استعمال المعززات الحيوية في انتاج جبن التوفو [+]

قيس طه خضير [*] عبد المجيد حماد حسين [**]

المستخلص:

استعمل حليب فول الصويا وبكتريا *Lactobacillus casei* أو *Lactobacillus acidophilus* في تصنيع جبن التوفو العلاجي , وقيم حسياً وقدرت الاعداد البكتيرية الحية خلال مدة 21 يوماً من الخزن المبرد. حضر حليب الصويا من هرس نقيع حبوب فول الصويا في الماء.كانت نسبة الدهن في الحليب الناتج 4.3 والبروتين 3.95 والرماد 1.03 وكانت حموضته الكلية 0.04 % على التوالي واسه الهيدروجيني 6.7. صنع جبن توفو من حليب الصويا الساخن باضافة حامض الستريك وبعد تبريد الخثرة المستحصل عليها قسمت الى قسمين اضيف لأحدهما بادئ *L. casei* واضيف للاخرى بادئ *L. acidophilus* بنسبة 10% وحضنت الاجبان لمدة 8 ساعات على درجة 37°م. ثم خزنت لمدة 21 يوماً على درجة 4-8 °م. ولقد تم الحصول على النتائج الاتية:

1. كانت نسب مكونات الاجبان بمعدل 73.5 للرطوبة و8.1 للدهن و14.1 بروتين والحموضة الكلية 0.16% على التوالي والاس الهيدروجيني 5.08. وقد حافظت المعاملات على طعمها ونكهتها الجيدين وباقي صفاتها الحسية الجيدة والاس الهيدروجيني وعدم وجود تلوث ببكتريا القولون والاعفان حتى نهاية مدة الخزن المبرد.
2. وخلال مدة الخزن حافظت الاجبان على صفة كونها البانا علاجية بسبب عدم انخفاض اعداد بكتريا البادئ المضافة عن الحد الادنى المقرر لهذا النوع من المنتجات والذي ينبغي ان لا يقل عن 10^6م.م, فقد كانت اعداد بكتريا *L.casei* في بداية الخزن 351 ×10^9م.م واصبحت 45 ×10^9م.م في نهايته. في حين كانت اعداد بكتريا *L.acidophilus* في بداية الخزن 404 ×10^9 م.م واصبحت 32 ×10^9م.م في نهايته.

USE OF PROBIOTIC IN TOFU CHEESE PRODUCTION

Kabas T. Khadhair **Abdulmajeed H. Husain**

Abstract :

Soy milk was used to prepare therapeutic cheese after incubation with *L. acidophilus* or *L. casei*. After 21 days of refrigerated storage the samples were evaluated prically organoly.

The soy milk was obtained from masereted soy beans Soaked in water. The resultant milk composed of 4.3 fat, 3.95 protein and 1.03 ash, with total acidity 0.04% and 6.7pH. Tofu Cheese was manufactured by acidification hot soy milk by citric acid. The cooled curd divided into two parts, *L.casei* was added to the first part and of *L. acidophilus* starter was added 10%to the other one. After incubated for 8 hours at 37 C° the two cheeses were stored at 4-8C° for 21 days. The following results were obtained:

[+] تاريخ استلام البحث 2012/2/6 , تاريخ قبول النشر 2013/7/21 .

[*] طالبة ماجستير .

[**] استاذ /كلية الزراعة /جامعة بغداد .

❖ البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

1- **The approximate composition these cheeses were: 73.5 moisture, 8.1 fat, 14.1 protein, total acidity 0.16% and 5.08 pH. Cheese Samples preserved their good keeping quality and were of from bacteria and mold during cold storage.**
2- **In spite of long storage of cheese, it retained therapeutic proportion because the viable counts of bacteria was above 10^6c.f.u. The *L.casei* was droped from 351 × 10^9c.f.u. to 45 × 10^9c.f.u. after 21 days of storage, While *L .acidophilus* was droped from 404 × 10^9c.f.u. to 32 × 10^9c.f.u..**

المقدمة :

مع تنامي الوعي الصحي للإنسان وفكرة نبذ العقاقير الكيميائية لما تسببه من مخاطر صحية وآثار جانبية, أهتم الباحثون بالأغذية الوظيفية بجعل المصادر الطبيعية علاجات بديلة للعديد من هذه الأمراض أو الوقاية منها, ومن هذه المصادر بعض الدهون غير المشبعة وبعض البروتينات النباتية والألياف الغذائية (Dietary Fiber) والأحياء المجهرية العلاجية. لذلك شهدت السنوات الاخيرة في اوربا وامريكا الشمالية والشرق الاقصى اهتماماً واسعاً لاستعمال انواع من بكتريا حامض اللاكتيك المعزولة من مصدر بشري في انتاج المتخمرات اللبنية العلاجية التي اطلق عليها تسمية المعزز الحيوي probiotic ومحاولة استعمالها في حل الكثير من المشكلات التي تتعلق بالغذاء وصحة المستهلك.

يعد العالم الروسي Eli-Metchinikoff اول من اشار الى اهمية اضافة احياء مجهرية معينة للاغذية لجعلها صحية وكان اول من طرح فكرة اطالة عمر الانسان من خلال الاستهلاك المنتظم لمنتجات الحليب المتخمر وذلك في كتابه prolongation of life عام 1908 [1].

ومن العوامل المشجعة على ادخال بكتريا حامض اللاكتيك هو وجود بعض انواع هذه البكتريا في القناة الهضمية والطبقة الطلائية للامعاء في الانسان وكونها غير مرضية وغير منتجة للسموم وتنتج العديد من الانزيمات والفيتامينات وافراز العديد من المواد الايضية التي تثبط نمو الاحياء المجهرية المرضية او تلك المسببة لتلف العديد من الاغذية لذلك استعملت بشكل امن كبادئات في العديد من منتجات الالبان, و تعد بكتريا *L. casei* و*L. acidophilus* من اهم انواع بكتريا *Lactobacillus* التي عزلت من القناة الهضمية للانسان. ونظراً لما تتمتع به من صفات علاجية متعددة, شجع استعمالها في الحفاظ على التوازن الطبيعي للاحياء المجهرية في القناة الهضمية كونها تؤدي دوراً في علاج حالات الاسهال المختلفة واعادة توازن النبيت المعوي بعد تناول المضادات الحيوية واسهامها في معالجة حالات الامساك وفي التقليل من نسبة الاصابة بالسرطان ولا سيما سرطان الامعاء وتحسين الاستجابة المناعية للجسم [1].

ونتيجة لنقص التغذية الذي تعاني منه بعض بلدان العالم الثالث والدول النامية نتيجة التخلف في انتاج الغذاء وعدم وجود توازن بين معدل النمو السكاني ومعدل النمو في الانتاج الغذائي والفقر اتجهت الانظار الى ادخال المصادر النباتية وخاصة المحاصيل البقولية كفول الصويا الذي يعد مصدراً جيداً للبروتين عالي القيمة الغذائية لانه يحتوي على معظم الاحماض الامينية الاساسية التي يحتاجها الجسم وكذلك لوفرته على مدار السنة ورخص ثمنه ادخل بديلاً عن المنتجات الحيوانية. ومن بين طرائق تصنيع فول الصويا السهلة والشائعة هي تحويله الى حليب مشابه للحليب البقري في المظهر والتركيب [2] فضلاً عن انتاج بعض المنتوجات الغذائية المختلفة والمتخمرة التي يطلق عليها بعض الاسماء تجارياً كالميزو Miso والتمبة Temphe والناتو Natto والتوفو Tofu.

واستعمل حليب الصويا بديلاً للحليب الطبيعي في جميع استعمالاته ولكن وجود بعض المشكلات والصعوبات التي تعترض الاقبال عليه لاسيما الطعم البقولي غير المرغوب فيه ووجود بعض المواد المضادة للتغذية كمثبطات انزيم التربسين (Trypsen Inhibitors) هي اهم محددات استخدامه.

وكانت اهداف الدراسة هي:

1- تصنيع اغذية وظيفية من خلال تصنيع جبن التوفو واطالة عمره الخزني.
2- استعمال نوعين مختلفين من المعززات الحيوية *L. casei* و*L. acidophilus* مع الجبن ليكتسب صفة الغذاء العلاجي ولتحسين طعمه كي يزيد تقبل المستهلك له.

المواد والطرائق :

المواد المستعملة في تصنيع الجبن:

1- حبوب فول الصويا

كانت حبوب فول الصويا المستخدمة خليطاً من صنف Lee وصنف اباء وصنف الثنائية من الشركة العامة للمحاصيل الصناعية، وزارة الزراعة.

2- ملح الطعام

أستعمل ملح الطعام المجهز من شركة الضحى.

3- مصادر بكتريا البادئ

كان مصدر سلالة بكتريا *L. acidophilus* [3] ومصدر عزلة بكتريا *L. casei* [4].

تنشيط البادىء:

حضرت المزارع البكتيرية في ظروف معقمة بإستعمال الحليب الفرز معاد تركيبه بنسبة 12% والمعقم على درجة حرارة 121°م لمدة 5 دقائق وعلى ضغط 1.5 جو بعدها لقح بسلالة بكتريا *L. acidophilus* وعزلة بكتريا *L. casei* بنسبة 10% وحضن في درجة 37 °م لمدة 72ساعة أو لحين أتمام التخثر مع اعادة التنشيط لثلاث مرات متتالية مع أحتساب عدد البكتريا بإستخدام طريقة الصب على وسط MRS-Cysteine agar في ظروف لاهوائية لاستعماله بادىء في المعاملات اللاحقة [5].

تحضير حليب فول الصويا:

نقع 1: 10وزن/حجم من حبوب فول الصويا المنظفة في 1000مل ماء في درجة حرارة الغرفة لمدة 24 ساعة ثم تم التخلص من الماء وهرست الحبوب بالخلاط لمدة 3 دقائق. صفي المزيج الناتج بواسطة قطعة من قماش الململ وسخن الراشح الناتج الى درجة حرارة 100°م وترك على هذه الدرجة لمدة 20 دقيقة ثم برد الى درجة حرارة الخزن (4±1)°م أو الدرجة المناسبة لتصنيع الجبن[6].

تصنيع جبن التوفو:

أضيف الى حليب فول الصويا الذي درجة حرارته 76-82 °م 1.5% محلول حامض الستريك حتى التخثر. وبعد تبريد الخثرة الى حوالي 37°م أضيف اليها بادىء *L. casei* و*L. acidophilus* بنسبة 10% كل على حدة وتركت في الحاضنة مغطاة لمدة 8 ساعات بالدرجة الحرارية نفسها. أضيف الملح بنسبة 1% وخلط معها جيداً. صبت الخثرة بعد أخراجها من الحاضنة في قوالب مبطنة من الداخل بقماش الململ المعقم للتخلص من الشرش وكبست لمدة 24 ساعة، ثم أستخرجت قوالب الجبن وقطعت وغلفت بأكياس من البولي أثلين وخزنت في الثلاجة على درجة حرارة 4-8°م الى حين أجراء الفحوصات الكيميائية والميكروبية وأجراء التقويم الحسي [6].

الفحوص الكيميائية لحبوب فول الصويا:

تقدير الرطوبة:

اجري تقدير الرطوبة بأخذ عينة بوزن 5 غم وتجفيفها بدرجة حرارة 130°م لحين ثبات الوزن [7].

تقدير البروتين:

قدر بطريقة المايكروكلدال على عينة بوزن (0.7-2.2)غم واستعمل العامل (6.25) لتحويل نسبة النتروجين الكلي الى النسبة المئوية للبروتين [7].

تقدير الدهن:

تم تقدير الدهن بطريقة سوكسليت بأستخدام مذيب الايثر النفطي Petroleum ether في عملية الاستخلاص [8].

الفحوص الكيميائية للحليب:

تقدير البروتين:

قدرت نسبة البروتين بطريقة المايكروكلدال [9].

تقديرالدهن:

قدرت النسبة المئوية للدهن في الحليب بطريقة بابكوك ووفق ما ذكره [8].

تقدير الرماد:

أجري الترميد بدرجة حرارة 550°م على 5غم من حليب فول الصويا [7].

تقدير الحموضة التسحيحية الكلية:

أجري فحص الحموضة الكلية كما في طريقة فحص نسبته في الحليب الاعتيادي بحسب الطريقة التي ذكرها [10].

قياس الاس الهيدروجيني

تم بأستعمال جهاز pH-meter المصنع من قبل شركة Pye unicam [8].

الفحوص الكيميائية للجبن:

طريقة أخذ الانموذج:- لأجراء التحليلات الكيميائية أهملت القشرة الخارجية لقالب الجبن بسمك 1سم وأخذت شريحة من الجبن بسمك 4 سم و ثرمت ووضعت في أكياس من البولي أثلين وخزنت في -18م°، لحين أجراء الفحوصات الكيميائية الاتية:

تقدير الرطوبة:

قدرت الرطوبة حسب الطريقة التي ذكرها [8] بأخذ 3غم من الجبن وبرشت وجففت بالفرن الكهربائي على درجة 105م° لحين الحصول على وزن ثابت.

تقدير البروتين:

قدرت نسبة البروتين بطريقة ماكروكلدال والتي ذكرها [11].

تقدير الدهن:

قدرت نسبة الدهن بطريقة كيربر وفق ماذكره [8].

تقديرالحموضة التسحيحية:

أجري فحص الحموضة التسحيحية وذلك بأخذ 2غم من الجبن ووضعه في دورق وأضيف اليه 30مل ماء مقطر دافيء بدرجة 50 م˚ ثم مزجت وبردت قبل اجراء التسحيح عليها وبحسب الطريقة التي ذكرها [12].

قياس الاس الهيدروجيني:

قدر الاس الهيدروجيني حسب الطريقة المذكورة من قبل [8] وذلك بأخذ 3غم من الجبن وخلطه جيداً مع 10مل ماء مقطر بأستخدام هاون خزفي وأستخدم جهاز pH- meter المصنع من قبل شركة Pye unicam لتقدير الاس الهيدروجيني.

الفحوص الميكروبية للجبن:

أجريت الفحوص الميكروبية لعينات الجبن حسب ما ورد في [13].

وقد اخذت النماذج بأعمار مختلفة (1،7،14،21) يوماً تحت ظروف صحية معقمة ووضعت النماذج في أطباق معقمة وأستعملت سكين معقمة لقطعها وكانت الكمية المأخوذة1غم من عينة الجبن ووضعت في هاون خزفي معقم وأضيف لها 99مل من سترات الصوديوم 2% وسحقت جيداً ثم أجريت التخافيف العشرية اللازمة بأستعمال ماء البيتون المعقم ،وأجريت الفحوص الاتية:

1- عدد بكتريا *L .acidophilus* وبكتريا *L. casei* :

أستخدم وسط MRS-Cysteine Agar في تقدير أعداد بكتريا *L. acidophilus* وبكتريا *L .casei* كل على حدة بطريقة صب الاطباق وحضنت الاطباق على درجة 37˚م لمدة 48 ساعة بأستخدام ظروف لاهوائية. تم أحتساب أعداد البكتريا بأستعمال جهاز عد المستعمرات وحسبت أعداد البكتريا في الغرام الواحد من الجبن بضرب معدل عدد المستعمرات لطبقين × مقلوب التخفيف.

2- عدد الاعفان والخمائرYeast and Molds:

لتقدير أعداد الخمائر والاعفان في الجبن إستخدم وسط Potato Dextrose Agar PDA بأستعمال طريقة الصب Pour Plate وحضنت الاطباق على درجة 21 (±2)˚م ولمدة 5 أيام ثم أحتسبت أعداد الخمائر والاعفان بأستعمال جهاز عد المستعمرات ثم حسب عدد الخمائر والاعفان في الغرام الواحد من الجبن بضرب معدل عدد المستعمرات لطبقين × مقلوب التخفيف.

3- عدد بكتريا القولون Total Coliform:

أستخدم وسط الMacConkey Agar لحساب أعداد بكتريا القولون في الغرام الواحد في عينات الجبن بأستعمال طريقة الصب ثم حضنت الاطباق بدرجة 37˚م لمدة 48 ساعة ثم أحتسبت أعداد بكتريا القولون بأستعمال جهاز عد المستعمرات ثم حسب عدد البكتريا في الغرام الواحد من الجبن بضرب معدل عدد المستعمرات لطبقين × مقلوب التخفيف.

التقويم الحسي:

اجري التقويم الحسي لنماذج الجبن فكانت تأخذ على شكل شرائح متماثلة بالشكل من الجبن وبأعمار مختلفة (21, 14, 7, 1) يوم وقد منحت الدرجات وفق ماجاء في الاستمارة الاصلية [14] والمحورة من قبل [15].

النتائج والمناقشة:

بعض المكونات الكيمياوية لحبوب فول الصويا:

اشارت نتائج التحليل الكيمياوي لبذور فول الصويا المستخدمة التي كانت خليطاً من صنف Lee وصنف اباء وصنف الثنائية الى ان نسب الرطوبة والبروتين والزيت كانت 10, 33.24, 21 % على التوالي . اختلفت النتائج مع ما حصل عليه [16] واختلفت مع النتائج التي حصل عليها [17] في الصنف AmSoy71 باستثناء نسبة الرطوبة حيث بلغت نسبتها في ذلك الصنف 10.7% والتي كانت متقاربة مع النتائج المستحصل عليها.

واشارت النتائج الى ان محتوى الزيت كان مقارباً لما وجده [21,20,19,18] كما انها مقاربة جداً للنتائج التي حصل عليها[22] في الصنف (Lee) المزروع في مزرعة الصويرة.

ويعود سبب الاختلاف الى اختلاف نوعية الاصناف المستخدمة وفصول السنة ومستوى التسميد والعوامل البيئية كما اشارت اليه احدى الدراسات التي اجراها المركز الاقليمي للدائرة الزراعية في ولاية الينوى الامريكية على فول الصويا [18].

مكونات حليب فول الصويا وبعض صفاته الفيزيوكيميائية:

اشارت النتائج التي تم الحصول عليها ان نسب مكونات حليب الصويا المئوية الذي تم تصنيعه كانت نسبة البروتين فيه 3.95% وهذا مقارب للنتائج التي حصل عليها [18] حيث حصل على نسبة بروتين بلغت 4.22% في حليب فول الصويا المصنع باستخدام طريقة نقع بذور فول الصويا في محلول 0.05% بيكربونات الصوديوم ويعود سبب الاختلاف في النسب المئوية لمكونات حليب فول الصويا الى اختلاف نوعية الاصناف المستخدمة وطريقة النقع والمحاليل المستخدمة بالنقع فيؤدي الى اختلاف نسبة المواد الصلبة الكلية في الحليب و اختلفت النتائج مع ماذكرته USDA حيث كانت النسبة 7% [23].

اما نسب الدهن والرماد التي تم الحصول عليها فقد كانت 4.3% و 1.03% وهي اعلى مما وجده [18] اذ كانتا 2.25 و0.6 % على التوالي , اما نسبة الحموضة وقيمة الpH فقد كانت 0.04 و6.7 على التوالي فكانت مقاربة جداً مع ما وجده [18].

جبن التوفو

المكونات الرئيسة لجبن فول الصويا (التوفو)

تبين النتائج في الجدول 1 ان نسبة الرطوبة في عينة جبن التوفو كانت 73.47% وهي تتوافق مع (المواصفة القياسية العراقية رقم 5/3725 لعام 2000)التي تبين ان نسبة الرطوبة في الاجبان الطرية يجب ان لا تقل عن 50% ومع ما ذكره [24] من ان نسبة الرطوبة في الاجبان الاسبانية الطرية عموماً تتراوح بين 46-75%. ويختلف التركيب الكيمياوي باختلاف نوع التوفو ويكون هذا الاختلاف في التركيب الكيمياوي بسبب الفروقات في درجة حرارة التخثراو حسب نوع المخثر المستخدم مثل كبريتات الكالسيوم او حامض معين او كلوكونو– دلتا – لاكتون ، وقد ذكر [25] ان جبن التوفو الطري يحتوي على نسبة رطوبة وبروتين ودهن ورماد 88 و6 و3.5 و0.6 %على التوالي، اما جبن التوفو نصف الطري فيحتوي على84.9 و7.8 و4.3 و0.7% على التوالي، في حين يحتوي جبن التوفو الجاف (Firm) على 79.3 و10.6 و5.3 و1.9%. كما ذكرت USDA [23] ان التوفو المصنوع باستخدام كبريتات الكالسيوم يحتوي على البروتين والدهن والالياف بنسبة 10 و 6 و 0.4 %على التوالي.

جدول (1): المكونات الرئيسة لجبن فول الصويا (التوفو)

التركيب الكيمياوي لجبن (التوفو)	النسب المئوية للتركيب الكيمياوي
الرطوبة	73.47
البروتين	14.08
الدهن	8.11

*كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات .

جبن التوفو – بدون بادئ –

اجريت تجارب اولية لتصنيع جبن توفو بدون بادئ او اي اضافة اخرى وخزن الجبن في الثلاجة على درجة حرارة 4±1˚م ، كانت اعداد بكتريا القولون و الخمائر والاعفان هي 82 و80×10^3 على التوالي في اليوم الاول ثم حدث تلف له خلال 4 ايام من الخزن بسبب ارتفاع اعداد بكتريا القولون و الخمائر والاعفان, كما ظهرت حالات تلف الجبن بشكل ظهور رائحة أو أصفرار للونه لان التوفو عرضة للتلف خلال ايام قليلة [26,25].

واجري للجبن تقويم حسي بأستخدام استمارة التقويم الحسي التي ذكرها [14] فكانت نتائج النكهة والقوام واللون والمظهر هي 30 و20 و8 و11 على التوالي في اليوم الاول من الخزن كما وجد ان الجبن بعمر يوم يحتوي على نكهة بقولية غير مستساغة من قبل المقيمين ثم اصبح مرفوضاً بعد اسبوع بسبب التلف الذي حصل فيه.

لذلك تم الاعتماد على جبن التوفو المضاف له البادئ في التجارب اللاحقة ولم تقارن النتائج مع نتائج جبن التوفو الخالي من البادئ.

نسب الحموضة والاس الهيدروجيني الـ(pH) لجبن التوفو المحتوي على بادئ بكتريا *L. casei* و بكتريا *L.acidophillus* بنسبة 10 % كل على حدة:

يلاحظ من الجدول 2 ان الحموضة التسحيحية في جبن التوفو المنتج والمحتوي على 10% بادئ بكتريا *L. casei* كانت 0.16% عند عمر يوم واحد وقد ارتفعت خلال 21 يوماً من الخزن على درجة حرارة الثلاجة (4±1˚م) الى 0.18%، اما الحموضة التسحيحية لجبن التوفو المحتوي على 10% بادئ بكتريا *L. acidophillus* فقد كانت عند عمر يوم واحد 0.23% وارتفعت خلال 21 يوماً من الخزن الى 0.26%.

وأن قيم الاس الهيدروجيني كانت تساوي 6.0 في اليوم الاول من الخزن في عينات الجبن الحاوي على بادئ بكتريا *L. casei* و6.2 في عينات الجبن الحاوي على بادئ بكتريا *L. acidophillus* ان الاختلاف في الحموضة التسحيحية والرقم الهيدروجيني بين نوعي البكتريا المستخدمة يعزى الى الاختلاف في نشاط كلا نوعي البكتريا ، وهذه النتيجة تتفق مع ماوجدته [27] من ان نشاط بكتريا *L .acidophilus* اعلى من نشاط بكتريا *L. casei* كما نلاحظ حالة الثبات النسبي عند الخزن بدرجة حرارة الثلاجة ويعود السبب في ذلك الى عدم مقدرة البكتريا على النمو والقيام بالفعاليات الحيوية في درجة حرارة الثلاجة , وهذا يتفق مع ما ذكره [28].

جدول (2): نسب الحموضة التسحيحية وقيم الاس الهيدروجيني (pH) لعينات جبن التوفو المحتوي على بادئ بكتريا *L. casei* و بكتريا *L. acidophillus* بنسبة 10 % كل على حدة خلال 21 يوماً من الخزن على درجة 4±1م°

مدة الخزن (يوم)	جبن توفو يحتوي بكتريا *L.casei*		جبن توفو يحتوي بكتريا *L.acidophillus*	
	الحموضة التسحيحية	الاس الهيدروجيني (pH)	الحموضة التسحيحية	الاس الهيدروجيني (pH)
1	0.16	6.0	0.23	6.2
7	0.17	5.8	0.25	6.15
14	0.18	5.9	0.26	6.12
21	0.18	5.9	0.26	6.12

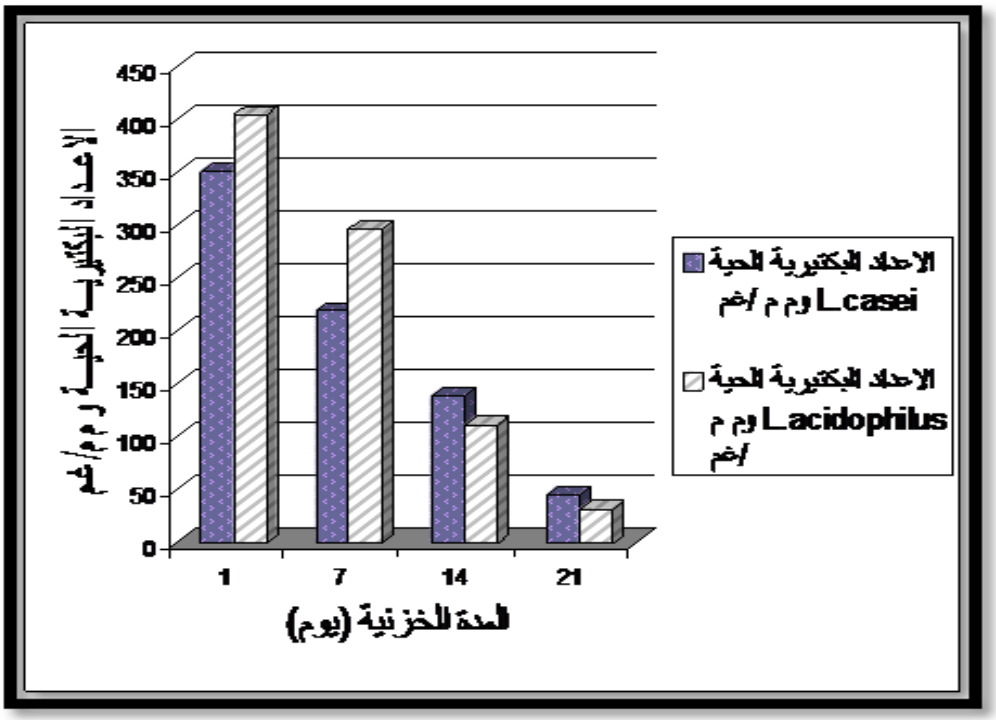
*كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات .

أعداد بكتريا *L. casei* وبكتريا *L. acidophillus* المضافة كل على حدة في جبن التوفو:

كان البادئ قد نشط ثلاث مرات متتالية في الحليب الفرز المجفف المسترجع قبل اضافته للجبن , وقد بلغت الاعداد الحية لبكتريا *L. casei* فيه بعد اكتمال التنشيط 68 × 10^{11} وم م/مل والاعداد الحية لبكتريا *L. acidophillus* 42×10^{11} وم م/مل ،ولكن الأعداد انخفضت بسبب التخفيف الحاصل بعد خلط البادئ مع الخثرة ويلاحظ من الشكل 1 أن الاعداد الحية لبكتريا *L. casei* قد حصل لها انخفاض ولكنه قليل في اثناء خزن التوفو خلال 21 يوماً فقد كان لوغارتم هذه الاعداد 11.54 عند عمر يوم واحد فأصبحت 11.34, 11.14 , 10.65 بعد 7, 14, 21 يوماً من الخزن، ولوغارتم الأعداد الحية لبكتريا *L. acidophillus* كانت 11.60, 11.47, 11.04, 10.50 أثناء عملية خزن المنتوج في الثلاجة للايام نفسها من الخزن على التوالي ان هذا الانخفاض لم يصل الى درجة تجعل من المنتوج غير علاجي. وهذا يتفق مع ما ذكره [29] بأن بكتريا *L. casei* لأي من المنتجات الملقحة بالبكتريا (Cultured products) لم تفقد حيويتها خلال مدة الخزن المبرد.وحتى هذا الانخفاض لايقلل من الفائدة العلاجية للبكتريا ، كما واشار لذلك [32,31,30] من ان الأعداد البكتيرية بما لايقل عن 10^6 م.م / مل تحقق الهدف العلاجي عند الاستهلاك. لذلك فأن وجود هذه الأعداد وحتى عمر 21 يوماً جعلت الجبن المنتج من حليب فول الصويا من الاجبان العلاجية ونجاحه في تحميل هذه البكتريا، كما نلاحظ أن الانخفاض الطفيف الحاصل منذ اليوم الاول والى اليوم 21 في لوغارتم الاعداد الحية كان دورة لوغارتمية واحدة وهذا يدل على نجاح تحميل هذه البكتريا في هذا النوع من الاجبان. وقد اشار [33] من أفضلية الجبن على الحليب المخمرَ الحاملين لبعض العزلات.

لقد بينت هذه النتائج ايضاً ان أضافة بكتريا البادئ بنسبة 10% كانت سبباً في الحصول على تحميل أعلى للبكتريا وبقاء الجبن محتفظاً بأعداد أكبر الى نهاية مدة الخزن وهذه النتائج كانت تتفق مع ما أورده [34] في أحتفاظ جنس *Lactobacillus* بأعداد مناسبة ولمدد زمنية قد تصل الى ستة أشهر في الاجبان الطرية والجافة. كما تتفق النتائج مع ما وجده [35] من ان الخزن تحت التبريد يحافظ على عيوشية البكتريا طوال مدة الخزن من خلال تقليل النشاط الحيوي للخلايا مؤدياً الى عدم استنفاذ المواد الغذائية المحيطة بها، وتتفق مع ما ذكره [36] ان بكتريا حامض اللاكتيك ولاسيما الانواع ذات القابليات العلاجية تستطيع الاحتفاظ باعداد مناسبة لمدد زمنية قد تصل الى 24 شهراً في المستحضرات الصيدلانية المخزونة تحت التبريد.

وهذا يتفق مع ما ذكره [37] من احتفاظ الجبن العلاجي Pikantne المحتوي على بكتريا *Lactobacillus fermentum-MF −3* بالعدد البكتيري 5 ×10^7 وم م /غم لمدة 66 يوماً.



شكل (1): الاعداد الحية و م م /غم $\times 10^9$ في جبن التوفو المضاف له بكتريا *L .casei* و *L. acidophilus* بنسبة 10% كل على حدة خلال 21 يوماً من الخزن على درجة 4±1°م.

العدد الكلي لبكتريا القولون والخمائر والاعفان في جبن التوفو:

يلاحظ من الجدول 3 عدم ظهورأعداد حية من بكتريا القولون او خمائر أو أعفان في عينات جبن التوفو الناتج من حليب فول الصويا والمضاف لها بادئ بكتريا *L. casei* وبادئ بكتريا *L. acidophilus* كل على حدة وبنسبة 10% للمدد الخزنية 1, 7, 14, 21 يوماً.

ويعود السبب في ذلك الى أستعمال درجات حرارية عالية في التصنيع ولمدة زمنية طويلة وإلى انخفاض الاس الهيدروجيني نتيجة لاستعمال الحامض في عملية التخثر فيثبط بكتريا القولون، فضلاً عن أستعمال أساليب التعقيم المناسبة أثناء عملية تصنيعه، وكذلك الى وجود بكتريا *L. casei* و*L. acidophilus* بنسبة 10% ومقدرتها في تثبيط نمو الاحياء المجهرية المسببة للتلف, وهذا يتفق مع ما وجده [38] من أن بكتريا *Lactobacillus rhamnosus* لها فعلها التثبيطي تجاه الفطريات و [39] الذي بين تأثير النواتج الايضية للبكتريا العلاجية في تثبيط نمو الفطريات في الجبن، كما يتفق مع [40] الذي وجد ان البكتريا العلاجية *L. casei* لها القدرة في تثبيط البكتريا التي تسبب تلف الاغذية والبكتريا المرضية ، و مع ما وجده [39] من مقدرة المادة الايضية لبكتريا حامض اللاكتيك على تثبيط نمو بكتريا القولون في الجبن، و مع ما ذكره [41] من عدم ظهور نمو لبكتريا القولون في الجبن الطري العراقي المنتج بأضافة البكتريا العلاجية *Bifi.bifidum* طيلة مدة الخزن. وتتشابه النتائج مع النتائج التي حصل عليها [42] من مقدرة بكتريا *Lactobacillus rhamnosus LGG* على الارتباط مع السموم الفطرية Mycotoxin في الاغذية وأمكانية بكتريا *L .rhamnosus LC 705* على أنتاج مواد مضادة للاحياء المجهرية وتثبيط نمو الخمائر والاعفان.

جدول (3): اعداد بكتريا القولون والخمائر والاعفان في عينات جبن التوفو المصنوع من حليب فول الصويا بعد اضافة 10% بادئ بكتريا *L. casei* وبادئ بكتريا *L. acidophilus* كل على حدة خلال 21 يوماً من الخزن على 4±1°م.

المعاملة	المدة الخزنية	بكتريا القولون	الخمائر والاعفان
جبن توفو بدون بادئ	1	82	10^3×80
	7	105	تلف العينة
	14	120	تلف العينة
	21	142	تلف العينة
جبن توفو+*L.casei*	1	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات
	7	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات
	14	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات
	21	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات
جبن توفو+ *L.acidophilus*	1	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات
	7	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات
	14	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات
	21	لاتوجد نموات	لاتوجد نموات

*كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات .

التقويم الحسي لجبن التوفو المضاف له بادئ بكتريا *L. casei* و*L. acidophilus* كل على حدة بنسبة 10%:

1_ الطعم والنكهة:

يلاحظ من الجدول4 أن جبن التوفو المنتج بأضافة بادئ بكتريا *L. casei* قد حصل على درجة عالية (37.8 من أصل 40 درجة) في عمر يوم واحد, كذلك حصل جبن التوفو المنتج باضافة بادئ بكتريا *L. acidophilus* على قيم مقاربة (37.3 من أصل 40 درجة) في العمر نفسه.

كما يلاحظ من النتائج ان الدرجات لم تنخفض كثيراً عند مدد الخزن7, 14, 21 يوماً بالنسبة للجبن المنتج باضافة بادئ بكتريا *L. casei* فقد كانت 37.8 , 37.3, 36.8, 36.4 على التوالي، وقد حصل الجبن المنتج باضافة بادئ بكتريا *L. acidophilus* على درجات التقويم 37.3, 36.8 , 36.4 , 36.4 على التوالي.

ان جبن التوفو المنتج بأضافة بادئ بكتريا *L. casei* كان ذا نكهة وطعم افضل من جبن التوفو المنتج بأضافة بادئ بكتريا *L. acidophilus* بسبب الحوامض المختلفة والنكهات المميزة التي تنتجها بكتريا *L. casei* فاصبح الجبن اكثر تقبلاً.

كما ان أضافة البادئ بنسبة 10% قد ادى الى تحسين نكهة المنتوج واعطاء حموضة خفيفة مرغوبة للمنتوج والتغطية على النكهة البقولية Beany flavor غير المرغوب فيها في جبن التوفو مع الاحتفاظ بمستوى التقبل لمدة زمنية اطول دون ان تتغير النكهة بسبب القدرة التثبيطية للمواد التي تنتجها بكتريا البادئ مثل حامض اللاكتيك والمواد الايضية الاخرى, اي ان العمر الخزني الذي يتميز بقصره بسبب ارتفاع نسبة الرطوبة فيه قد طال بفضل اضافة تلك البوادئ التي تنتج حامض اللبنيك وحامض الخليك وغيرها من الحوامض والنواتج الايضية الاخرى التي تزيد من الفعالية التثبيطية بشكل مباشر عن

طريق تأثيره على البكتريا الملوثة واخر غير مباشر عن طريق عمليات الايض الاخرى التي تنتج المضادات الحيوية والتي لا تعمل اطلاقا في الظروف القاعدية [44,43] واتفقت هذه النتائج مع ما وجده [45,35] من ان المواد الايضية التي تنتجها بكتريا حامض اللاكتيك يمكن ان تحتفظ بالفعالية الايضية لمدد متباينة من الزمن قد تصل الى عدة شهور وذلك حسب نوع البكتريا العلاجية، وتتفق النتائج ايضا مع ما ذكره [47,46,15] الذين بينوا ان الاجبان المضاف لها بادئ كانت أفضل في نكهتها من الاجبان التي لم يضف لها البادئ.

2- القوام:

يلاحظ من الجدول4 ان درجة التقويم الحسي لصفة القوام لعينة جبن التوفو في عمر يوم كانت 18.3 درجة من اصل 20 بالنسبة لعينات الجبن المضاف لها بادئ بكتريا *L.casei*, كما حصلت على الدرجة نفسها بالنسبة لعينات الجبن المضاف لها بادئ بكتريا *L. acidophilus*, ان اضافة البادئ بنوعيه وبنسبة 10% الى جبن التوفو ادت الى تحسين قوامه والحصول على جبن ذي قوام افضل من جبن التوفو المنتج بدون اضافة البادئ.

3- اللون:

يلاحظ من الجدول 4 ان صفة اللون بالنسبة للاجبان الخالية من البادئ او المضافة لهما بادئ بكتريا *L. casei* وبادئ بكتريا *L. acidophilus* كل على حدة لم تحصل على الدرجة الكاملة فقد حصلت على 8 درجة من اصل 10 وكان ذلك بسبب اللون الناتج من حليب فول الصويا، وقد استمر الحصول على هذه الدرجة طيلة مدة الخزن . وكانت هذه النتائج تتفق مع ما ذكرته [15] في أستمرار عينة الجبن التي اضيف لها بادئ بكتريا *Lactobacillus rhamnosus GG(LGG)* في عدم تغير اللون حتى نهاية مدة الخزن.

4- تقويم الاعداد الحية لبكتريا *L. casei* و*L. acidophilus* المضافة بنسبة 10% في جبن التوفو:

نظراً للخصوصية العلاجية التي لا تتحقق في هذه المنتجات الا بوجود اعداد مرتفعة من البكتريا العلاجية عند الاستهلاك لذلك ادخلت الاعداد الحية لبكتريا *L .casei* و*L. acidophilus* ضمن الاستمارة التي ذكرها [14] والمحورة من قبل [15]. فقد ذكر [31,30] انه لكي تعد المزرعة البكتيرية معززاً حيوياً (Probiotic) يجب ان لايقل عددها البكتيري عن 10^6 وم م/مل من اجل تحقيق الهدف العلاجي.

ويلاحظ من الجدول ان جميع عينات الجبن قد حصلت على درجة كاملة للمدد الخزنية 1, 7, 14, 21 يوماً وذلك لوقوع اعداد البكتريا فيها ضمن الحد الاعلى 10^9 وم م /غم التي حددتها استمارة التقويم الحسي ممايعطيها صفة المنتجات العلاجية (Probiotic products).

تبين من خلال النتائج التي تم الحصول عليها امكانية ان يكون الجبن حاملاً جيداً (Carrier) لبعض انواع البكتريا العلاجية المفيدة للصحة وهذا بالتأكيد امتياز للجبن وتفضيله أكثر من الالبان المتخمرة, كما يمكن ان يخزن الجبن لمدة تصل الى 21 يوماً دون ان تتأثر اعداد الاحياء المضافة وتبقى ضمن كونها اجباناً علاجية.

جدول (4): التقويم الحسي لجبن التوفوالمضاف له بادئ بكتريا *L. casei* و*L. acidophilus* كل على حدة بنسبة 10%خلال 21 يوماً من الخزن على درجة 4±1°م

عمر الجبن بالايام	جبن التوفوالمضاف له بادئ بكتريا *L.casei*			
	النكهة (40-30)	القوام (-20 14)	اللون (5-10)	عيوشية بكتريا البادئ (30)
1	37.8	18.3	8	30
7	37.3	18.3	8	30
14	36.8	18	8	30
21	36.4	18	8	30
عمر الجبن بالايام	جبن التوفوالمضاف له بادئ بكتريا *L.acidophilus*			
	النكهة (40-30)	القوام (-20 14)	اللون (5-10)	عيوشية بكتريا البادئ (30)
1	37.3	18.3	8	30
7	36.8	18.3	8	30
14	36.4	18	8	30
21	36.4	18	8	30

* كل رقم في الجدول يمثل معدلاً لثلاثة مكررات .

المصادر :

1. ارشادات منظمة الصحة العالمية للبروبيوتيك: http://www.who.int/entity/food safety/fs. 2009
2. Alkashtini , S.F. *Methods of preparation and properties of Water extracts of Soy bean* , Ph.D.hesis, University of Illinois , Urbanachampaign, U.S.A. . 1971.
3. الشيخ ظاهر ، عامر عبد الرحمن. *دراسة مقارنة للصفات الكيموحيوية لعزلة محلية وسلالة مستوردة من بكتريا Lactobacillus acidophilus واستخدامها في تصنيع منتجات علاجية*, أطروحة دكتوراه, كلية الزراعة ، جامعة بغداد, العراق,1999 .
4. الراوي ، زيد أكرم ثابت, *عزل وتشخيص بعض أنواع بكتريا Lactobacillus القادرة على تقليل الكولسترول وإدخالها في المتخمرات اللبنية العلاجية* , رسالة ماجستير, كلية الزراعة ، جامعة بغداد, العراق, 2005 .
5. Robinson, R.K. *Dairy microbiology* Vol.2, the microbiology of milk products, Elsevier applied Sci. London & New York, 1990.
6. Cai T.D,Chang K.C. *Characteristic of production scale tofu as affected by soy milk coagulation method :Propeller blade size mixing time and coagulant concentrations*. *Food Res.Int.,31*:289-295. 1999.
7. A.O.A.C. *Association of Official Analytical Chemists,*11th.Ed.Washington DC.,U.S.A. , 1970.
8. Ling , E.R. *A Text Book of Dairy Chemistry*. v.11, Practical, Chapman and Hall .Ltd., London, 1956.
9. Jacop,M.B. *The chemical analysis of foods and food products* ,3th .ed .published by van Nostrand Reinhold co.New York,U.S.A, 1958.
10. Elmer, H.M. *Standard methods for the examination of dairy products*, Interdisciplinary books and periodicals for the professional and Layman, 1978.

11. دلالي , باسل كامل والحكيم , صادق حسن . *تحليل الاغذية*, جامعة الموصل, وزارة التعليم العالي والبحث العلمي, العراق, 1987.

12. Egan,H.;Kirk,R.S.,and Sawy,R.*Persons Chemical Analysis of food*,8th Ed.Churchil Living Stone London , 1985.

13. American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*.14th ed. Marth .E.H.(ed). American Public Health Association. Washington.D.C,1978.

14. Nelson ,j.A ,and Trout , G.m.*Judging Dairy Products* . 4th edition . The olsen publishing co.U.S..A., 1964.

15. الخزرجي، أسيل عدنان حسين. *استعمال بكتريا Lactobacillus rhamnosus GG في إنتاج وإطالة مدة حفظ بعض الاجبان الطرية العلاجية*, رسالة ماجستير, كلية الزراعة، جامعة بغداد, العراق, 2005.

16. Smith ,A.K.,and Circle . S.J. , *Soy bean , Chemistry and Technology* . AVI Company INC. , West Port , Conn.U.S.A., 1978.

17. Jonson, K.W.,and H.E. Snyder "Soy milk. Acomparison of processing method on Yields and Composition" *J. of Food Sci*., *43*(2):349, 1978.

18. الاعرجي , سند باقر محمد . *تأثير اشعة كاما ومعاملات الاستخلاص في الخواص الفيزيوكيمياوية والحسية لحليب الصويا* , رسالة ماجستير , كلية الزراعة , جامعة بغداد, العراق, 1994 .

19. Kapoor,U.,Kushwah, H.S. ,and Datta.C.."studies on gross chemical composition and amino acid content of soy bean varieties", *Indian Journal of Nutrition and and Dietetics, 12*(2):47-52, 1975.

20. Bourne. M.C., Escueta ,E.R.,and Julian ,B, "Effect of Sodium alkalis and salt on pH and flavorof soy milk" .*J. of FoodSsci* .41(1):62, 1976.

21. Hegazi,S.M.,Gabrial, G.N.,Taha, R.A.,and Shehata,O. "Compative studies on some Leguminous protein sources and soy bean protein". Zeitschrift fur Errahung Swissenschaft .15(2):177 C.F. Food Sci .*Tech. Abstr*.9(4) *J 626(1977*). 1976.

22. الطالب, نوفل عبدالواحد. *استعمال الشرش في تصنيع حليب ويوكرت الصويا* , رسالة ماجستير , كلية الزراعة, جامعة بغداد, العراق, 1977.

23. American Soybean Association: www.asasoya.org.2009.

24. Van Hekken ,D.L.,and Farkye ,N.Y. *Hispanic cheese* : the Quest for Queso .Food Technology.57(1):32-38, 2003.

25. جندل ,محمد جاسم . *تكنولوجيا الالبان* 2007 اهداء من المؤلف.

26. Shurtleff, W.; Aoyagi, A., *A Comprehensive History of Soy. History of Soybeans and Soyfoods Past Present and Future*, Lafayette, California: Soyinfo Center , 2008.

27. عبد الواحد، رواء محمد. *دراسة تأثير بعض العوامل في تحضير بعض انواع البكتريا العلاجية التجفيف*, رسالة ماجستير , كلية الزراعة, جامعة بغداد, العراق,2007.

28. Holt, J.C. ,and Krieg, N.R. "Bergey's manual of systematic bacteriology", Vol.2, Williams and Wilkins Company. Baltimore Maryland,U.S.A, 1986.

29. Tuomola ,E ; Crittenden ,R.;Playne , M; Isolauri ,E.,and Salminen ,S."Quality Assurance Criteria for Probiotic Bacteria", *American Journal of Clinical Nutrition*. *73*(2):393-398, 2001.

30. Vuyst, L.D. *Technology Aspects Related to the Application of Functional Starter Cultures*. Application of Functional Starter Cultures, *Food Tech Biotechnol*. *38*(2):105- 112. 2000.

31. Shah, N.P. "Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods", *J. Dairy. Sci*. 83:894-907, 2000.

32. الدروش, عامر خلف والشمري, الهام اسماعيل. "تصنيع بعض الالبان العلاجية" *مجلة البحوث الزراعية العربية, المنظمة العربية للتنمية الزراعية*, المجلد الرابع, العدد الثاني, 2000 .

33. Ross, S. ; Fitzgerald, G. ; Collins, K. ,and Stanton, C. "Cheese delivering biocultures– protiotic cheese" .*Aust. J. Dairy. Tech.57* : 71-78, 2002.

34. Sander,M.E. *Probiotic 101*.CDRE Dairy and Food Culture Technologies . Usprobiotics. Org, 2002.

35. Hsiao, H.C. ; Lian, W.C.,and Chou, C.C.. "Effect of packaging condition and temperature on viability of microencapsulated bifidobacteria during storage". *Journal of the Science of Food and Agriculture. 84*:134-139.2004.

36. Sanders, M.E. *Probiotics*: considerations for human health. Nutr. Rev. 61(3):91-9 ,2003.

37. Songisepp,E.; Kullisaar,T.; Hutt,P.; Elias,p.; Brilene,T.; Zilmer,M.,and Mikelseaar.M. "A new probiotic cheese with Antioxidative and Antimicrotial Activity" .*J. Dairy Sci.87*:2017-2023, 2004.

38. Vandermel , H. C. ;Free , R. H.;Elving ,G.J .;Weissenbruch , R. V.; Albers , F . W ,and Busscher, H.J." Effect of Probiotic Bacteria on Prevalence of Yeasts in Oropharyngeal Biofilms on Silicone Rubber Voice Prostheses in Vitro" , *J. Med. Microbiol . 49* (8) : 713-718 , 2000.

39. حميد، علي حسين علي. *استعمال النواتج الأيضية لبكتريا حامض اللاكتيك العلاجية لحفظ منتجي الجبن الطري والقشطة*, رسالة ماجستير, كلية الزراعة، جامعة بغداد, العراق, 2004.

40. Oyetayo,V.O;Adetuyl,F.C.,and Akinyosoye,F.A."Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent in Vivo", *African Journal of Biotechnology, 2*(11):448-452 , 2003.

41. الدروش, عامر خلف؛ الراوي, اكرم ثابت والشمري, الهام اسماعيل. *استخدام بكتريا Bifidobacterium bifidum في تصنيع الجبن الطري العراقي*, 2003 .

42. Tynkkynen, S.;Suomalainen, T.,and Mayra-Makinen,A. *Development of new probiotics*, Valio Food&Functionals,1:15, 2005.

43. Gilliland, S.E.; Speck, M.L.; Nauyok, D.F. ,and Giesbrecht, F.G." Influence of Consuming No fermented Milk Containing *Lactobacillus acidophilus* on Fecal Flora of Healthy Males", *J. Dairy. Sci., 61*:1-10, 1978.

44. Parasad, D.N.,and Gandhi, D.N. "Factors effecting the production of antibacterial substance in *Lactobacillus acidophilus* strain", *J. Dairy. Sci. 40*:121-124, 1987.

45. Rao, S. ,and Gandhi, D. Studies on microbial quality of acidophilus milk. *J. Dairy. Sci., 40*:12-16, 1987.

46. شبيان, مطهر شرف محسن. *تصنيع وتطوير الجبن الطري المدخن*, اطروحة دكتوراه, كلية الزراعة, جامعة بغداد,العراق, 1999.

47. محمد, وليد احمد علي. *استعمال عزلات محلية كبادئات في تصنيع جبن شبيه بالجبن الطري الريفي*, رسالة ماجستير, كلية الزراعة, جامعة بغداد, العراق, 2003.