الاحماض الامينية الناتجة في جبن شبيه المونتري العلاجي باستخدام البفيدو بكتريا [+]

AMINO ACIDS PRODUCED IN THERAPEUTIC MONTEREY LIKE CHEESE BY USE OF *BIFIDOBACTERIUM SPP*

اكرم عبد الحسن العبطان [*] عامر خلف عزيز الدروش [**]

المستخلص:

استخدمت في هذه الدراسة عزليتين محليتين من البفيدوبكتريا والتي اظهرت احداهما قابلية تحليلية بروتينية عالية والثانية واطئة والتي تم عزلها من براز الاطفال الرضع رضاعة طبيعية الاصحاء عمر ١ – ٣ شهر في دراسات سابقة في قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية – كلية الزراعة جامعة بغداد . انتج جبن شبيه المونتري العلاجي والمقارنة باستخدام الطريقة المصغرة في ظروف مسيطر عليها مايكروبايلوجياً اظهرت نتائج فحص هاز HPLC ان تراكيز الاحماض الامينية في كل انماذج الجبن المفحوصة قد زادت نهاية الانضاج وكان تركيز الاحماض الامينية في معاملة البفيدوبكتريا مختلفة و ان العزلة ٥ قد اعطت عدد من الاحماض الامينية اكثر من العزلة ٢ وان بعض الاحماض الامينية قد زاد او قل تركيزها والبعض الأخر اختفى او ظهر نهاية الانضاج .

Abstract

Two lypophilized locally bacterial isolates of *bifibdoacterium* were obtiand from several studies in Food Scienc and Biotechnology department , from healthy children feces 1-3 months old, One of them had high proteolytic activities and the second had low proteolytic activities ,they were incorporated in Monterey like Cheese .By using miniature manufacturing modle of cheese system , under microbiologically controlled conditions , water soluble nitrogen extract had HPLC tested for amino acids concentration .Result showed in that all treatments amino acids concentrations were increased due to ripening time, but bifidobacteria isolates showed different concentration while isolate 5 had appearred more amino acids than isolate 2 and inducted high proteolytic activities, and some amino acids are increased, reduced, disappearred or appearred at the end of the ripening.

المقدمة:

البفيدوبكتريا من انواع الاحياء المجهرية التي تستوطن الجهاز الهضمي بعد الولادة وخاصة في اطفال الرضاعة الطبيعية وتستخدم في صناعة معززات الحياة والتي زاد انتشارها في العالم بصورة واسعة وخاصة في الالبان ومنتجاتها المتخمرة وغيرالمتخمرة وحسب رغبة المستهلك ومنها الاجبان حيث يعتبر الجبن حامل

[+] تاريخ استلام البحث ٢٠٠٨/٦/٣٠ تاريخ قبول النشر ٢٠٠٩/١/٢٦
[*] استاذ مساعد /الكلية التقنية / المسيب
[**] استاذ / كلية الزراعة / جامعة بغداد

مناسب جداً الى المحافظة على اعدادها بالشكل المطلوب وايصالها الى الجهاز الهضمي لتحقيق الغرض من تناولها [١].

ان الدور الذي تلعبه معززات الحياة العلاجي والوقائي ضد الامراض المختلفة والأحياء ا لمجهرية غيرالمرغوبة لا يزال غير واضح وفضلاً عن النواتج الايضية من الاحماض العضوية والكحول الاثيلي والبكتريوسينات . تنتج البفيدوبكتريا من الفعالية التحليلية البروتينية نواتج ثانوية ذات فعالية بايلوجية في الالبان المتخمرة وغير المتخمرة ونتيجة لهذه الفعالية تنتج الاحماض الامينية الحرة والتي تعد مقياس للتحلل البروتيني بوساطة انزيمات (Proteinase وPeptidase) والتي تقوم بتكسير الكازينات [٢]-[٣].

ان صفة التحلل البروتيني تعتبر احدى مقاييس استخدام بكتريا معززات الحياة في صناعة (Probiotic)[١] . ان الفعالية التحليلية البروتينية للبفيدوبكتريا درست في اتجاهات مختلفة منها محور انزيمات التحلل البروتيني في الحليب والجبن واشار[٤] انه بما ان البفيدوبكتريا تضاف للجبن فان انزيماتها (Proteinase وPeptidase) لها دوراً مهماً في عملية الانضاج ويتطلب ذلك دراسة وتحديد الانزيمات المسؤولة عن النكهة والمرارة في الجبن .

ان الصفات الحسية للجبن تحدد في ا نواع الاحماض الامينية الناتجة من التحلل البروتيني [٥]. لذلك كان

الهدف من هذه الدراسة تحديد الفعالية التحليلية البروتينية الى عزلات البفيدوبكتريا المحلية عن طريق الاحماض الامينية الناتجة .

<u>المـــواد وطـرائق العمـــل:</u>

الحليب الكامل الدسم :- تم الحصول عليه من المعهد التقني المسيب

عزلات البفيدوبكتريا:- تم الحصول عليها من دراسات سابقة في قسم علوم الأغذية والتقانات الاحيائية / كلية الزراعة / جامعة بغداد .

بادىء الجبن:- استعمل البادىء الخليط *Lc. lactis* ssp *lactis* و *Lc. lactis* ssp *cremoris*

ا لمنتج من قبل شركة

Chr- Hansens laboratorium A/S 3.1250 copenhagen- Denmark

وتم تنشيطه حسب طريقة[6] والعزلات حسب طريقة [٧].

الملح :- استعمل ملح الطعام المجهز من شركة المنصور عالي النقاوة وبنسبة ٢ % من وزن الخثرة الناتجة .

شمع البارافين :- استعمل البارافين الأحمر السويدي المنشأ والمجهز من قبل الشركة العامة لمنتوجات الالبان .

- قوالب الجبن :- استخدمت قوالب جبن صغيرة معقمة مصنوعة من حديد غير قابلة للصداء شكل متوازي الأضلاع تمت بطانة كل قالب بالشاش بشكل منتظم ، وزن الخثرة فيه بين ٣٠٠ - ٣٥٠ غم اجريت التجارب بواقع مكررين لكل معاملة وكان وزن الحليب الكامل الدسم المستخدم لكل معاملة ٢,٥ كغم .

طرائق إنتاج جبن شبيه المونتري والمونتري

أنتج الجبن حسب ما ذكر[٨] مع بعض التحويرات وكالاتـــــــــــــــي:اذ تم بسترة الحليـب علـى درجة ٦٥ مْ لمدة ٣٠ دقيقة ثم التبريد الى ٣٢ – ٣٣ مْ . أضيفت المنفحة حسب تعليمات الـشركة المجهـزة وترك الحليب في ٣٢ مْ لمدة ٣٠ دقيقة لحين التخثر .ثم قطعت الخثرة وتركت لمدة ٥ دقائق بدون تحريـك . تم تحريك الخثرة بهدوء وطبخها إلى درجة حرارة ٣٩ مْ خلال ٣٠ دقيقة ارتفعت الحرارة في العشر الدقائق الأولى درجة واحدة ، واستمر الطبخ حتى وصلت حموضة الشرش إلى ٠,٠٢ % وتطلب ذلك ٩٠ دقيقـة ، حيث اجري صرف الشرش تاركاً الشرش يغطي الخثرة تقريباً وأضيف ماء بارد معقـم يـساوي $\frac{1}{3}$ حجـم الشرش المصروف لغرض غسل الخثرة وخفض درجة الحرارة إلى ٣٠ مْ وبعدها تـم تـصريف الـشرش والماء . اضيف البادئ بنسبة ٢ % من وزن الخثرة وبنسبة ١٠ % في حالة عزلات البفيدوبكتريا المحليـة ثم أضيف الملح بنسبة ٢ % من وزن الخثرة ثم ضغطت الخثرة ضغطاً معتدلاً إلى اليـوم التـالي . أزيـل القماش وتم الحصول على قوالب الجبن التي تركت لتجف في الثلاجة لمدة يومين مع التقليب ثم غمرت قوالب الجبن في شمع البارافين الاحمر بدرجة حرارة ١١٨,٣ مْ لمدة ٥ ثوان ، مرتين إلى ثـلاث مـرات . قلبـت قوالب الجبن يومياً ولمدة ٦ أسابيع في غرفة الإنضاج على درجة حرارة ١٦ مْ ورطوبة نسبية ٨٥ % حيث أخذت العينات حسب الأوقات الزمنية المحددة ١و٤٢يوم . اتبعت الطريقة الموصوفة في (٩) في إنتاج الجبن على شكل وجبات وفي ظروف معقمة واستخدم محلول الكلورين اذ اذيب ٢٠٠ ملغم كلورين في كل ٥ لتـر ماء معقم وعقمت الأدوات في الغمر لمدة نصف ساعة في المحلول ، وأجريت عملية الطبخ في حمام مـائي تحت ظروف معقمة بوجود مصابيح بنزن داخل (هود) لمنع التلوث .

<u>اخذ الانماذج</u> : أخذت بعد إهمال القشرة الخارجية وحسب المدد الزمنية المحددة من الإنضاج ووضـعت في أكياس من البولي اثلين في علب بلاستيكية محكمة القفل وخزنت في المجمدة لحين أجراء التحاليـل وفي واقع مكررين .

تقدير مكونات الجبن :- الدهن والملح حسب ما ذكرفي [١٠] و البروتين بطريقـة ماكروكلـدال(N* ٦,٣٨)) والموادالصلبة الكلية حسب ما ذكرفي [11]

تقدير الأحماض الأمينية:

١- النتروجين الذائب .

استخلص النتروجين الذائب بالماء اذ اخذ ٥ غم من الجبن المبروش كعينة ممثلة ثم وضـعت فـي خلاط مع ٥٠ مل ماء مقطر بدرجة حرارة ٤٥ مْ وهرست بصورة جيدة لمدة ٢ – ٣ دقيقة ، ثم تركـت العينة لتركد حوالي٥- ١٠ دقائق بعد ذلك اجري الترشيح باستخدام ورق الترشيح Whatman No2 ثم حفظ الراشح في التجميد(-١٥ مْ) لحين اجراء الاختبارات .

٢ – طريقة العمل حسب ما ذكر في[١٢]

اذيب ٥٠ ملغم مـن مـادة Ortho- phthaldial -dehyde (OPA) فـي ٥٠ مـل مـن 2- mercaptoethanol ثم اضيف اليه ١,٥ مل كحول اثيلي وعدل الاس الهيدروجيني للمحلـول الـى ٩,٤ باستخدام ٠,٤ مول منظم البورات (Borate buffer) ثم حفظ المحلول في الظـلام واسـتخدم خـلال ٢٤ ساعة .

تحضير الانموذج :

خلط ٥٠ مايكروملليتر من محلول الاحماض الامينية القياسية او الانموذج مع ٥٠ مـــايكروملليتر مـــن محلول الدليل (OPA) ومزجت بصورة جيدة وترك لمدة ٦٠ ثانية قبل ان يتم الحقن في جهـــاز (HPLC) الكروماتوكرافي في الضغط العالي وتم القياس على طول موجي (٥٧٠) نانوميتر .

برمجة التشغيل

استخدم عمود الفصل reverse phase C-18 D.B (250 * 4.6 mmI.d) وكان والطور المتحـــرك (٠,٠١) مول منظم فوسفات البوتاسيوم (Solvent A) ومركب Acetonitrile (Solvent B) . واستخدما بالتدرج اللاتي(١٠ %) Solvent B لمدة ثلاث دقائق ، ثم (٢٥ %) Solvent B لمدة ٧ دقائق ثم gradient linear الى (١٠٠ %) Solvent B لمدة (٢٠) دقيقة .

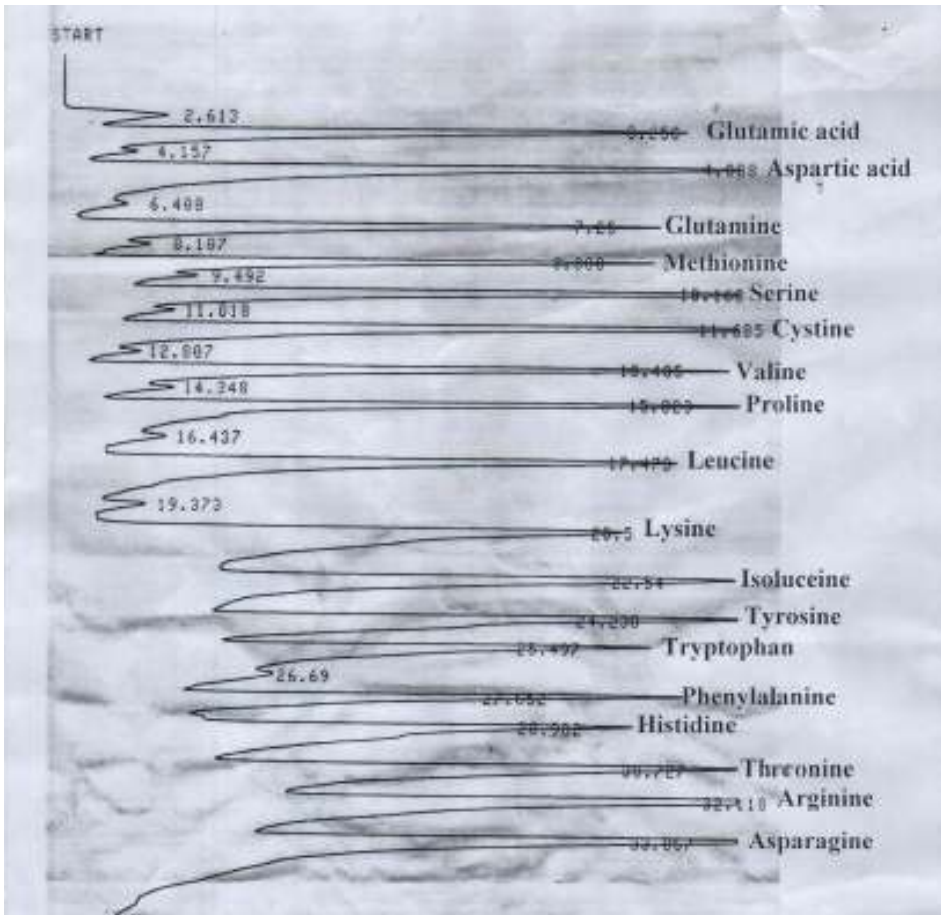
تم حساب تركيز الاحماض الامينية باستخدام المعادلة الاتية :

$$\text{تركيز الحامض الاميني} = \frac{\text{مساحة قمة الانموذج}}{\text{مساحة قمة A.A القياسي}} \times \text{تركيز A.A القياسي} = \text{مايكرو غرام/مل}$$

مع الاخذ في نظر الاعتبار معامل التخفيف للانموذج . استخدم الانموذج الاحصائي الجاهز (SAS) [١٣] لحساب اقل فرق معنوي .

النتائج والمناقشة:

شكل (١) يبين الاحماض الامينية القياسية المفصولة بوساطة جهاز HPLC لغـــرض المقارنـــة وحـــساب تركيزها في نماذج المعاملات وعدد هذه الاحماض هو ١٨ حامض اميني حيث تتراوح عـــدد الاحمـــاض الامينية في الجبن بين ١٦-١٨ حامض اميني كما ذكر من قبل [14]



شكل (١) الأحماض الامينية القياسية المفصولة باستخدام دليل (OPA) في جهاز HPLC باستخدام عمود الفصل (250*4.6mm I.d) C – 18 D B

كما يوضح الجدول (١) تركيب الجبن العلاجي والسيطرة في بداية ونهاية الإنضاج للمعاملات المختلفة إذ تراوحت نسبة الرطوبه بين ٤٠,٧٦ – ٤٤,٩٤ % ونخفضت بصورة معنوية (P<0.05) لتأثير المدة الزمنية للإنضاج نتيجة لتبخر الماء إثناء الإنضاج ويتفق هذا مع[٨]. وتراوحت نسبة الدهن بين ٢٩,٣٣ – ٣١,٢٧ % وارتفعت مع تقدم المدة الزمنية للإنضاج حيث انخفضت نسبة الرطوبة وارتفعت المواد الصلبة الكلية وكانت الفروقات معنوية (P<0.05) وكانت النسبة ضمن الموصفات القياسية إما نسبة الدهن في المادة الجافة كانت بين ٥٢,٧٨ – ٥٣,٢٧ % ولم تلاحظ فروقات معنوية لتأثيرالمدة الزمنية للإنضاج .

. تراوحت نسبة الملح بين ١,٣٥ – ١,٥٤ % اذ ازدادت نسبة الملح مع تقدم الإنضاج وكانت الفروقات معنوية لتأثيرالمدة الزمنية (P<0.05) وكانت نسبة الملح في الرطوبة بين (٣,٠٠ – ٣,٦٨ %) وكان التأثير معنوي للمدة الزمنية (P<0.05) ولم يكن هنالك تأثيرا سلبيا لنسبة الملح في الرطوبة لنشاط وفعالية الأحياء المجهرية على البفيدوبكتريا المحلية وبادئ الجبن وأنزيماتهما اذ أوضح [15]إن زيادة مستوى الملح أدى إلى انخفاض عدد الأحياء المجهرية ونشاط الإنزيمات في إنضاج جبن الجدر، وذكر[٦ ١] إن للملح تأثيراً مباشراً على إعداد ونشاط الأحياء المجهرية في إثناء عملية الإنضاج ويؤثر على إنتاج الانزيمات وان أفضل مستوى يستخدم للملح بين ٢ – ٤ % في عمليات الإنضاج ، وأشار[٣] إن نسبة الملح في الرطوبة قد تصل إلى أكثر من ٦ % .

تراوحت نسبة البروتين بين ٣,١٦ ٢– ٢٥,٢٠ % وكانت الفروقات معنوية (P<0.05) لتأثيرمدة الإنضاج اذ ارتفعت نسبة البروتين وهذه النتائج تتفق مع [17] - [5]. ولم يكن هنالك تأثيرا معنويا في مكونات الجبن لكل الصفات المدروسة لإضافة عزلات البفيدوبكتريا المحلية وبادئ الجبن وهذه النتيجة تتفق مع [18] – [3] .

جدول (١) تركيب جبن شبيه المونتري العلاجي المنتج باستخدام عزلات مختلفة من البفيدوبكتريا المحلية وجبن السيطرة إثناء الإنضاج

صفة	يوم	عزلة ٢	عزلة ٥	بادئ الجبن	LSD
الرطوبة %	١	[a]44.30	[a]45.51	[a]45.00	1.02
	٤٢	[b]40.50	[b]40.94	[b]40.84	
الدهن %	١	[a]29.00	[a]29.00	[a]30.00	0.7
	٤٢	[b]30.80	[b]31.30	[b]31.70	
الدهن في المواد الصلبه	١	52.06	53.22	54.54	N.S

الكليـــــــــــة %	٤٢	**51.76**	**52.99**	**53.59**	
المـلـــــــــح %	١	**[a]1.32**	**[a]1.36**	**[a]1.38**	**0.02**
	٤٢	**[b]1.52**	**[b]1.54**	**[b]1.55**	
الملح في الرطوبة %	١	**[a]2.97**	**[a]2.98**	**[a]3.06**	**0.152**
	٤٢	**[b]3.48**	**[b]3.76**	**[b]3.79**	
البـــروتيـــــن %	١	**[a]23.62**	**[a]23.03**	**[a]22.83**	**0.9**
	٤٢	**[b]25.95**	**[b]24.94**	**[b]24.71**	

- كل قراءة تمثل معدل لثلاثة مكـــررات .
- لاتوجدفروق معنوية لتأثير العزلة المحلية وبادئ الجبن .

* الحروف المختلفة عمودياً لكل صفة تدل على اختلاف معنوي للفترة الزمنية.

يوضح جدول (٢) سلوك البفيدوبكتريا العزلة ٢ في اظهار تراكيز الاحماض الامينية الناتجة من فعالية التحلل البروتيني في جبن شبيه المونتري العلاجي بداية ونهاية الانضاج ولوحظ من الجدول ان هـذه العزلة اظهرت قابلية تحلل بروتيني واطيء مقارنة مع بكتريا باديء الجبن الاعتيادي وعزلة رقم ٥ ، وكان عدد وتراكيز الاحماض الامينية بداية ونهاية الانضاج اقل من المعاملتين الاخـريتين وبعـد ٤٢ يومـاً مـن الانضاج اختفى حامض الكلوتاميك وقلت تراكيز كل من الفالين والكيلايسبين والسيرين والسيتين ويتفـق هذا مع[١٤] الذي بين ان انخفاض تراكيز الاحماض الامينية هو نتيجة حدوث عمليـة (deamination , decarboxylation) من ناحية اخرى زادت تراكيز البرولين والليوسين والايزوليوسـين والتايروسـين واللايسين وظهر حامض الاسبارتيك ويتفق هذا مع[١٩] الذين ذكروا انه في اثناء انضاج الاجبان قسم من الاحماض الامينية تختفي واخرى تظهر او يقل تركيزها او يزداد حسب نـوع وفعاليـة الكـائن المجهـري والانزيمات ، وكان تركيز الاحماض الامينية بداية الانضاج ٣٤٩,٧٥٣ مايكروغرام / مل ونهاية الانضاج ٦٢٢,٦١ مايكروغرام / مل ومقدار هذه الزيادة في التركيز اقل مما في عزلة (٥) وباديء الجبن الاعتيادي .

ويبين الجدول ايضا تراكيز الاحماض الامينية لمعاملة السيطرة اذ يلاحظ ان بكتريا الباديء انتجـت اعلى تركيز من الاحماض الامينية نهاية الانضاج وان الاحماض الأرجين الاسبارتيك والكلوتاميك قداختفت وان عدد الاحماض الامينية اصبح اقل مما في جبن العزلة ٥ وازداد تراكيزالاحماض الليوسين واللايسين والايزوليوسين والتايروسين والتربتوفان والفينايل الالين والهستدين والبرولين اما الاحماض الميثـونين والسستين والفالين فقد قل تركيزها وكان مجموع التراكيز بداية الانضاج (١٨٣,٨٢٢) مايكروغرام / مـل ونهاية الانضاج (٨٠٠,٧٤٣) مايكروغرام / مل

اما سلوك وتراكيز الاحماض الامينية للعزلة ٥ للبفيدوبكتريا المحلية بداية ونهاية الانضاج هو ظهـور الاحماض كل من الهستدين والثريونين والاسبارجين وحامض الاسبارتيك والميثيونين والفالين نتيجـة الفعالية التحليلية البروتينية والاحماض الامينية التي زاد تركيزها هي اللايسين والايزوليوسين والتايروسين والتربتوفان والبرولين والاحماض التي قل تركيزها هي الليوسين وحـامض الكلوتاميـك والكلوتـامين والسيرين و السستين وقد يكون السبب حصول عملية deamination , decarboxylation واسـتهلاكها

من قبل الاحياء المجهرية . وان العزلة ٥ تميزت في الفعالية التحليلية البروتينية عن العزلة ٢ وبكتريا البادىء في زيادة عدد الاحماض الامينية نهاية الانضاج وكان مجموع تركيز الاحماض الامينية لها بداية الانضاج ٢٠١,٩٣٦ مايكروغرام / مل واصبح ٦٠١,٨٩٤ مايكروغرام / مل نهاية الانضاج وهذه النتيجة تتفق مع[٥] في دراسة الاحماض الامينية الناتج في جبن الجدر اثناء الانضاج في اضافة بكتريا lactobacilli اذ لاحظوا زيادة نسبة النتروجين الذائب الناتج من الاحماض الامينية بطريقة لونية . بينما لاحظ [١٩] ان الاحماض الامينية المفصولة بطريقة RP-HPLC كان تركيزها اكثر في الجبن المضاف اليه بكتريا lactobacilli من جبن السيطرة وهي احماض حامض الكلوتاميك والمثيونين واللايسين والفالين بعد ٦ اشهر من الانضاج ، ولاحظوا الشيء نفسة في المعاملة التي ماتت بها بكتريا lactobacilli دليل خروج انزيمات peptidases خارج الخلية . وذكر الباحث نفسه ان اضافة بكتريا lactobacilli او البفيدو في جبن الجدر تساهم في التحلل البروتيني بزيادة عدد الاحماض الأمينية.

جدول (٢) تركيز الاحماض الامينية في جبن شبيه المونتري و جبن السيطرة اثناء الانضاج.

الاحماض الامينية القياسية	تركيز الاحماض الامينية مايكروغرام / مل					
	عزلة رقم ٢		عزلة رقم ٥		بادىء الجبن	
	عمر ١ يوم	عمر ٤٢ يوم	عمر ١ يوم	عمر ٤٢ يوم	عمر ١ يوم	عمر ٤٢ يوم
Glu	٢٩,٢٣٤	------	٢٠,٧٩٧	٠,٨٤٨	١٨,٣٦٠	------
Asp	------	-------	-------	0.310	0.304	------
Gln	36.980	7.345	51.411	1.902	0.730	-------
Met	------	------	------	2.619	19.430	1.457
Ser	30.669	9.488	13.654	1.262	3.216	4.273
Cys	14.468	3.594	38.177	1.205	1.883	1.610
Val	84.851	93.630	------	15.164	30.033	27.779
Pro	٧٠,٢٩١	٩٤,٤٣٤	١٥,٩٦٦	32. ٩٣	١,٧٢٧	١٢,٠٨١
Leu	24.241	86.669	32.633	7.139	1.062	69.610
Lys	21.601	82.609	12.861	59.319	36.285	109.630
Ile	13.040	113.418	0.440	58.904	3.787	116.985
Tyr	24.378	130.499	0.993	124.272	2.203	111.058
Try	------	------	15.004	134.357	14.596	129.379
Phe	------	------	------	-------	6.676	84.832
His	------	------	------	72.878	41.258	122.049
Thr	-------	-------	------	9.509	-------	-------
Arg	------	------	------	------	2.272	------
Asn	------	0.924	------	79.276	-------	------
المجموع	٣٤٩,٧٥٣	٦٢٢,٦١	٢٠١,٩٣٦	٦٠١.٨٩٤	١٨٣,٨٢٢	٨٠٠,٧٤٣

المصادر :

1−Gibson, G. R. Beatty, E. R. Wang, X. and Cummings,J. H.(1995) . Selective stimulation of Bifidobacteria in the human colonist by Oligofructose and inulin . Gastrometerology.108 (4):975-982.

2-Gobbetti, M. Corsetti , A. Smacchi, E. Zocchetti , A. and Deanglis , M. (1998) Production of Crescenza cheese in coporation of bifidobacteria . J. of Dairy Sci. Vol. 81 . Nol. 37 – 47 .

3-Daigle, A. Roy, D. Belanger, G. and Vuillemard, J. C. (1999) . Production of probiotic cheese (Cheddar – Like cheese) Using Enriched cream fermented by *Bifidobacterium infantis* . J. Dairy Sci. 82 : 1981 – 10919-EL-Soda, M. Ezzat,A.

4- EL- Soda, M. Macedo , A. and Olson , N. F. (1992) . The peptide hydrolases system of *Bifidobacterium* Species . Milchwissenschaft 47 : 87 – 90 .

5-McSweeney, P. L. H. Walsh, E. M. Fos, P. F. Cogan, T. M. Drinan, F. D. and Casteio – Gonzalez, M. (1994) . A procedure for the manufacture of cheddar cheese under controlled bacteriological condition and the effect of adjunct Lactobacilli on cheese quality .Ir. J. Agr. Food Res . 33 : 183 – 192 .

6-Stadhouders, J. Hup, G. Exterkate, F. A. and Visser , S. (1983) . Bitter flavour in cheese : 1- Mchanism of the formation of bitter flavour defect in cheese, Neth , Milk . Dairy . J. 37 : 157 – 167 .

٧− نظام الدين ، بهاء عيسى. (٢٠٠٢). تشخيص وانتقاء بكتريا *Bifidobaderium* العلاجية لاستخدامها في تصنيع مثلج قشدي. أطروحة دكتوراه − كلية الزراعة – جامعة بغاد.

٨− الدهان، عامر حميد سعيد. (١٩٨٣). صناعة الجبن وانواعه في العالم. الطبعة الاولى. مطبعة دار الحكمة. جامعة الموصل. العراق.

9-Hynes, E. Ogier, J. C. and Delacroix – Buchet , A. (2000) . Protocol for the manufacture of miniature washed – Curd cheese under controlled microbiological condition . lnternational Dairy . Journal 10:733 – 737 .

10-/Kosikowski, F. V. (1982) Cheese and Fermented Milk Foods .2nd. Ed. Newyork U. S. A.

11-ISO 5534 (International organization for standardization) (1985) cheese and processed cheese determination of solid content , First edition .

12-BDH. , Roth, M. and Hampai , A. J. (1973) . Chromatog . Booklet full range amino acids analysis BDH Chemicals Ltd , Broom Road , U.

13-SAS., Users Guide : Statistics , Version 6.06 (1989) . SAS Inst. , Inc. , Cary . Nc.

١٤− العواد، قاسم حسن (١٩٧٧). دراسة تأثير فترة الانضاج على المكونات البروتينية ونوعية جبن الجدر المصنع من حليب الجاموس. رسالة ماجستير − كلية الزراعة – جامعة بغداد.

15-Lawrence , R. C.Creamer , L. K. and Gelles , J. (1987) . Texture development during cheese ripening . J. Dairy Sci. 70 : 1748 – 1760 .

16-Gomes, M. J. Gaya, P. Nunez, M. and Medina. M. (1998). *Streptococcus thermophilus* as adjunct culture for asemi-hard cows milk cheese. Lait 78(5): 500-511.

17-EL-Soad,M.,Ezzat,A., El-Abassy, H. F. and Wahba, A. (1990). Acceleration of Ras cheese ripening 1-addition of commercial enzymes preparation,Egyption,J. Dairy.Sci.18:171-182.

18-Dinakar, P. and Mistry, V.V. Growth and Viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese . J. Dairy . Sci. 77 : 2859 – 2864 . .(1994)

19-Gardiner,G.Ross, R.P. Collins,J.K. Fitzgerad,G.and Stanton. C. Development of aprobiotic cheddar cheese containing Human –Derived *Lactobacillus Paracasei* strains . Appl. Environ Microbiol . Vol. 64 No 6 P 2192 – 2199 . (1998).