبة WPC

١,٥	١	٠,٥	٠,٢٥	٠	WPC %
٧٦	٧٧	٧٧	٧٩	٧٩	١
٧٧	٧٨	٧٨	٨٠	٨٠	٢
٧٩	٧٩	٧٩	٨٠	٨٠	٣
٧٩	٨٠	٨٠	٨١	٨١	٤
٧٩	٨٠	٨٠	٨١	٨١	٥
٧	١٠	٩	٨	٨	التقييم الحسي

كما يشير الجدول (٨):

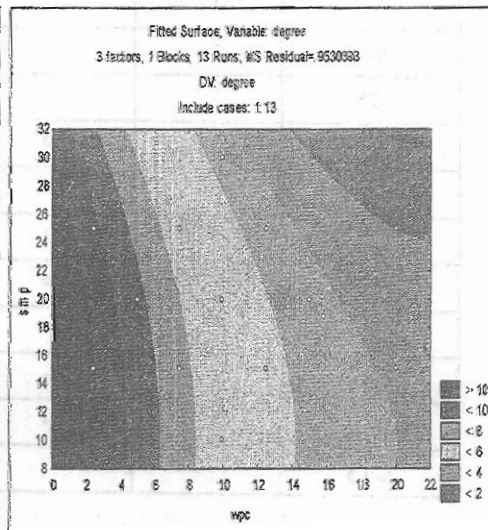
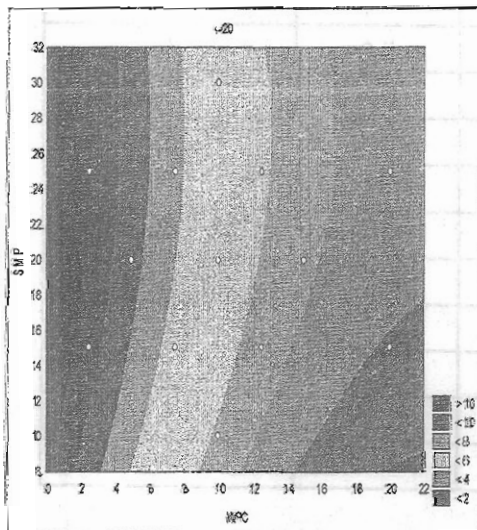
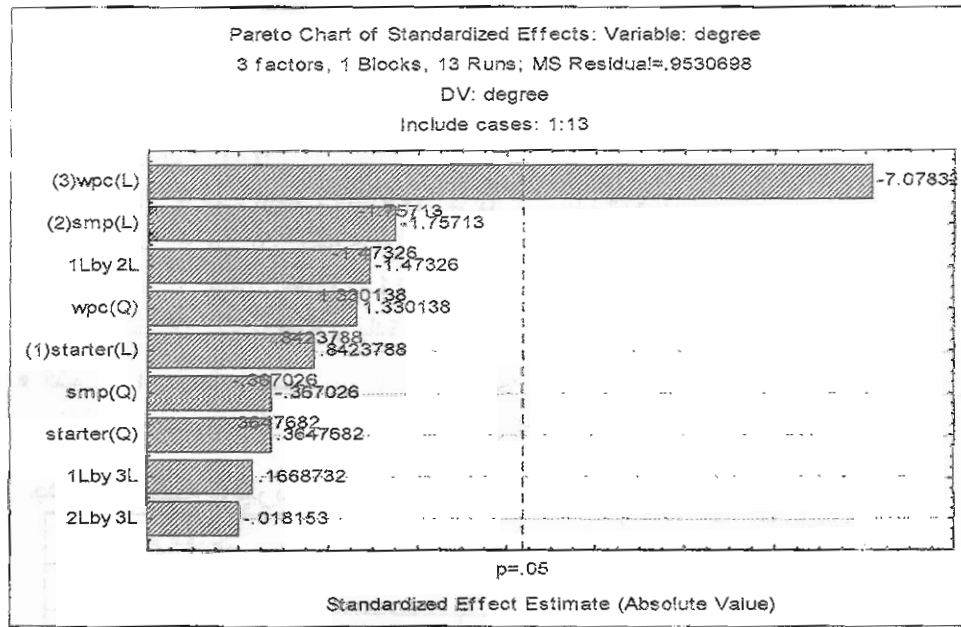
- ✓ تأثير طفيف للنسب القليلة من مركز بروتين المصل.
 - ✓ أنتج أفضل لبن باستخدام النسبة ١% .
 - ✓ انخفض التقييم عند زيادة نسبة WPC لتغير صفات اللون والطعم والقوام.
 - ✓ انخفاض الحموضة بزيادة نسبة مركز بروتين المصل.
- التجربة السابعة: تحضير لبن رائب باستخدام خلطة البادئ، مع إضافة بودرة حليب منزوع الدسم ومركز بروتين المصل وفق خطة دوهرت الرياضية ١٩٧٠.

جدول ٩: خطة دوهرت ١٩٧٠

الشرط	البادئ	SMP	WPC	التقييم الحسي
C1	٣٠	٣٠	١٠	٤
C2	٣٠	٢٥	٢٠	٣
C3	٤٠	٢٥	١٢,٥	٥
C4	٢٠	٢٥	٧,٥	٨
C5	٣٠	٢٥	٢,٥	٩
C6	٣٠	١٥	٢٠	٤
C7	٤٠	١٥	١٢,٥	٦
C8	٢٠	١٥	٧,٥	٦
C9	٣٠	١٥	٢,٥	١٠
C10	٢٠	٢٠	١٥	٤
C11	٣٠	٢٠	١٠	٦
C12	٤٠	٢٠	٥	٩
C13	٣٠	١٠	١٠	٧

يظهر الجدول (٩):

أن أفضل شرط في التجربة هو C9 ، في حين كان الشرطين C12 ، C5 جديدين. كما يلاحظ من خلال المعالجة الرياضية للبرنامج تأثير سلبي لزيادة نسبة مركز بروتين المصل على نوعية اللبن الرائب الناتج، في حين عند زيادة نسبة بروتين المصل يترافق تحسن نوعية اللبن مع زيادة في نسبة البادئ.



DISCUSSION

المناقشة

تبين أن المزارع الثلاث المتتالية المحضرة من البادئ المختبر متشابهة؛ ولا تحمل تغيرات تذكر في خصائص اللبن الرائب، لذا يمكن إكثار البادئ في ثلاث مزارع دون حدوث مشاكل تصنيعية نتيجة اختلال توازن البادئ وبالتالي حدوث تجمضن لاحق.

وهذا يتفق مع معايير إكثار البادئات واستعمالاتها الصناعية.

كما وجد أن البادئ B يؤدي إلى ظهور صفة المطاطية (زيادة اللزوجة) في اللبن الرائب المنتج وذلك يرجع إلى إنتاج عديد السكريد الخارجي عن طريق جراثيم البوفيدوباكثر.

وللتغلب على هذه الصفة فقد لجأنا إلى خلط مزرعة أم A مع أم B ، كانت أفضل نسبة هي ٨:٢ (B:A)، حيث أعطت لبن يمتاز بخواص حسية جيدة دون ظهور صفة المطاطية

والتي عادت لتبرز عند زيادة نسبة البادئ B في الخلطة ، علماً أن العترات المنتجة للزوجة مستخدمة عالمياً في تصنيع اللبن الرائب بل ويمكن أن تضاف البولي سكريدات كمثبتات ومحسنات قوام، لكن ظهور هذه الصفة لا يتفق مع ذوق المستهلك المحلي.

وجدنا أن النسبة الأمثل لإضافة بودرة الحليب منزوع الدسم كانت ٢%. وهذا يتفق مع المعايير الدولية، التي تسمح بإضافة حتى ٤% ، لكن وجد أن زيادة هذه النسبة يؤدي إلى ظهور طعم البودرة في اللبن الرائب، في حين لم تعطي النسب الأقل التحسينات المطلوبة.

وهذا الأمر منطبق على مركز بروتين المصل، فعند إضافته للحليب بشكل منفرد كانت أفضل نسبة لإضافته ١% ، وزيادة هذه النسبة يؤدي إلى ظهور طعم المصل في اللبن الرائب، ويجعل لونه يميل للاصفرار بالإضافة إلى تكون خثره جبنية القوام، وهذا يتفق مع الدراسات والمراجع المعتمدة.

أبرزت النتائج أن نسبة إضافة البادئ المستخدم المثلى هي ٣% ، فقد أظهرت النسب الأقل ضعفاً في فعالية جراثيم البادئ انعكس على خواص المنتج، في حين أن زيادة كمية البادئ أدت إلى تجمض لاحق وانفصال مصل.

رغم أن معظم الأبحاث تشير إلى أن النسبة المستخدمة كانت ١-٢% إلا أنه للتغلب على انخفاض نشاط بادئ البروبيوتك في شروط تصنيع اللبن الرائب المحلية (٤٢-٤٥م / ٢-٣ ساعة) فقد كانت زيادة نسبة البادئ هي الحل المثالي في تجاربنا. وهذه النتيجة الهامة كانت جلية في المعالجة الإحصائية من خلال خطة دوهرت ١٩٧٠، كما بينت أنه يمكن التغلب على السليبات الناتجة عن زيادة نسبة مركز بروتين المصل في اللبن من خلال زيادة نسبة البادئ، وبشكل مقابل وجد أن انخفاض نسبة البادئ تتفق مع زيادة نسبة بودرة الحليب منزوع الدسم.

وقد وجد أن أفضل شرط هو C9 والذي يضم نسبة بادئ ٣% (٣٠ غ / كغ) ونسبة بودرة الحليب منزوع الدسم ١,٥% (١٥ غ / كغ) ونسبة مركز بروتين المصل ٢٥,٢% (٢,٥ غ / كغ) ، حيث نسبة WPC/SMP هي ١/٦ أظهرت المعالجة الرياضية لخطة دوهلرت وجود علاقة رياضية تفيد بأن زيادة نسبة مركز بروتين المصل تؤدي لانخفاض النوعية الحسية للبن الرائب الناتج.

وهذا يتفق مع ما وجدته *Sady et al. (2007)* حيث كانت نسبة مركز بروتين المصل أقل من نسبة بودرة الحليب، وقد يعود ذلك للتركيز الاصطناعي لمركز بروتين المصل، بالإضافة للخواص التصنيعية الفعالة له. يستنتج من هذا البحث:

أن إضافة مركز بروتين المصل بكميات مناسبة يؤثر إيجاباً في نوعية اللبن الرائب، ولا سيما عند استخدام بادئات البروبيوتك، لذا ننصح بإجراء دراسة متكاملة للاستفادة من كميات المصل الهائلة الناتجة عن تصنيع الجبن، والتي تطرح على الغالب في الجاري المائية ومجاري الصرف، مما يؤثر سلباً على البيئة ويضر بالاقتصاد الوطني.

REFERENCES

- Ackley, S.; Barrett-Conner, E. and Suarez, L. (1983):* Dairy products, calcium, and blood pressure. *Am. J. Clin Nutr*, 38: 457-461.
- Akin, N. and Rice, P. (1994):* Main yogurt and related products in Turkey. *Cult. Dairy Prod. J.* 29: 23, 25-26: 28-29.
- Aoe, S.; Toba, Y. and Yamamura, J. (2001):* Controlled trial of the effects of milk basic protein (MBP) supplementation on bone metabolism in healthy adult women. *Biosci Biotechnol Biochem*, 65: 913-918.
- Beucler, J.; Drake, M. and Foegeding, E.A. (2004):* Design of a thirst quenching beverage from whey permeate. Department of Food Science, North Carolina State University, Box 7624, Raleigh, NC, 27695.
- Bhatia, S.J.; Kochar, N.; Abraham, P.; Nair, N.G. and Mehta, A.P. (1989):* Lactobacillus acidophilus inhibits growth of Campylobacter pylori in vitro. *JClinMicrobiol.*; 27(10): 2328-2330.
- Bos, C.; Gaudichon, C. and Tome, D. (2000):* Nutritional and physiological criteria in the assessment of milk protein quality for humans. *J. Am. Coll Nutr*, 19:191S-205S.
- Buck, L.M. and Gilliland, S.E. (1994):* Comparisons of freshly isolated strains of Lactobacillus acidophilus of human intestinal origin

- for ability to assimilate cholesterol during growth. *J. Dairy Sci*; 77(10): 2925-33
- Burke, D.G.; Chilibeck, P.D. and Davidson, K.S. (2001):* The effect of whey protein supplementation with and without creatine monohydrate combined with resistance training on lean tissue mass and muscle strength. *Int. J. Sport Nutr Exerc Metab*, 11: 349-364.
- Casper, J.L.; Wendorff, W.L. and Thomas, D.L. (1999):* Functional properties of whey proteins concentrates from caprine and ovine specialty cheese wheys. *Journal of Dairy Science*, Vol. 82: 265-271.
- Chandan, R. (1997):* Dairy-Based Ingredients. Eagan Press Handbook Series. St. Paul, MN.
- Cheng, L.J.; Augustin, M.A. and Clarke, P.T. (2000):* Yogurts from skim milk whey protein concentrate blends. *Australian Journal of Dairy Technology* 55:110
- Dave, R.I. and Shah, N.P. (1996):* Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and bifidobacteria. *J. of Dairy Science*, 79: 1529-1536.
- Di Mario, F.; Aragona, G. and Bo, N.D. (2003):* Use of lactoferrin for *Helicobacter pylori* eradication. Preliminary results. *J. Clin Gastroenterol*; 36: 396-398.
- Di Mario, F.; Aragona, G. and Dal Bo, N. (2003):* Use of bovine lactoferrin for *Helicobacter pylori* eradication. *Dig Liver Dis*; 35: 706-710.
- Early, E.M.; Hardy, H.; Forde, T. and Kane, M. (2001):* Bactericidal effect of a whey protein concentrate with anti-*Helicobacter pylori* activity. *J. Appl. Microbiol*; 90: 741-748.
- FDA. (1996c):* Yogurt. 21 CFR 131. 200, Code of Federal Regulations. U.S. Dept. of Health and Human Services, Washington, DC.
- Francis, F.J. and Wiley, (2000):* "Whey: Composition, Properties, Processing and Uses". *Wiley Encyclopedia of Food Science and Technology*. 2nd Edition. New York. p.2652-2661.
- Gilliland, S.E.; Nelson, C.R. and Maxwell, C.V. (1985):* Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 377-381.
- Graeff, F.G.; Guimaraes, F.S.; De Andrade, T.G. and Deakin, J.F. (1996):* Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav*; 54: 129-141.

- Guarner, F. and Schaafsma, G.J. (1998):* Probiotics. *Int. J. Food Microbiol*, 39: 237-238.
- Huffman, L.M. (1996):* Processing whey protein for use as a food ingredient. *Food Technology*. 50: 49-52.
- Huginin, A. (1999):* Whey products in yogurt and fermented dairy products. U.S. Dairy Export Council, 1-8.
- Huis in't Veld, J.H.; Havenaar, R. and Marteau, P. (1994):* Establishing a scientific basis for probiotic R&D. *Trends Biotechnol*, 12(1): 6-8.
- Kim, H.S. and Gilliland, S.E. (1983):* Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *J. Dairy Sci*. 66: 959-699.
- Lands, L.C.; Grey, V.L. and Smountas, A.A. (1999):* Effect of supplementation with a cysteine donor on muscular performance. *J. Appl. Physiol*, 87: 1381-1385.
- Lilley, D.M. and Stillwell, R.H. (1965):* Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*; 147: 747-748.
- MacKay, D. and Miller, A.L. (2003):* Nutritional support for wound healing. *Altern Med Rev*; 8: 359-377.
- Mareschi, J.P. and Cueff, A. (1989):* Essential characteristics of yogurt and its regulation around the world, p. 11-28. In Chandan, R.C. (ed.), *Yogurt: Nutritional and Health Properties*. National.
- Markus, C.R.; Olivier, B. and De Haan, E.H. (2002):* Whey protein rich in alpha-lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. *Am J. Clin. Nutr*; 75: 1051-1056.
- Markus, C.R.; Olivier, B. and Panhuysen, G.E. (2000):* The bovine protein alpha-lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress. *Am. J. Clin. Nutr*; 71: 1536-1544.
- Mccomas, J.R. and Gilliland, S.E. (2003):* Growth of probiotic and traditional yogurt cultures in milk supplemented with whey protein hydrolysate. *J. Food Sci.*, 68 (6): 2090-2095.
- Midolo, P.D.; Lambert, J.R.; Hull, R.; Luo, F. and Grayson, M.L. (1995):* In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by organic acids and lactic acid bacteria. *J. Appl. Bacteriol*. 79(4): 475-9.

- Mistry, V.V. and Hassan, H.N. (1992):* Manufacture of nonfat yogurt from a high milk protein powder. *J. Dairy Sci.* 75: 947-957.
- Mustapha, A.; Jiang, T. and Savaiano, D.A. (1997):* Improvement of Lactose Digestion by Humans Following Ingestion of Unfermented Acidophilus Milk: Influence of Bile Sensitivity, Lactose Transport, and Acid Tolerance of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 80 (8): 1537-1545.
- Okada, S.; Tanaka, K. and Sato, T. (2002):* Doseresponse trial of lactoferrin in patients with chronic hepatitis C. *Jpn. J. Cancer Res*; 93: 1063-1069.
- Pasin, Dr.G. and Dr.S.L. Miller, Ph.D. (2000):* U.S. Whey Products and Sports Nutrition. U.S. Dairy Export Council.
- Rasic, J.L. and Kurmann, J.A. (1978):* Yoghurt: Scientific Grounds, Technology, Manufacture and Preparation. Technical Dairy Publishing House, Berne, Switzerland.
- Reiter, B. (1985):* The biological significance of the non-immunoglobulin protective proteins in milk: lysozyme, lactoferrin, lactoperoxidase. *Dev Dairy Chem*; 3: 281-336.
- Robinson, R.K. (2002):* Dairy Microbiology Handbook, 3rd, ISBN 0-471-38596-4, Wiley-Interscience, Inc.
- Russell, T.A. and Drake, M. (2004):* Comparison of sensory properties of whey and soy protein concentrates and isolates. Department of Food Science, North Carolina State University, Box 7624, Raleigh, NC, 27695.
- Sady, M.; Domagala, J.; Gregal, T. and Najgebauer-Lejko, D. (2007):* Quality Properties Of Non-Fat Yoghurt With Addition Of Whey Protein Concentrate. *Biotechnology in Animal Husbandry* 23 (5-6): 291-299.
- Sanders, M.E. (1993):* In *Functional Food: Designer Food, Pharma foods and Nutraceutical*, I. Goldberg,ed., Chapman and Hall, New York, p. 294-322.
- Schorsch, C.; Wilkins, D.K.; Jones, M.G. and Norton, I.T. (2001):* Gelation of casein-whey mixtures: effects of heating whey proteins alone or in the presence of casein micelles. *J. Dairy Res.* 68: 471-481.
- Sekine, K.; Watanabe, E. and Nakamura, J. (1997):* Inhibition of azoxymethane-initiated colon tumor by bovine lactoferrin administration in F344 rats. *Jpn. J. Cancer Res*; 88: 523-526.
- Smithers, G.W.; Ballard, F.J.; Copeland, A.D.; De Silva, K.J.; Dionysius, D.A.; Francis, G.L.; Godard, C.; Grieco, P.A.;*

- McIntosh, G.H.; Mitchell, I.R.; Pearce, R.J. and Regester, G.O. (1996):* New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. symposium: advances in dairy foods processing and engineering. *J. Dairy Sci.* 79: 1454-1459.
- Smithers, G.W.; McIntosh, G.H. and Regester, G. (1998):* Anti-cancer effects of dietary whey proteins. *Proceedings of the Second International Whey Conference*; 9804: 306-309.
- Sodini, I.; Montella, J. and Phillip, S.T. (2005):* Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. *J. Sci. Food Agric.* 85: 853-859.
- Suzuki, T.; Yamauchi, K. and Kawase, K. (1989):* Collaborative bacteriostatic activity of bovine lactoferrin with lysozyme against *E. coli*. *Agric Biol Chem*; 53: 1705-1706.
- Takada, Y.; Kobayashi, N. and Kato, K. (1997):* Effects of whey protein on calcium and bone metabolism in ovariectomized rats. *J.Nutr Sci.Vitaminol (Tokyo)*, 43: 199-210.
- Takada, Y.; Kobayashi, N. and Matsuyama, H. (1999):* Whey protein suppresses the osteoclast mediated bone resorption and osteoclast cell formation. *Int. Dairy J.*, 7: 821-825.
- Takada, Y.; Aoe, S. and Kumegawa, M. (1996):* Whey protein stimulated the proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 223:445-449.
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. (1999):* Yoghurt: science and technology, 2nd edn. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Tamime, A.Y. and Deeth, H.C. (1980):* Yogurt: technology and biochemistry. *J. Food Prot.*, 43: 939-977.
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. (1985):* Yoghurt: Science and Technology. Pergamon Press Ltd., Oxford, UK.
- Tamime, A.Y.; Barclay, M.N.I.; Davies, G. and Barrantes, E. (1994):* Production of low-calories yogurt using skim milk powder and fat-substitute.1. A review. *Milchwissenschaft* 49: 85-88.
- Taranto, M.P.; Medici, M.; Perdigon, G.; Ruiz Holgado, A.P. and Valdez, G.F. (1998):* Evidence for Hypocholesterolemic Effect of *Lactobacillus reuteri* in Hyper-cholesterolemic Mice. *J. Dairy Sci.* 81: 2336-2340.
- Toba, Y.; Takada, Y. and Matsuoka, Y. (2001):* Milk basic protein promotes bone formation and suppresses bone resorption in healthy adult men. *Biosci Biotechnol Biochem*, 65: 1353-1357.

- Toba, Y.; Takada, Y. and Yamamura, J. et al. (2000):* Milk basic protein: a novel protective function of milk against osteoporosis. *Bone*, 27: 403-408.
- Tsuda, H.; Sekine, K. and Nakamura, J. (1998):* Inhibition of azoxymethane initiated colon tumor and aberrant crypt foci development by bovine lactoferrin administration in F344 rats. *Adv. Exp. Med. Biol.* 443: 273-284.
- Tsuda, H.; Sekine, K. and Ushida, Y. (2000):* Milk and dairy products in cancer prevention: focus on bovine lactoferrin. *Mutat Res*; 462: 227-233.
- Van Hooijdonk, A.C.; Kussendrager, K.D. and Steijns, J.M. (2000):* In vivo antimicrobial and antiviral activity of components in bovine milk and colostrum involved in non-specific defence. *Br. J. Nutr*; 84: 127-134.
- Vesovic, D.; Borjanovic, S.; Markovic, S. and Vidakovic, A. (2002):* Strenuous exercise and action of antioxidant enzymes. *Med. Lav.*, 93: 540-550.
- Walker, D.K. and Gilliland, S.E. (1993):* Relationships among bile tolerance, bile salt deconjugation and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *J. DairySci.* 76: 956-961.
- Walzem, R.L.; Dillard, C.J. and German, J.B. (2002):* Whey components: millennia of evolution create functionalities for mammalian nutrition: what we know and what we may be overlooking. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*; 42: 353-375.
- Weinberg, E.D. (1996):* The role of iron in cancer. *Eur. J. Cancer Prev*, 5: 19-36.
- Yamamura, J.; Aoe, S. and Toba, Y. (2002):* Milk basic protein (MBP) increases radial bone mineral density in healthy adult women. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66: 702-704.
- Yoo, Y.C.; Watanabe, S. and Watanabe, R. (1998):* Bovine lactoferrin and lactoferricin inhibit tumor metastasis in mice. *Adv. Exp. Med. Biol.*; 443: 285-291.
- Zemel, M.B. (2003):* Mechanisms of dairy modulation of adiposity. *J. Nutr.*, 133: 252-256.
- Zimecki, M.; Wlaszczyk, A. and Wojciechowski, R. (2001):* Lactoferrin regulates the immune responses in post-surgical patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*; 49: 325-333.