



جامعة دمشق

كلية الهندسة الزراعية

قسم علوم الأغذية

تأثير عمليات التصنيع في مستوى الأمينات الحيوية

في بعض الأجبان السورية

Effect of Processing Methods on The Biogenic Amines Levels in Some Syrian Cheese

رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية (علوم الأغذية)

إعداد

م. فدوى محمد سعيد حبيبه

الإشراف العلمي

د. هدى حبال

كلية الهندسة الزراعية

أ.د. صياح أبو غرة

كلية الهندسة الزراعية

2012 - 1433

تصريح

أصرح بأن البحث الموصوف في هذه الأطروحة تحت عنوان :

« تأثير عمليات التصنيع في مستوى الأمانات الحيوية في بعض الأجبان السورية » والذي قدم استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الماجستير في قسم علوم الأغذية , كلية الهندسة الزراعية , جامعة دمشق . لم يسبق أن قدم للحصول على أية درجة جامعية أخرى , والآن هو مقدم حالياً لذلك , وأن كافة الأعمال والنتائج المذكورة هي محصلة جهود شخصية وبتوجيه من المشرفين العلميين , وأن أية معلومات أو طرائق أو نتائج أخرى ذكرت في الأطروحة قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها بوضوح في النص وفي قائمة المراجع .

المرشحة

فدوى محمد سعيد حبيب

نصادق على تصريح المرشحة:

المشرف العلمي: أ.د. صياح أبوغرة

المشرف العلمي المشارك: د. هدى حبال

إهداء

إلى من مثله أحب أن أكون . . في عقله وحكمته ووزنه للأمور . . إلى من في عينيه أرى الدموع . . لوأصابني
أو إختوتي أي مكروه . . ليس لأن كل فتاة بأبيها معجبة , كما في الأمثال يقولون . . ولكنها الحقيقة , فعنه أقول :
ليس له "كأمي" مثيلاً في الوجود . . لإطلالته تشرّب العيون . . لرؤيته تستريح الوجوه . . لكلامه تطمئن القلوب
. . ولذكائه وحسن تديره تذهل الجموع . . إلى من يعمل بشكل دؤوب . . دون ملل أو قول أوف . . ليصل بنا
إلى مستوى مرموق . . لاحتاج فيه إلى مساعدة مخلوق . . إلى من له أدعو الله في كل سجود . . ليحميه ويُبقيه
سالمًا من كل سوء . . .

حبيبي الغالي بابا

إلى من لا مثيل لها في الوجود . . من ليس لعطفها وحنانها حدود . . من لا تنتظر لقاء سهرها وتعبها أجور . .
للكلام عنها تعجز الحروف . . حملتني في أحشائها تسعة شهور . . يتسع قلبها لما تضيق عنه البحور . . تنسى
ألمها حين ترى على وجوه أبنائها السرور . . ولصدرها أفتح قلبي وأبوح . . من شدة عاطفتها تنفجر الدموع . .
إلى من جعل الله رضاها شرطاً ليستطيع الإنسان إلى الجنة الدخول . . إلى من بفضلها كان لي ماحقته من أمور
. . ومن لنيل رضاها أسعى وأتوق . . وأتمنى من الله أن يحفظها لي من كل مكروه . . .

حبيبتي الغالية ماما

إلى من بدونهم لاحول لي ولا قوة .. إلى من بهم يكتمل معنى الأخوة .. إلى من بوجودهم أشعر بالفرح والراحة
والمسرة .. إلى من هم سندي في كل محنة وشدة ...

إلى فاديا .. مثلي وقودتي .. أختي الكبرى ... إلى فداء .. رفيقتي وعزيزتي الوسطى ... إلى منال
.. حبيبتي وشقيقتي الصغرى ... وإلى فادي .. زهرة البيت والقلب والمقلة ... احفظهم لي ياربي أملاً
وذخراً ...

أحبائي الغوالي إخوتي

إلى من كان لي مثلاً به أقتدي .. إلى من كان لي ملجأً به أحتمي .. إلى من كان لي سراجاً به أستير .. إلى
من كان لي الفخر بأنه زوجي .. إلى من أكنُّ له كل محبة وتقدير ...

زوجي وحبيبي

من برق عينيها أتمدُّ الإباء .. من حُمره وجنتيها أتمس الحنان .. من همسة شفقتها أرتشف العطاء ..
من نضارة وجهها أشعر بالوفاء .. ومن براءة طفولتها أحس بالأمان .. إلى من أكرمني الله بوجودها .. ومن
علي بفضل حضورها .. وأعزني بأن أكون أماً لها .. إلى أعلى مالدي .. مقلة عيني .. ومهجة قلبي ..
أملّي ومستقبلي ...

ابنتي وحبيبتي

يمنى

كلمة شكر

هاهي السنوات تمر سريعة كاللحظات .. والزمن يمضي ويمضي بدون استئذان .. والصغير يكبر متخطياً ماقد يعترضه من صعوبات .. ليصل إلى نهاية مشوار .. قرر أن يخوضه بكل إصرار .. ليحقق وجوداً في حياة تأبى أن يكون للضعيف فيها مكان ..

هو كالغريق المحتاج إلى من ينقله إلى بر الأمان ..

هو كالمريض المحتاج إلى من يعطيه جرعة الدواء ..

هو كالتائه المحتاج إلى من يرشده إلى طريق الصراط ..

ومن يتولى مهمة ذلك ؟ .. سوى قلة من الناس .. نذروا أنفسهم لخدمة الإنسان .. لم يخلوا على كل من يسألهم

.. بالجواب .. هم كالنجوم التي تأبى أن تكفَّ عن اللمعان .. لتتبرع طالب العلم في كل مكان .. لتكمل مسيرة

آباءٍ وأمّهات .. بذلوا من الجهد ما يعجز عن تصويره الخيال .. ليروا أبناءهم شعلةً تتقد في مختلف أسرجة الحياة ..

فكما الإنسان مدين بوجوده للإله .. وكما البحر مدين بزرقه للسماء .. وكما الاختراعات مدينة بوجودها للإبداع ..

كذلك فإنني مدينة بالبر والوفاء .. وبكل الحب وفائق الاحترام .. لنبيح العطاء .. الذي منحني الإرادة والتصميم ..

على المتابعة والاستمرار .. لنيل المزيد من درجات العلم .. والذي الأعزاء .. كذلك مدينة بالشكر والثناء .. إلى

جميع أساتذتي الكرام .. وأخص منهم :

الدكتورة هدى حبال .. والدكتور صياح أبو غرة .. لما أولياه لبحثي من رعاية واهتمام .. ولما قدموه لي من نصحٍ

وإرشاد .. والدكتور جهاد سمعان .. على مساعدته اللافتة .. والمهندس عبدة العبدالله الذي قدم لي العون في

عملي ووقف إلى جانبي ..

فكل الشكر والتقدير لجهودهم جميعاً ..

فدوى

فهرس المحتويات

الموضوع	الصفحة
الملخص	1
ABSTRACT	3
1- المقدمة Introduction	5
2- أهداف البحث Research Aims	6
3- الدراسة المرجعية Literature Review	7
3-1- الأمينات الحيوية Biogenic Amines	7
3-2- البنية الكيميائية للأمينات الحيوية Chemical Structure of Biogenic Amines	8
3-3- النواحي السمية للأمينات الحيوية Toxicity Aspects of Biogenic Amines	8
3-3-1- التسمم الهيستاميني Histamine Poisoning	11
3-3-2- التسمم التيراميني Tyramine Poisoning	12
3-3-3- الأمينات كمواو مسببة للسرطان Amines as carcinogenic	12
3-4- دور البكتريا في تكوين الأمينات Bacteria responsible for amine formation	13
3-5- الحدود المسموح بها من الأمينات الحيوية في المواو الغذائية	14
Permissible Limits of Biogenic Amines in Food	
3-6- الأمينات الحيوية في الأجبان Biogenic Amines in Cheese	15
3-7- تأثير عمليات التصنيع في مستوى الأمينات الحيوية في الجبن	16
Effect of Processing Methods on The Biogenic Amines Levels in Cheese	
3-7-1- تأثير المعاملة الحرارية (البسترة) Effect of Pasteurization	16
3-7-2- تأثير البادئ Effect of Starter	18

19	3-7-3 تأثير تركيز المحلول الملحي Effect of Brine Concentration
20	4-7-3 تأثير حرارة التخزين Effect of Storage Temperature -
21	5-7-3 تأثير طول فترة التخزين (الإنضاج) Effect of Storage Time (Ripening) -
24	4 مواد وطرائق البحث Materials and Methods
24	4-1 مواد البحث
24	4-2 طرائق البحث
24	4-2-1 التحري عن مستوى الأمانات الحيوية في أنواع الأجبان المحلية
25	4-2-2 تصنيع الجبن الأبيض
26	4-2-3 التحليل الكيميائي لعينات الجبن
26	4-2-4 تقدير الأمانات الحيوية في عينات الجبن
28	4-2-5 التحليل الإحصائي
28	4-3 تقييم طريقة التحليل
28	4-3-1 حساب الخطية Linearity
28	4-3-2 حساب الكمية المسترجعة Recovery
29	4-3-3 حساب حد الكشف (LOD) وحد التقدير الكمي (LOQ)
30	5- النتائج والمناقشة Results and Discussion
30	5-1 تقييم طريقة التحليل
30	5-1-1 الخطية Linearity
32	5-1-2 الكمية المسترجعة Recovery
32	5-1-3 حد الكشف (LOD) وحد التقدير الكمي (LOQ)

33	2-5- محتوى عينات الأجبان المدروسة من الأمينات الحيوية
35	3-5- علاقة محتوى الأمينات في عينات الجبن بتركيبها الكيميائي
37	4-5- تأثير المعاملات التصنيعية في مستوى الأمينات الحيوية في الجبن الأبيض المصنع
37	1-4-5- محتوى الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن الأبيض المصنعة
40	1-1-4-5- تأثير البسترة في مستوى الأمينات الحيوية في عينات الجبن المصنعة
44	2-1-4-5- تأثير تركيز المحلول الملحي
50	3-1-4-5- تأثير درجة حرارة الحفظ
54	4-1-4-5- تأثير طول فترة التخزين
56	6- الاستنتاجات Conclusions
58	7- التوصيات Recommendations
59	8- المراجع REFERENCES
73	9- الملحق Appendix

الملخص

هدف هذا البحث إلى التحري عن مستوى الأمينات الحيوية في عدة أنواع من الأجبان المحلية. حيث جمع خمس عينات عشوائية من عشر أنواع من الأجبان السورية من مختلف المحافظات السورية وهي: جبن أبيض (بقر، غنم، ماعز)، ناعم، قشقوان، شلل، عكاوي، موزاريللا، مطبوخ، وشنكليش. قدرت كمية الأمينات الحيوية فيها باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء (HPLC)، والمحتوى من الرطوبة، و% للحموضة، و% للملح. بينت النتائج أن 90% من الأجبان المدروسة احتوى على الهيستامين، و20% منها احتوى على التربتامين، بينما احتوى 30% منها على β -فينيل إيثيل أمين والكادافيرين، و10% منها فقط احتوى على التيرامين. أما التحاليل الكيميائية فقد تباينت قيمها بشكل كبير نتيجة لاختلاف طريقة تصنيع كل نوع من هذه الأجبان، ولم يلاحظ وجود أي ارتباط بين قيم المؤشرات الكيميائية لهذه الأجبان وبين نسب الأمينات الحيوية فيها.

تم تصنيع الجبن الأبيض السوري بدءاً من حليب بقر، ودرس تأثير كل من: [المعاملة الحرارية (63°C) لمدة 30 د)، تركيز المحلول الملحي (16، 20%)، ودرجة حرارة الحفظ (25°C ، 4)] في محتواه من الأمينات الحيوية (حيث وجد فيه الهيستامين والتربتامين فقط) ومؤشرات الجودة للجبن الناتج (رطوبة، حموضة، وملح) خلال فترة التخزين التي استمرت 60 يوماً وبفاصل زمني (15 يوم).

أدت المعاملة الحرارية إلى انخفاض نسبة الحموضة والملح وارتفاع نسبة الرطوبة في الجبن المصنع، كذلك أدت إلى انخفاض تركيز كل من الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن المصنعة بنسبة تراوحت بين 39.2% و 50.4% للهيستامين، وبين 49.7% و 55.3% للتربتامين وذلك في نهاية فترة الحفظ.

أدى استخدام محلول ملحي مرتفع التركيز 20% إلى انخفاض نسبة الرطوبة والحموضة وارتفاع نسبة الملح في عينات الجبن الأبيض المصنعة سواء من حليب خام أو من حليب مبستر، كما أدى إلى انخفاض تركيز كل من الهيستامين والتربتامين في الجبن بنسبة تراوحت بين 3.5% و 13.7% للهيستامين، وبين 6.2% و 12.7% للتربتامين وذلك في نهاية فترة الحفظ.

أثرت درجة حرارة التخزين المنخفضة 4°C بشكل إيجابي في خفض نسبة كل من الحموضة والملح وارتفاع نسبة الرطوبة. كما انخفض تركيز كل من الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن المصنعة بنسبة تراوحت بين 9.9% و 22.5% للهيستامين، وبين 15.1% و 24.6% للتربتامين وذلك في نهاية فترة الحفظ.

أثر زمن التخزين في المؤشرات الكيميائية للجبن الأبيض المصنع, حيث انخفض محتوى الرطوبة وارتفعت نسبة كلاً من الحموضة والملح مع تقدم زمن الحفظ , كما ازداد تركيز الأمينات الحيوية في عينات الجبن بشكل ملحوظ , حيث بدأ تكونها في الجبن بعد شهر تقريباً من الحفظ وأخذ تركيزها بالارتفاع مع تقدم زمن الحفظ .

بينت الدراسة وجود ارتباط سلبي قوي بين نسبة كل من الرطوبة والملح وبين تركيز الأمينات الحيوية , حيث اقتربت جميع قيم معامل الارتباط (R) من -1 , في حين كان الارتباط إيجابياً بين نسبة الحموضة وتركيز الأمينات الحيوية بقيم معامل ارتباط اقتربت من 1 وذلك في جميع عينات الجبن المصنعة سواءً من حليب خام أو من حليب مبستر.

وبمقارنة تركيز الأمينات الحيوية في عينات الجبن المحلية المختبرة في الدراسة مع الحدود الموصى بها من قبل منظمة الغذاء والدواء الدولية (FDA) , وجد أن نسبة المخالفة بلغت 92% , كذلك كانت نسبة المخالفة في عينات الجبن الأبيض المصنعة من حليب خام أو مبستر والمخزنة لمدة 60 يوماً 100% بالنسبة للهستامين و 37.5% بالنسبة للتريتامين.

ABSTRACT

This research was aimed to detect the level of biogenic amines in some locally cheese types. Five cheese samples out of ten Syrian cheese were selected randomly from different Syrian provinces. These samples were: white cheese (cow, sheep , goat) , soft cheese, kashkaval cheese, string cheese, ackawi cheese, mozzarella, processed cheese, and chenklish. Biogenic amines were evaluated by the high-performance liquid chromatography technique (HPLC). Moreover , content of moisture, % acidity and % salt were estimated. The results demonstrated that 90% of tested cheese samples contained Histamine, and 20% of it contained Tryptamine , while 30% of it contained β -phenylethylamine and Cadaverine and only 10% of it contained Tyramine . The chemical analysis revealed significant variations between cheese types as the processing techniques were different. No correlation was detected between the chemical characteristics and the levels of biogenic amines.

Syrian white cheese was manufactured from cow milk, it was studied effect of: [thermal treatment (63°C for 30 minutes), the concentration of brine (16 and 20%), and the temperature of storage (4 and 25 °C)] on the content of biogenic amines (Histamine and Tryptamine found only in it), and the indicators of quality of processed cheese (moisture, acidity, and salt), during the storage lasted 60 days and every 15 days.

Thermal treatment reduced the acidity, salt and increased moisture in processed cheese, also it reduced Histamine and Tryptamine concentration in processed cheese samples by ranged between 39.2% and 50.4% for Histamine, and between 49.7% and 55.3% for Tryptamine at the end of the storage.

Using high brine concentration 20% reduced the moisture, acidity and it increased salt in white processed cheese samples either from raw or pasteurized milk, it also reduced Histamine and Tryptamine concentration in cheese by ranged between 3.5% and 13.7% for Histamine , and between 6.2 % and 12.7 % for Tryptamine at the end of the storage.

Storage at low Temperature 4°C effected positively on reduction the acidity, salt, and it increased moisture. It also decreased the concentration of each of Histamine and Tryptamine in processed cheese samples by ranged between

9.9% and 22.5% for Histamine, and between 15.1% and 24.6% for Tryptamine at the end of the storage .

Chemical indicators of white processed cheese was affected by The storage time, the content of moisture was reduced , acidity and salt was increased with progress of storage, the concentration of biogenic amines in cheese samples was also increased significantly, it formed in cheese after nearly a month of storage and its concentration rose with progress of storage.

The study showed a strong negative correlation between the moisture, salt and the concentration of biogenic amines, all the values of the correlation coefficient (R) closed to -1, while the positive correlation was found between acidity and the concentration of biogenic amines with values of correlation coefficient closed to 1, in all white processed cheese samples from either raw or pasteurized milk.

Comparing the concentration of biogenic amines in local tested cheese samples in the study with the limits recommended by the Food and Drug Administration (FDA), it found that the rate of offence was 92%, as well as the rate of offence in white processed cheese samples from raw or pasteurized milk, and stored for 60 days was 100% for Histamine and 37.5% for Tryptamine.

Introduction المقدمة -1

يعاني العالم في الآونة الأخيرة من أمراض عديدة تعددت مسبباتها، مثل الأمراض الناتجة عن تلوث المواد الغذائية بالعناصر الثقيلة، والمبيدات، والسموم الفطرية. أو تلك الناتجة عن تلوث الغذاء بالبكتيريا المفرة للسموم أو المفككة للمواد الغذائية (Aymerich *et al.*, 2006). وقد وجدت مركبات أمينية في الغذاء تحدث أمراضاً للإنسان والحيوان، وتعتبر من المواد التي تحدث كثير من حالات التسمم الغذائي، نتيجة تناول أغذية تحتوي عليها مثل الأسماك، الأجبان، منتجات اللحوم، البيض، الخضراوات المتخمرة، منتجات فول الصويا، البيرة، والخمور (Landete *et al.*, 2007).

ونتيجة لارتفاع استهلاك الجبن فإنه يُعد ثاني أكثر المواد الغذائية بعد السمك، المرتبطة بالتسمم الأميني (Dicakova *et al.*, 2004 ; Burdychova and Komprda, 2007)، حيث يعتبر إنتاج الأمينات الحيوية في الجبن ظاهرة معقدة تعتمد على عدة مؤشرات: محتواه من الحموض الأمينية الحرة، الحمولة الميكروبية، pH الجبن، نسبة الرطوبة، تركيز الملح، زمن و درجة حرارة التخزين (Gardini *et al.*, 2004 ; Rodriguez *et al.*, 2002 ; Sarkadi, 2004). كما يعد محتوى الأجبان من الأمينات الحيوية مؤشراً هاماً لفسادها وجعلها غير آمنة صحياً (Jayarajah *et al.*, 2007; Bunkova *et al.*, 2010)، لما تسببه هذه المركبات من أعراض عديدة كارتفاع ضغط الدم، صداع، اضطرابات معوية، عدم اتزان، غثيان، وغيرها من الأعراض المرضية الأخرى (Jarisch, 2004).

ونظراً لأهمية هذا الموضوع ، وقلة الأبحاث التي تم إجراؤها في الجمهورية العربية السورية على المحتوى الأميني للأجبان السورية ، ومدى تأثير عمليات التصنيع فيه ، إضافةً إلى خطورة الأمينات الحيوية على صحة الإنسان ، خاصةً وأن المواد الغذائية التي تحتوي عليها محببة ومرغوبة من قبل جميع الأعمار؛ كان لابد من تسليط الضوء على هذا الجانب، ودراسة تأثير عمليات التصنيع في مستوى الأمينات الحيوية في بعضٍٍٍٍ من الأجبان المحلية.

2- أهداف البحث Research Aims

يهدف هذا البحث إلى:

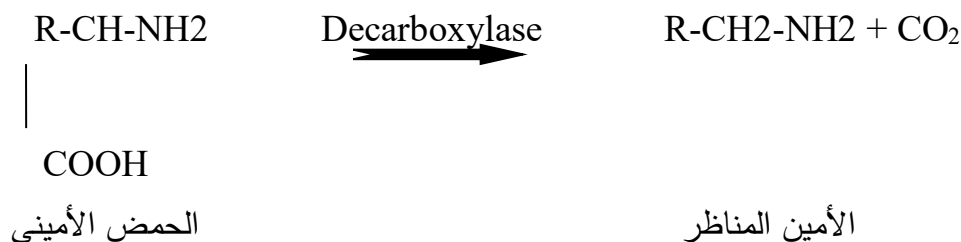
- ❖ التحري عن مستوى الأمانات الحيوية في بعض الأجبان المحلية .
- ❖ دراسة تأثير المعاملة الحرارية للحليب المستخدم في صناعة الجبن الأبيض البلدي في مستوى الأمانات الحيوية خلال فترة التخزين.
- ❖ دراسة تأثير كل من تركيز المحلول الملحي ودرجة حرارة التخزين للجبن الأبيض البلدي في مستوى الأمانات الحيوية خلال فترة التخزين.

3- الدراسة المرجعية Literature Review

3-1- الأمينات الحيوية Biogenic Amines:

تعرف الأمينات الحيوية بأنها مجموعة من المركبات العضوية النتروجينية ذات وزن جزيئي منخفض (Aliakbarlu *et al.*, 2009), يمكن أن تنشأ من مركب الأمونيا (NH₃) ، باستبدال ذرة هيدروجين أو اثنتين أو ثلاث بمجموعة ألكيل أو أريل. وهي مركبات قطبية ذات قلوية واضحة كافية لتلوين عباد الشمس باللون الأزرق، درجة غليانها أخفض من الكحولات أو الحموض الكربوكسيلية الموافقة، وتستطيع تشكيل روابط هيدروجينية مع الماء، فهي جيدة الانحلال في الماء، كما تتحلل في محلات أقل قطبية كالإيثر، الكحول، والبنزن (اليوسفي، 1985).

كذلك يمكن أن تنتج الأمينات من وجود البكتريا المفرزة للإنزيمات القادرة على نزع كربوكسيل الحموض الأمينية Decarboxylase (Pereira *et al.*, 2001; Fernandez *et al.*, 2007) حينئذ يتحول الحمض الأميني المفيد للجسم إلى مركب أميني ضار ويجب على الجسم التخلص منه، كما في التفاعل التالي :

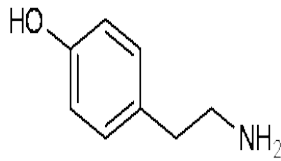


(سمينة وآخرون، 2006)

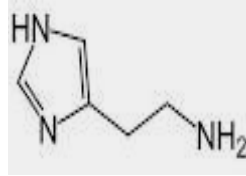
وبما أن تلك المركبات تنتج بفعل الأنزيمات المفرزة من قبل الكائنات الحية الدقيقة، فتعرف باسم الأمينات الحيوية Biogenic amines ونذكر منها على سبيل المثال: (هستامين ، تيرامين ، كادافيرين، تربتامين ، β- فينيل إيثيل أمين ، إلخ)، الناتجة من الحموض الأمينية التالية (هستدين ، تايروزين ، لايسين ، تربتوفان ، فينيل ألانين ، إلخ) على التوالي (Ferrer *et al.*, 2007 ; Bover-Cid *et al.*, 2008)

3-2- البنية الكيميائية للأمينات الحيوية Chemical Structure of Biogenic Amines :

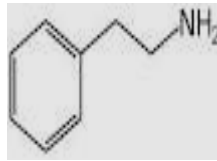
. (Gugliucci, 2004 ; Kvasnicka and Voldrich, 2006)



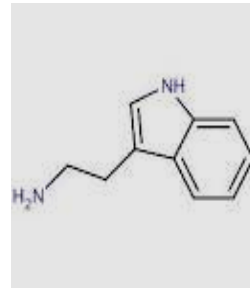
Tyramine



Histamine



β -phenyl ethyl amine



Tryptamine



Cadaverine

3-3- المظاهر السمية للأمينات الحيوية Toxicity Aspects of Biogenic Amines:

تعتبر الأمينات مواد سامة تحدث أمراضاً للإنسان والحيوان، وعملية تشكلها في العديد من الأطعمة قد تكون مشكلة، لأن هذه المركبات قد تكون سبباً لحدوث ما يسمى بالتسمم الغذائي (Fernandez *et al.*, 2006 ; Lucas *et al.*, 2008)، ومن الثابت حدوث تسممات في دول كثيرة من العالم نتيجة تناول أغذية تحتوي على الأمينات الحيوية، كما هو موضح في الجدول (1).

الجدول (1) حالات التسمم بالأمينات الحيوية في العالم وأنواع الأغذية المسببة لها.

الدولة	الغذاء المسبب
كندا	السّمك , جبن التشيدر
فرنسا	السّمك , فخذ الخنزير
ألمانيا	السّمك , جبن الغودا , الكرنب الحلو
انكلترا, نيوزيلندا, الدانمارك	السّمك
اليابان	السّمك , الدجاج
هولندا	جبن الغودا
أمريكا	السّمك , الجبن السويسري

(Shalaby, 1996)

وقد أشار (Vinci and Antonelli, 2002) إلى أن الأعراض الناتجة من تناول غذاء يحتوي على الأمينات تختفي عادة خلال بضعة ساعات, لكن هذا لا يمنع من وجود حالات خطيرة. فالأمينات الحيوية ذات تأثيرات فيزيولوجية هامة على الإنسان, قد تكون هذه التأثيرات عصبية تؤثر في ناقلات التيارات العصبية, أو وعائية تؤثر في الجهاز الوعائي (القلب) (Novella-Rodriguez *et al.*, 2004) ويوضح الجدول (2) الأمينات الحيوية في الأغذية وتأثيراتها الفيزيولوجية على الجسم.

الجدول (2) الأمينات الحيوية في الأغذية وتأثيراتها الفيزيولوجية.

الأمين	التأثيرات الفيزيولوجية
الهستامين Histamine	إفراز الأدرينالين والنورأدرينالين, تحفيز العضلات الناعمة لفتحة الشرج والأمعاء والجهاز التنفسي, تنبيه التيارات العصبية, التحكم في إفراز الأحماض بالمعدة.
التيرامين Tyramine	انقباض الأوعية المحيطة (الخارجية), زيادة خروج الدم من القلب, إفراز اللعاب والدموع, زيادة التنفس, ارتفاع مستوى سكر الدم, إفراز النورأدرينالين من الجهاز العصبي, الصداع النصفي (الشقيقة).
الكادافيرين Cadaverine	ارتفاع ضغط الدم, بطء القلب, تشنج عضلات الفك, شل حركة الأطراف, زيادة سمية الأمينات الأخرى.

إفراز النورأدرينالين من الجهاز العصبي , ارتفاع ضغط الدم , الصداع النصفي(الشقيقة).	β -فينيل إيثيل أمين β -phenyl ethyl amine
ارتفاع ضغط الدم.	التربتامين Tryptamine

(Lange *et al.*, 2002)

والأمينات الحيوية تؤدي إلى حدوث أنواع عديدة من التسممات المحمولة بالغذاء , ومن أهمها التسمم الهيستاميني والتسمم التيراميني, ويمكن فقط أن تظهر التأثيرات الضارة الناتجة من تناول الأغذية المحتوية على نسبة عالية من الأمينات الحيوية عندما تنتقل بتركيز زائد إلى مجرى الدم , وتكمن خطورة الأمينات أيضاً في كونها مواد أولية للمواد المسببة للسرطان (Whrl *et al.*, 2004).

هناك العديد من العوامل التي تساعد على تكوين هذه الأمينات الحيوية في الغذاء وتشمل:

- مدى توافر الأحماض الأمينية الحرة.
- مدى وجود الكائنات الحية الدقيقة المفزة لأنزيمات نزع مجاميع الكربوكسيل من الأحماض الأمينية.
- الظروف المفضلة لمثل هذه الكائنات الحية للنمو وإنتاج الأنزيمات وفعاليتها مثل pH ودرجة الحرارة ونسبة الملح (Guerzoni and Suzzi, 2001).

ومع أن الأمينات الحيوية تتكون عادة في الغذاء أثناء عمليات التحلل أو الفساد , التي تتضمن تكوين الأحماض الأمينية الحرة خلال عملية تحلل البروتين, مع إنتاج البكتيريا للأنزيمات ذات الفعل النازع لمجاميع الكربوكسيل من الحمض الأميني (Komprda *et al.*, 2007), إلا أنه قد تتكون كميات كبيرة من الأمينات دون حدوث أي تغير في الخواص الحسية والمظهرية للغذاء , وهنا تكمن المشكلة الحقيقية حين يتناول الإنسان هذا الغذاء دون معرفة بمحتواه من الأمينات الحيوية, ثم يفاجئ بحدوث الأعراض المرضية مثل الإسهال , القيء , الصداع النصفي , الحكة , واحمرار الجلد وغيرها (Kalac and Krausova, 2005).

3-3-1- التسمم الهيستاميني Histamine Poisoning :

الهيستامين عبارة عن مادة كيميائية لها تأثير حيوي قوي، ويمكن أن تسبب أعراضاً كثيرة داخل الجسم (Pollock *et al.*, 1991). ومع أن خلايا الدم تحتوي على كميات كبيرة من الهيستامين مخزنة في خلايا خاصة، إلا أن تأثير الهيستامين لا يظهر مالم يحدث تفاعلات خاصة تؤدي إلى خروجه من هذه الخلايا إلى مجرى الدم (Repka-Ramirez and Baraniuk, 2002). والتسمم الهيستاميني يكون مصحوباً بعدد كبير من الأعراض المميزة التي تظهر على الجلد، وتشمل الحكة، البقع الجلدية والاحمرار أو التهاب الموضع كذلك تشمل الاضطرابات المعوية كالإسهال والمغص، عدم الاتزان، الغثيان، إضافة إلى ارتفاع ضغط الدم، الصداع، تورم اللوزتين وظهور بثور على اللسان، واللون الشاحب، وفي الحالات الشديدة تظهر ذبحة صدرية وأزمات تنفسية، نزيف بالدماغ أو فشل قلبي (Jarisch, 2004).

يمكن أن ينتج التسمم بالهيستامين نتيجة تناول أغذية تحتوي على كميات كبيرة منه، وخاصة الجبن حيث يعتبر الجبن ثاني أكثر المواد الغذائية بعد السمك والمرتبطة بالتسمم الهيستاميني، ولقد سجلت حالات من التسمم بالهيستامين الموجود بالجبن، مثل جبن الغودا، والجبن السويسري، وجبن التشيدر (Maijala and Erola, 2002; Sumner, 1990). وليس بالضرورة أن يكون وجود الهيستامين في الأغذية مصدر خطورة، فالجسم يستطيع أن يتحمل كميات صغيرة منه بفضل وجود نظام أنزيمي عالي الكفاءة في أمعاء الإنسان (Mono Amine Oxidase M.A.O) قادر على إزالة سمية الهيستامين سواء الموجود في الغذاء أو الذي تكونه البكتريا المعوية، بتحويله إلى نواتج غير سامة، إلا أنه يفشل في إزالة سمية الكميات المرتفعة من الهيستامين والتي تصل إلى الجسم (Sarkadi, 2004) عن طريق الغذاء أو عند تناول أدوية الاكتئاب النفسي والتي تقوم بتثبيط نشاط المركبات «M.A.O» وبالتالي يؤدي تناول المريض لكميات كبيرة من الجبن إلى بقاء مركبات أمينية غير متكسرة في الخلايا مؤدية لحدوث تفاعلات غير مرغوبة داخل الجسم، لذا يجب على هؤلاء المرضى التزام جانب الحذر عند تناول الأغذية والمشروبات والأدوية المحتوية على أمينات (المدني، 2004). كذلك وجود أمينات أخرى مثل (البوتريسين، الكادافيرين، التيرامين، التريبتامين، β -فينيل إيثيل أمين، السبيرمين، والسبيرميدين) مع الهيستامين في الغذاء يثبط عملية هدم الهيستامين ويؤدي إلى زيادة امتصاصه عبر جدار الأمعاء، مما يزيد من شدة التسمم به (Zuzana *et al.*, 2004 ; Ladero *et al.*, 2008).

3-3-2- التسمم التيراميني Tyramine Poisoning:

يعتبر التيرامين من أمينات الضغط التي تؤثر في الجهاز الوعائي للدم. و تعود أهمية التيرامين في الأغذية بصفة أساسية إلى تأثيراته السامة (Rivas *et al.*, 2006), حيث يؤثر بطريقة مباشرة عن طريق إفراز النورأدرينالين من الجهاز العصبي مسبباً زيادة في ضغط الدم الخارج من القلب (Chiacchierini *et al.*, 2005), كما يعمل على توسيع حذقة العين ويسبب إفراز الدموع واللعب , ويؤدي إلى سرعة وزيادة التنفس وكذلك زيادة سكر الدم, أيضاً يشارك في نشوء داء الشقيقة (Dicakova *et al.*, 2001), وقد يشجع على نزيف المخ أو الأزمات القلبية (Maijala and Erola, 2002).

3-3-3- الأمينات كمواد مسببة للسرطان Amines as carcinogenic:

أشار (Pircher *et al.*, 2007) إلى أن الأمينات قد تعمل كمواد أولية للمواد المسرطنة, وذلك عن طريق تفاعلها داخل الجسم مع النترات أو النتريت الموجود في المادة الغذائية لتكوين النتروز أمين , الذي يعتبر مادة مسرطنة وذات خطورة على صحة الإنسان. وقد ثبت أن الأمينات يمكن أن تكون النتروز أمين حينما تتعرض للنتريت تحت ظروف مشابهة لتلك التي توجد في معدة الإنسان, حيث يتكون مركب 3-diazotyramine المسرطن في معدة الإنسان نتيجة تفاعل التيرامين مع النتريت (Rea *et al.*, 2004).

كما يوجد أمينات أخرى يمكن أن تكون مادة النتروز أمين المسرطنة مثل (الأغماطين, السبيرمين, السبيرميدين) والموجودة بكثرة في الأسماك واللحوم ومنتجات الخضروات (Vidal-Carou, 2003) , وعموماً فقد وجدت زيادة معنوية في كمية النتروز أمين في بول الإنسان عقب تناوله وجبة محتوية على النترات والأمينات مقارنة مع وجبة غير محتوية على الأمينات (Doyle *et al.*, 1993; Komprda *et al.*, 2008).

3-4- دور البكتريا في تكوين الأمينات Bacteria responsible for amine formation :

هناك العديد من الميكروبات التي لها القدرة على إنتاج الأمينات الحيوية في الجبن، وذلك لامتلاكها أنزيمات نازعة لمجموعة الكربوكسيل من الأحماض الأمينية مثل : أجناس *Str.mitis* , *Streptococcus* , *Micrococcus* , *Clostridium* , *Pseudomonas* (Suzzi and Gardini, 2003; Abou-Donia, 1991) (*Str.faecium* , *Lb.acidophilus* , *Lb.buchneri* , *Lb.casei* , *Lb.bulgaricus*) *Lactobacillus* اللبن (Bover-Cid et al., 2001; Arena et al., 2007) (*Lb.arabinosus* , *Lb.lactis* كل من (Bunka et al., 2010; Marcobal et al., 2005) إلى أن البكتيريا الملوثة للمنتجات اللبنية هي المسؤولة عن إنتاج الأمينات الحيوية فيها، وليس البادئ المضاف وذلك لعدم قدرة معظم بكتيريا البادئ على إنتاج هذه المركبات باستثناء بعض البكتيريا المستخدمة كبادئ في المنتجات اللبنية مثل (*Lactobacillus.helveticus* , *Lactococcus.lactis* . وقد وجد (Rodriguez-Jerez et al., 1994a) أن بكتيريا *Bacillus macerans* المعزولة من الجبن الإيطالي قادرة على إنتاج الهيستامين على درجات حرارة مختلفة 43°C , 37 , 30 , 22 , وكان أعلى إنتاج للهيستامين عند درجة حرارة 30°C حيث بلغ 428 ملغ هيستامين/100 مل من وسط النمو. كما أشار (Ibrahim and Amer, 2010) إلى أن عائلة *Enterobacteriaceae* غالباً هي المسؤولة عن إنتاج الأمينات الحيوية في الجبن خاصة عندما تتجاوز أعدادها 10^6 خلية/غ جبن، حيث يزداد حث الأحماض الأمينية على إنتاج الأمينات الحيوية المقابلة لها عند توافر 10^9 - 2 خلية/غ جبن، لأن هذه البكتيريا تسرع من عملية تحلل البروتين وإنتاج كمية كبيرة من الأحماض الأمينية التي تعمل على زيادة تكوين الأمينات الحيوية (Begona et al., 1998) . في حين بيّن (Svec et al., 2009) أنه في الأجبان الهولندية غالباً ما تكون بكتيريا حمض اللبن غير متجانسة التخمر (*Lactobacillus* , *Leuconostoc*) والنازعة لكربوكسيل الحموض الأمينية هي المسؤولة عن تشكل كميات كبيرة من الأمينات في الجبن ، ولكن بالإضافة إلى نشاطها النازع للكربوكسيل فإن التركيز البدائي للحموض الأمينية الحرة في الجبن مهم جداً (Bernardeau et al., 2008) .

وقد قام (Roig-Sagues et al., 2002) بتحليل 15 نوع من الأجبان المصنعة من حليب خام للتحري عن وجود العصيات اللبنية فيها، فعزل منها سلالة نازعة لكربوكسيل الحمض الأميني التايروزين هي *Lactobacillus brevis* NZTD1 المنتجة للتيرامين، و5 سلالات نازعة لكربوكسيل الحمض

الأميني الهيستدين هي: (*Lb.buchneri* NZHD1 , *Lb.buchneri* NZHD2 , *Lb.buchneri*) , *Lb.buchneri* NZHD3 , *Lb.buchneri* NZHD4 , *Lb.buchneri* NZHD5) وجميعها موجبة الغرام , سالبة الكتالاز , ومتشابهة في أنماط تخمر السكر , على الرغم من أنها عزلت من أجبان مختلفة , كما أنها مشابهة جداً لسلالة *Lb.buchneri St2A* المشهورة المنتجة للهيستامين والتي عزلت في الولايات المتحدة الأمريكية من جبن سويسري غني بالهيستامين (Santos et al., 2003), حيث وجد Santos وزملاؤه أنه باستخدام تركيز منخفض من سلالة *Lb.buchneri St2A* النازعة لكاربوكسيل الحمض الأميني الهيستدين (0.2 خلية/مل حليب) وبظروف من التحلل البروتيني السريع تم جمع الهيستامين بسرعة بعد 3 أشهر من الإنضاج وبنسبة 410 ملغ/كغ جبن, بينما باستخدام تركيز (5 خلية/مل حليب) ارتفع تشكل الهيستامين إلى 1060 ملغ/كغ جبن. كما بين (Ibrahim and Amer, 2010) عن طريق تحليل عينات من جبن الغودا أن وجود 10^7 خلية من العصيات اللبنية *Lactobacillus* النازعة لكاربوكسيل الحمض الأميني في 1 غ جبن لا يشكل خطراً حقيقياً على الصحة . أما الجبن المحتوي على مستويات عالية من الحموض الأمينية الحرة فإن مثل هذه الكثافة بالتأكيد عالية جداً, حتى أن كثافة 10^7 خلية/غ قد تنتج من وجود 3 عصيات لبنية فقط بكل 10 مل حليب , لذلك لابد أن تعطى عناية كبيرة لممارسة صناعة جيدة أثناء إنتاج مثل هذه الأجبان.

3-5- الحدود المسموح بها من الأمينات الحيوية في المواد الغذائية:

Permissible Limits of Biogenic Amines in Food

تعتبر معايير الجودة فيما يتعلق بوجود الهيستامين والأمينات الحيوية الأخرى في الأغذية ضرورية من وجهة النظر السمية وأيضاً من الوجهة التكنولوجية , ويمكن أن يؤثر وجود بعض المواد على كمية الجرعة السامة من الأمين في الأغذية (Chia, 2007 ; Christensen et al., 1999). فقد أوضح (Nout, 1994) أنه يجب أن يكون مجموع كل من الهيستامين, β -فينيل إيثيل أمين, الكادافيرين التيرامين, والبيوتريسين 40 ملغ / كغ من الغذاء بشكل عام بغض النظر عن نوعه, في حين أشار (Spanjer and Van-Roode, 1991) إلى أنه يجب أن يكون مجموع كل من الهيستامين, الكادافيرين, والبيوتريسين في الأسماك 300 ملغ / كغ سمك, أما بالنسبة للجبن بين (Valsamaki et al., 2000) أنه يجب ألا يتعدى مجموع كل من الهيستامين, التيرامين, البيوتريسين والكادافيرين حد الأمان وهو 900 ملغ / كغ جبن . في حين قدر كل من (Silla-Santos, 1996; Smit et al., 2005) حد

السمية لمعظم الأمينات الحيوية بأنه أعلى من 100 ملغ / كغ من الغذاء المستهلك ، بالمقابل اقترح (Novella-Rodriguez *et al.*, 2003) أن تكون الجرعة السمية للتيرامين لوحده هي 6 ملغ / كغ جبن. وعلى أية حال ليست كل الأمينات الحيوية متساوية السمية، ويعتبر تناول أكثر من 40 ملغ أمينات حيوية في الوجبة الواحدة سام جداً (Nout, 1994).

أما منظمة الغذاء والدواء الدولية (FDA, 2001) فقد أوصت ألا يتجاوز الحد المسموح به من كل أمين من الأمينات الحيوية في الجبن 10 ملغ / 100 غ جبن . في حين كانت القيمة الموصى بها حسب التشريعات المصرية 20 ملغ / 100 غ جبن (EOS, 1996).

3-6- الأمينات الحيوية في الأجبان Biogenic Amines in Cheese:

يعد الجبن وجبة غذائية نموذجية ذات قيمة غذائية عالية ونكهة محببة (Fox, *et al.*, 2004a), وتنتج خواصه من خلال سلسلة متوازنة من التغيرات البيوكيميائية والبيولوجية تعطيه صفاتاً مرغوبة (Brown, 2002), فهو منتج متخمّر مصنوع من الحليب ، وأثناء التصنيع فإن الأنزيمات والبكتريا تكسبه قوامه ونكهته ، ويتحول دهن الحليب إلى حموض دهنية حرة، وكازئين الحليب إلى حموض أمينية حرة وأمينات (Raheem, 2006 ; Delgado *et al.*, 2002), ليكون بذلك وسيلة لنقل هذه الأمينات إلى جسم الإنسان خاصةً عندما يتناوله بشكل يومي (Silla-Santos, 1996 ; Vale and Gloria, 1997). وقد أجريت دراسات عديدة لتقدير الأمينات الحيوية في أنواع الجبن المختلفة ، حيث تبين أنه يوجد عدة أنواع من الأمينات الحيوية مثل الهيستامين، التيرامين، الكادافيرين، البيوتريسين، التريبتامين و β -فينيل إيثيل أمين في العديد من أنواع الجبن (Aliakbarlu *et al.*, 2009) .

ففي دراسة للتحري عن الأمينات الحيوية في الجبن البرازيلي، في (92) عينة لـ (10) أنواع من الجبن تم شراؤها من المحلات ، وتم نزع الأمينات منها بوجود حمض كلور الماء باستخدام حازم من دي إيثيل إيثر، من خلال كروماتوغرافيا التبادل الأيوني ، كانت نسبة تواجد السبيرمين هي الأعلى في العينات ، تلاه الهيستامين ، ثم β -فينيل إيثيل أمين ، السبيرميدين ، البيوتريسين ، الكادافيرين ، السيروتونين ، الأغماتين ، التيرامين ، وأخيراً التريبتامين ، حيث بلغت النسبة المئوية لتواجد كل أمين في العينات 93% ، 65% ، 62% ، 61% ، 60% ، 59% ، 44% ، 38% ، 37% ، 29% على التوالي. ووجد السبيرمين ، الأغماتين ، β -فينيل إيثيل أمين، السيروتونين، السبيرميدين، التريبتامين بمستويات منخفضة (>4.1)

ملغ/100غ). بينما وجد الهيستامين ، التيرامين ، الكادافيرين ، البيوتريسين بمستويات أعلى وصلت إلى 111 ، 21.25 ، 19.65 ، 17.37 ملغ/100غ على التوالي . وكان هناك تفاوت في نوع ومستوى الأمين في كل نوع من الأجبان المدروسة (Silvana et al., 1998).

كما قدرت كمية الأمينات الحيوية في الجبن المنضج المصنع تجارياً في مصر بدءاً من حليب خام، ولوحظ وجود التيرامين، β -فينيل إيتيل أمين، البيوتريسين، الكادافيرين في 70% ، 40% ، 60% ، 70% على التوالي من الأجبان المصنعة المتوفرة في مصر ونسبة 58.7 ، 11.4 ، 21.1 ، 41 ملغ/كغ على التوالي، بينما لم يلاحظ أي وجود لكل من الهيستامين، التيرامين، والسبيرميدين (El-Sayed, 1999).

كذلك قام (Gloria et al., 2002) بتقدير كمية الأمينات كمعيار لمراقبة الجودة في الجبن البرازيلي المفروم وذلك في (18) نوع من الأجبان بمعدل (5) عينات لكل نوع، وأظهرت الدراسة أن مستويات الأمين كانت عالية جداً، حيث اكتشف وجود الهيستامين والتيرامين بمستويات تؤدي إلى حدوث التسمم الغذائي وذلك في 50% و 44% من العينات لكل من الهيستامين والتيرامين على التوالي، وأشار إلى أنه إذا تجاوزت نسبة كل منهما 5 ملغ/100غ جبن فإن هذه العينات تصبح غير آمنة للاستهلاك.

3-7- تأثير عمليات التصنيع في مستوى الأمينات الحيوية في الجبن:

Effect of Processing Methods on The Biogenic Amines Levels in Cheese:

تتأثر كمية الأمينات الحيوية في الجبن بنوعية الجبن، وبالعمليات المطبقة خلال مراحل التصنيع ونذكر منها المعاملة الحرارية ، البادئ المضاف ، تركيز المحلول الملحي ، درجة حرارة التخزين ، طول فترة التخزين (الإنضاج).

3-7-1- تأثير المعاملة الحرارية (البسترة) Effect of Pasteurization:

تلعب معاملة الحليب حرارياً خلال عملية التصنيع دوراً هاماً في تكاثر الأحياء الدقيقة والتي تؤثر في الجبن ومدى صلاحيته للاستهلاك البشري (Yousef et al., 2001; Leuschner and Boughtflower, 2002) ، حيث تتطلب الحمولة الميكروبية المرتفعة في الحليب معاملة حرارياً قبل استخدامه في صناعة الجبن، للقضاء على الأحياء الدقيقة الممرضة والغالبية غير الممرضة بما فيها الخمائر والفطريات والتي تعتبر من الأحياء المسببة للفساد والمنتجة لطعم وقوام غير محبين (Ordonez et al., 1999; Blumenthal, 2002)، إضافة إلى ذلك فإن المعاملة الحرارية تضمن إعطاء المنتج

مقاييس جودة عالية، وزيادة في مردود الجبن (Hamed *et al.*, 1992 ; Grappin and Beuvier, 1997) , كما تعمل على تثبيط نشاط العديد من الأنزيمات الطبيعية المتواجدة في الحليب الخام (Forde and Fitzgerald, 2000 ; Wouters *et al.*, 2002).

وفي دراسات حول تأثير المعاملة الحرارية في المؤشرات الكيميائية للجبن لاحظ (Aly and Galal, 2002) ارتفاع نسبة الرطوبة في الجبن الدميائي المصنع من حليب معامل حرارياً مقارنةً مع مثيله المصنع من حليب خام , مع الأخذ بعين الاعتبار انخفاض رطوبة الجبن عند زيادة مدة التخزين في محلول ملحي سواءً كان مصنعاً من حليب خام أو معامل حرارياً. كما وجد (Boncazar *et al.*, 2001) أن نسبة الملح أعلى في الجبن المصنع من حليب خام سواءً كان طازجاً أو مخزناً، كذلك لوحظ ارتفاعاً في حموضة الجبن المصنع من حليب خام، وهذا ينسب إلى الحمولة الميكروبية المرتفعة للحليب الخام مقارنة مع الحليب المبستر (Ghosh *et al.*, 1999 ; Abd El-Salam *et al.*, 1992).

لم يلاحظ (Buffa *et al.*, 2001) أية اختلافات واضحة في بروتين الجبن خلال اليوم الأول من الإنضاج , في حين وجد زيادة في قيم النتروجين الذواب خلال الإنضاج وهذا دليل على حدوث تحلل بروتيني في الجبن. فقد ازداد النتروجين الذواب في جبن الحليب الخام سواءً كان طازجاً أو مخزناً مقارنةً مع جبن الحليب المبستر (Aly and Galal, 2002) , ويعود ذلك إلى التأثير القوي للمعاملة الحرارية في الفلورا الطبيعية المتواجدة في الحليب وفي أنزيمات الحليب والتي تؤثران في تحطم بروتين ودهن الجبن وتحللها (Elein *et al.*, 1999 ; Ghosh *et al.*, 1996) .

درس (Ordonez *et al.*, 1997) تأثير البسترة في محتوى الأمينات الحيوية في الجبن المصنع من حليب النعاج الخام أثناء الإنضاج , وأشار إلى أن عملية بسترة الحليب تؤدي إلى انخفاض محتوى الأمينات الحيوية في الجبن المنضج بغض النظر عن مزرعة البادئ المستخدمة وهذا يعود إلى فعل البسترة في القضاء على الميكروبات المسؤولة عن تدهم البروتين .

كما بين (Kebary *et al.*, 1998) تأثير بسترة الحليب والإنضاج السريع لأجبان Ras في تشكل الأمينات الحيوية وانطلاق الحموض الأمينية الحرة , حيث أدى تسخين الحليب إلى درجة أعلى من 75°C و 80°C إلى انخفاض تركيزهم. وأشارت النتائج إلى أن هناك ارتباط إيجابي بين الأمينات الحيوية والحموض الأمينية الحرة.

3-7-2- تأثير البادئ : Effect of Starter

يعد استخدام مزارع البادئ المحتوية على بكتريا حمض اللبن خطوة ضرورية في صناعة أغلب أنواع الجبن (Cogan and Hill, 1993) , حيث تختلف جودة الجبن المصنع وخواصه من حيث النكهة والقوام عند استخدام مزارع مختلطة من البادئ (Hayaloglu et al., 2005).

تنتمي الأحياء الدقيقة في سلالة البادئ الخليطة والمستخدمة في صناعة الجبن بشكل أساسي إلى جنسي *Lactococcus* و *Lactobacillus* (Hayaloglu et al., 2002; Sert et al., 2007). وإن أفضل أنواع *Lactococcus* المعروفة والمستخدمة في صناعة الجبن هي: *L.lactis* *ssp. lactis* أو *L.lactis ssp. Cremoris* (Karakus et al., 1992; Powell et al., 2002) . في حين تحتوي منتجات الألبان السورية التقليدية على البعض من بكتريا حمض اللبن الهامة والتي يمكن استخدامها كبادئات في تصنيع هذه المنتجات وهي : *S.thermophilus* , *L.lactis* , *Lb.casei* و *Lb. bulgaricus* (أبو يونس, 2007).

تهدف إضافة بكتريا حمض اللبن إلى الحليب المعد لصناعة الجبن إلى :

- مساعدة أنزيمات المنفحة على العمل حيث يحتاج نشاطها إلى الوسط الحمضي , الذي تؤمنه بكتريا البادئ عن طريق تحويل لاكتوز الحليب إلى حمض اللبن الذي يعتبر بدوره عاملاً مساعداً في الحموضة (Olson, 1990) التي تسبب انكماشاً في الخثرة , مما يسهل خروج المصل منها, وزيادة المادة الصلبة (Fox et al., 1993).
- تساهم بكتريا البادئ في منع نمو البكتريا غير المرغوبة والمسببة للفساد, حيث ترفع من حموضة الوسط وتجعله غير ملائم لنموها , كما أنها تنتج بعض المضادات البكتيرية (Abd El-Salam et al., 1993 ; Moller, 2005) .
- تساعد في تكوين النكهة عن طريق إنتاج مركبات الأست ألدهيد والداي أستيل (Fox et al., 2004b ; Binitis and Papademas, 2002) .

لاحظ كل من (Lane and Fox, 1996; Suzzi and Gardini, 2003) أن استخدام تراكيز مرتفعة من مزارع البادئ المستعملة في تصنيع الجبن المنضج , يؤدي إلى زيادة تشكل الأمينات الحيوية , حيث يؤثر استخدام البادئ بشكل واضح في التحلل البروتيني للجبن, وتلعب بكتريا البادئ دوراً أساسياً في تشكل الببتيدات ذات الوزن الجزيئي المنخفض والأحماض الأمينية الحرة التي تقوم بإعطاء النكهة البدائية في الجبن (Urbach, 1997; Law, 1999).

درس (Fernandez *et al.*, 1999) تأثير إضافة مستوى مزرعتين من البادئ (0.1% و 1%) في تشكل الأمينات الحيوية في جبن Manchego المصنع من حليب الأغنام الخام، فلاحظ أن تشكل التيرامين والهستامين كان أكبر في الجبن المصنع من مزرعة بادئ (1%) عن تلك المصنعة من مزرعة بادئ (0.1%) ربما يعود ذلك إلى قيم الـ pH المنخفضة في الجبن المضاف له التركيز الأعلى من البادئ.

وجد (Martuscelli, 2005) أن استخدام مزارع البادئ في الجبن يؤخر من إنتاج الأمينات الحيوية من قبل الميكروفلورا الموجودة في الجبن خلال الأسبوعين الأول والثاني من الإنضاج ، ولكنه حسب ما توصل له (Roig-Sagues and Eerola, 1997) لا يقلل من تشكل الأمينات الحيوية وبشكل خاص الهستامين والتيرامين حتى عندما تكون الأحياء الدقيقة المنتجة للأمينات موجودة بتركيز منخفض جداً. حيث يفيد استخدام بكتيريا البادئ في صناعة الجبن في تكديس الأحماض الأمينية الحرة (Lane and Fox, 1997).

3-7-3- تأثير تركيز المحلول الملحي Effect of Brine Concentration:

يلعب تركيز الملح ودرجة توزعه في الجبن دوراً أساسياً في التأثير في معايير مختلفة تتعلق بجودة الجبن (Fox *et al.*, 2000) ، كما يلعب دوراً أساسياً في إضفاء النكهة المميزة في الجبن وتعزيزها (Gunasekaran and Mehmet, 2003). ولإضافة الملح إلى الجبن أهمية كبيرة فهو:

- يساعد في حفظ الجبن والحد من فساده عن طريق منع نمو الأحياء الدقيقة الممرضة.
- يؤثر بشكل أساسي في تركيب الجبن ، النمو الميكروبي ، النشاط الأنزيمي ، والتغيرات البيوكيميائية التي تحدث خلال الإنضاج (Guinee, 2004).

وجد كل من (Khosrowshahi *et al.*, 2006; Melilli *et al.*, 2005) أن زيادة تركيز المحلول الملحي ترفع من محتوى الملح والبروتين في الجبن وتخفض من نسبة الحموضة والرطوبة بشكل واضح . كما يؤثر تركيز الملح في تحلل البروتين، فقد وجد (Madadlou *et al.*, 2007; Guinee and Fox, 1993) أنه كلما كان تركيز المحلول الملحي أكبر كان التحلل البروتيني أقل ، وذلك للدور المثبط الذي يقوم به الملح اتجاه البكتيريا في الجبن المنضج في المحاليل الملحية ذات التراكيز المرتفعة، حيث لوحظ أن تحطم الكازئين واللبتيديات الكبيرة يكون أقل وبالتالي يحدث تكون أقل لللبتيديات الصغرى

والأحماض الأمينية, كما أن زيادة تركيز المحلول الملحي (أكثر من 14 غ/100 غ), يقلل من مستوى التحلل البروتيني ويزيد من قبول هذا النوع من الجبن (Guven *et al.*, 2006). يؤثر محتوى الملح أيضاً في تشكل الأمينات الحيوية في الجبن (Kebary *et al.*, 1998), فالتركيز الملحي المرتفع يخفض من أعداد البكتيريا بشكل عام, وبكتيريا الكوليفورم بشكل خاص نتيجة لانخفاض النشاط المائي (Al-Otaibi and Wilbey, 2004), ولا يمكن تجاهل دور أفراد عائلة *Enterobacteriaceae* في إنتاج الأمينات الحيوية في الجبن, ولا دور بكتيريا حمض اللبن في تشكيل كميات كبيرة من الأمينات في الجبن عن طريق نزعها لكاربوكسيل الحموض الأمينية الموافقة, وخاصة الأنواع الميزوفيلية والغير متجانسة التخمر (Gardini *et al.*, 2001). فزيادة تركيز المحلول الملحي له تأثير سلبي في المحتوى الأميني حيث ينخفض إنتاج الأمينات الحيوية في الجبن عند تراكيز عالية من NaCl (Montgomery, 2001), وذلك لأن التركيز المرتفع من NaCl في الجبن يمنع التحلل البروتيني (Guinee and Fox, 1993), وبالتالي يقل إنتاج الأمينات الحيوية والتي يعتمد تشكلها على درجة التحلل البروتيني في الجبن (Sumner, 1990; Standara *et al.*, 2000).

3-7-4- تأثير حرارة التخزين :Effect of Storage Temperature

إن لدرجة حرارة تخزين الجبن تأثير كبير في زيادة إنتاج الأمينات الحيوية, حيث تزداد كميتها في الجبن بارتفاع درجة حرارة التخزين (Melilli *et al.*, 2004), وقد أشار (Brink *et al.*, 1990) إلى أن الأمينات الحيوية تتكون بسرعة عند تخزين الجبن في درجة حرارة عالية تتراوح ما بين 18°C - 21°C ؛ وذلك لأن درجة الحرارة المرتفعة تزيد من معدل التحلل البروتيني أثناء تخزين الجبن وبالتالي زيادة نشاط البكتيريا المحللة للبروتين (Schneller, 1997 ; Halasz *et al.*, 1994). كما توصل (Melilli *et al.*, 2006) لنتيجة مشابهة, حيث وجد أن درجة التحلل البروتيني ترتفع مع ارتفاع درجة حرارة التخزين, ويزداد هذا التأثير مع ازدياد درجات الحرارة وزيادة زمن التخزين, وكلما كانت نسبة الملح في الجبن أقل ودرجة حرارة المحلول أكبر كان معدل التحلل البروتيني أعلى (Melilli *et al.*, 2003b).

وقد قام (Silla-Santos, 1996) بتقدير الأمينات الحيوية في جبن التشيدر الطازج المحفوظ في الدرجة 4°C , وجبن التشيدر المخزن لمدة أسبوع في درجة الحرارة العادية, فلاحظ أن تركيز الأمينات الحيوية كان أكثر بأربع مرات في الجبن المخزن في درجة الحرارة العادية مقارنةً مع الجبن الطازج, وتعود هذه

الزيادة الكبيرة في الأمينات لوجود نشاطات نازعة لكربوكسيل الحموض الأمينية من قبل بكتريا *Escherichia coli* و *Enterococcus faecalis* في جبن التشيدر المخزن في الدرجة العادية. كما وجد (Aliakbarlu et al., 2009) في دراسته على الجبن الإيراني الأبيض المملح والمحفوظ في تركيزين من المحلول الملحي (16,20%) وفي درجتي حرارة (10°C, 5) , أن تأثير تركيز المحلول الملحي على محتوى الأمينات الحيوية يعتمد على درجة حرارة التخزين (الإنضاج) , ففي درجات حرارة الإنضاج المنخفضة (5°C) يتناقص المحتوى الأميني مع زيادة تركيز المحلول الملحي (20%) , وعلى العكس في درجات حرارة الإنضاج المرتفعة (25°C) يتزايد المحتوى الأميني مع تناقص تركيز المحلول الملحي (16%). كذلك توصل (Bunkova et al., 2010) إلى نتيجة مماثلة في دراسته على جبن الإيدام المنضج والمخزن لمدة 98 يوم في درجتي حرارة (25°C , 5) حيث سجل أعلى محتوى للأمينات في عينات الجبن المخزنة في الدرجة 25°C , وأقل محتوى للأمينات في عينات الجبن المخزنة في الدرجة 5°C .

ومن أهم العوامل التي تؤثر في تشكل الأمينات الحيوية في الجبن هو وجود طلائع الحموض الأمينية الحرة والتي تسرع درجة حرارة التخزين المرتفعة، ودرجات الـ pH المنخفضة , وتركيز المحلول الملحي المنخفض من تراكمها ومن ثم دفعها لتكوين الأمينات الحيوية الموافقة (Vieites et al., 1997 ; Fox et al., 2000).

3-7-5- تأثير طول فترة التخزين (الإنضاج) :Effect of Storage Time (Ripening)

تعتبر عملية إنضاج الجبن من أهم عمليات التصنيع وتتضمن سلسلة معقدة من الأحداث المترابطة التي ينتج عنها تطور في خصائص النكهة والقوام التي يتمتع بها كل نوع من أنواع الجبن (Tarakci and Kucukoner, 2006 ; Alizadeh et al., 2006), وتترافق بتحطم تدريجي في الكربوهيدرات ومنها استقلاب اللاكتوز وتحوله إلى حمض لبن وغيره من منتجات التخمر ومن ثم تحوله إلى أحماض عضوية وCO₂ (El-Owni and Hamid, 2008), وتحلل البروتين إلى سلاسل ببتيدية قصيرة ومن ثم إلى أحماض أمينية حرة تتحول بدورها إلى أمينات ومركبات كبريتية (Novella-Rodriguez et al., 2002), وتحلل الدهن إلى أحماض دهنية تتفكك فيما بعد إلى ألدهيدات وكيثونات (Mcsweeney and Sousa, 2000; Perez, 2007).

يؤثر طول فترة التخزين بشكل كبير في التحلل البروتيني في الجبن (Irigoyen *et al.*, 2001; Warsama *et al.*, 2006) الذي يتمثل بتحطم الكازئين والبيتيدات ذات الوزن الجزيئي الكبير والأوليغوببتيدات إلى ببتيدات ذات وزن جزيئي صغير وأحماض أمينية حرة , بفعل البروتياز والبيتيداز المنتجان بواسطة بكتريا حمض اللبن (Mendia *et al.*, 2000 ; Martinez-Guesta *et al.*, 2001 ; Attaie, 2005) .

إن لطول فترة التخزين (الإنضاج) أثر معنوي في تشكل الأمينات الحيوية في الجبن (Galgano *et al.*, 1997; Azarnia, 2001; *al.* حيث يزداد محتوى الأمينات الحيوية في الجبن المنضج بزيادة فترة التخزين (الإنضاج) (Pinho *et al.*, 2001) , ففي دراسة أجراها (Komprda *et al.*, 2005) على جبن الإيدام المنضج وجد أن تركيز الأمينات الحيوية في جبن الإيدام المنضج والمخزن في الدرجة 8°C لمدة 57 أسبوع، أعلى من تركيزها في الجبن نفسه والمخزن في نفس الدرجة ولمدة 22 أسبوع، كذلك كانت أعلى من تركيزها في الجبن السويسري المنضج والمخزن على الدرجة 5°C ولمدة 20 أسبوع (Petridis and Steinhart, 1996b). كما لوحظ ارتفاع في قيم الأمينات الحيوية والتي قدرت في الجبن الأبيض التركي المنضج مع تقدم زمن التخزين خلال فترة الإنضاج والتي بلغت 90 يوماً (Oner *et al.*, 2006). فمع تقدم زمن الإنضاج تصبح البكتيريا الموجودة في الجبن والتي ليست من مزرعة البادئ هي السائدة وينسب إنتاج الأمينات الحيوية بشكل أساسي إلى نشاطها (Lanciotti, 2007).

وفي دراسة أجراها (Rea *et al.*, 2004) على جبن التشيدر المخزن لمدة 9 أشهر على الدرجة 8°C لاحظ ارتفاع تركيز التيرامين خلال مراحل الإنضاج من 36.2 ملغ/كغ جبن في الشهر الأول إلى 197 ملغ/كغ في الشهر التاسع. كما سجل (Ladero *et al.*, 2008) أعلى تركيز للهستامين في أجبان ذي فترة إنضاج طويلة (أكثر من 3 أشهر)، ومصنعة من حليب أغنام خام وصل فيها إلى (998.2 ملغ/كغ)، بالمقارنة مع أجبان ذي فترة إنضاج قصيرة (أقل من 3 أشهر)، ومصنعة أيضاً من حليب أغنام خام والتي بلغ تركيز الهستامين فيها (157.2 ملغ/كغ) , وربما يعود ذلك إلى التحلل البروتيني الذي يحدث خلال فترة الإنضاج الطويلة والذي يؤثر بشكل إيجابي في تشكل وتراكم الهستامين في هذه الأجبان.

أجرى (Cenci *et al.*, 1993) دراسة على الجبن المنضج المصنع في سلوفاكيا، فلاحظ انخفاض كمية البروتينات والدهن جزئياً أثناء الإنضاج بفعل النشاط الأنزيمي العالي جداً، وتراكم الحموض الأمينية الحرة , التي يتحول بعض منها إلى أمينات حيوية يمكن أن تهدد صحة المستهلك في حال وجدت بتراكيز

عالية (Greif and Greifova, 1998; Stratton *et al.*, 1991). وكلما كانت عملية تحليل البروتين عالية كان الحث الميكروبي على إنتاج أنزيمات نزع مجموعة الكربوكسيل أعلى , وكان نشاط هذه الأنزيمات أعلى نظراً لتوفر مادة التفاعل (الأحماض الأمينية الحرة) الناتجة من تحليل البروتين (Moatsou *et al.*, 1999 ; Tarakci, 2004). حيث تصل أنزيمات نزع مجموعة كربوكسيل الحمض الأميني لأقصى نشاطها بعد 40 يوم من الإنضاج ثم يبدأ التناقص في نشاط الأنزيم (Bunkova *et al.*, 2009).

4- مواد وطرائق البحث Materials and Methods

4-1- مواد البحث:

- حليب (60) كغ من حليب الأبقار مصدره مزرعة خرابو التابعة لكلية الزراعة.
- منفحة فطرية مستخلصة من فطر *Mucor miehe*.
- محلول قياسي للهيستامين $C_5H_9N_3$ نقاوة 97% (Sigma-Aldrich. Switzerland).

- محلول قياسي للتربتامين $C_{10}H_{12}N_2$ نقاوة 99% (Sigma-Aldrich. Switzerland).
- محلول قياسي β -فينيل إيثيل أمين $C_8H_{11}N$ نقاوة 95% (Sigma-Aldrich. Switzerland).
- محلول قياسي للكادافيرين $C_5H_{14}N_2$ نقاوة 95% (Sigma-Aldrich. Switzerland).
- محلول قياسي للترامين $C_8H_{11}NO$ نقاوة 99% (Sigma-Aldrich. Switzerland).
- دانزيل كلورايد $C_{12}H_{12}ClNO_2S$ (Dansyl Chloride) (Merck. Germany).
- حمض بيروكلوريك $HClO_4$.
- هيدروكسيد الصوديوم $NaOH$.
- هيدروكسيد الأمونيوم NH_4OH تركيز 25%.
- بيكربونات الصوديوم المشبعة $NaHCO_3$.
- كلور الصوديوم $NaCl$.
- كلور الكالسيوم $CaCl_2$.
- أستون CH_3COCH_3 .
- أسيتونتريل C_2H_3N .

4-2- طرائق البحث:

4-2-1- التحري عن مستوى الأמיئات الحيوية في أنواع الأجبان المحلية:

تم جمع (10) أنواع من الأجبان المحلية من محافظات سورية مختلفة (جبن قشقوان, جبن شلل, جبن موزاريللا, جبن ناعم (جبن أبيض/ قريش بنسبة 1/2), جبن مطبوخ, جبن عكاوي, جبن بقر أبيض, جبن غنم أبيض, جبن ماعز أبيض, وشنكليش), بمعدل 5 مكررات لكل نوع من أنواع الجبن.

4-2-2- تصنيع الجبن الأبيض:

تم اختيار الجبن الأبيض لدراسة تأثير عوامل التصنيع المختلفة بناءً على نتائج المرحلة الأولى المبينة لاحقاً والتي أظهرت احتواء الجبن الأبيض على أعلى مستوى للأميئات الحيوية وذلك وفقاً للخطوات التالية:

■ الطريقة الأولى: سخّن الحليب الخام إلى درجة حرارة 37°C , ثم أضيفت المنفحة (حسب تعليمات الشركة المصنعة) , وحضّن على درجة حرارة 38°C لمدة ساعة واحدة .

■ الطريقة الثانية: تمت بسترة الحليب الخام على درجة حرارة 63°C لمدة 30 دقيقة , ثم برّد إلى درجة حرارة 37°C , وأضيف له كلور الكالسيوم بنسبة 2.5 غ/لتر حليب , ثم أضيفت المنفحة, وحضّن على درجة حرارة 38°C لمدة ساعة واحدة .

بعد انتهاء عملية التحضين تم تقطيع الخثرة وفصل المصل , وكبس الخثرة الناتجة عن كل من الطريقتين السابقتين , وذلك لفصل أكبر كمية من المصل , ثم تقطيع الجبن وتقسيمه في كل طريقة إلى أربعة أقسام متساوية بالوزن :

1. القسم الأول: حفظ في محلول ملحي بتركيز 16% وعلى درجة حرارة 4°C .
2. القسم الثاني: حفظ في محلول ملحي بتركيز 16% وعلى درجة حرارة 25°C .
3. القسم الثالث: حفظ في محلول ملحي بتركيز 20% وعلى درجة حرارة 4°C .
4. القسم الرابع: حفظ في محلول ملحي بتركيز 20% وعلى درجة حرارة 25°C .

تم تكرار عملية التصنيع 3 مرات, وحفظت هذه الأجبان في محاليلها المذكورة ووفقاً لدرجات الحرارة المدرجة أعلاه لمدة شهرين (60 يوماً).

ويوضح الشكل (1) المعاملات التصنيعية المختلفة لعينات الجبن الأبيض.

• استخلاص الأمينات الحيوية من العينات:

أضيف (10مل) من حمض بيروكلوريك (M0.4) إلى (4غ) من عينة الجبن وجنس المزيج ، ثم ثقل بسرعة (3000 د/د) لمدة (10) دقائق . جمع الرائق الناتج عن التثقيب في دورق معياري سعة (25 مل) ، وأعيد استخلاص الأمينات من المتبقي مرة ثانية باستخدام كمية مساوية من حمض بيروكلوريك (M0.4)، ثم جمع الرائق في دورق معياري وأكمل الحجم بواسطة حمض بيروكلوريك (M0.4) إلى (25 مل).

• تكوين المشتق:

مزج (1مل) من مستخلص الأمين مع (200 ميكرو لتر) من محلول هيدروكسيد الصوديوم (N2) ، و(300 ميكرو لتر) من محلول بيكربونات الصوديوم المشبعة ، و(2 مل) من محلول دانزيل كلورايد مع الأستون (بتركيز 10ملغ/مل أستون) ، وحضن المزيج في درجة حرارة (40°C) لمدة (45) دقيقة. ثم أضيف (100 ميكرو لتر) من محلول هيدروكسيد الأمونيوم (25%) لإزالة المتبقي من دانزيل كلورايد. ترك الناتج لمدة (30) دقيقة على درجة حرارة الغرفة ثم أكمل حجم المستخلص بواسطة الأسيتونتريل إلى (5 مل) ، وثقل بسرعة (2500 د/د) لمدة (5) دقائق ، ثم رشح المحلول الرائق الناتج باستخدام مرشح (0.45 ميكرومتر).

• التقدير الكمي للأمينات الحيوية:

قُدرت الأمينات الحيوية باستخدام جهاز HPLC من نوع (Shimazu , Japan) مع كاشف UV-Vis وفق الشروط التالية:

- العمود ODS : (4.6*150 مم ، 5 ميكرومتر).
- الطور المتحرك مكون من ماء : أسيتونتريل بنسبة (67:33).
- معدل التدفق: 1.2 مل/د.
- حجم العينة المحقونة: 20 ميكرو لتر.
- طول الموجة المستخدم: 254 نانومتر.

وقد تمّ تقدير الأمينات الحيوية في عينات الأجبان كل 15 يوم بدءاً من اليوم الأول وحتى اليوم 60 من الحفظ .

4-2-5- التحليل الإحصائي :

استخدم النموذج الخطي العام في حساب المتوسطات الحسابية والانحرافات المعيارية ، ثم أُجري تحليل التباين ANOVA كتصميم قطاعات عشوائية كاملة باستخدام اختبار General Linear Model وتبع باختبار Tukey لتحديد الفروق المعنوية بين المتوسطات على مستوى ثقة 0.05 باستخدام برنامج MINITAB-14 .

4-3-3- تقييم طريقة التحليل:

لتوثيق مصداقية طريقة التحليل وفق ما ذكر سابقاً من شروط التحليل اتبعت الخطوات التالية:

- حساب الخطية (Linearity) ورسم المنحني المعياري وحساب معادلته الرياضية.
- حساب الكمية المسترجعة (Recovery).
- حساب حد الكشف (LOD) وحد التقدير الكمي (LOQ).

4-3-1- حساب الخطية Linearity :

بالاعتماد على طريقة (Vinci and Antonelli, 2002) تم تحضير سلسلة عيارية بتركيز (20 ، 40 ، 80 ، 200 ppm) من الأمينات الحيوية القياسية (التربتامين، β -فينيل إيثيل أمين، الكادافيرين، والتيرامين)، وبتراكيز (50 ، 100 ، 200 ، 500 ppm) من الهيستامين (وذلك بتحضير مزيج من المحاليل الأمينية الأولى بتركيز 200 ppm بدءاً من محلول عياري 1000 ppm لكل من الأمينات الأربعة وبتراكيز 500 ppm للهيستامين بدءاً من محلول عياري 2500 ppm)، ثم أخذ 1مل، 2مل، 4مل من المزيج السابق، وأكمل الحجم في كل منها إلى 10 مل بواسطة حمض بيروكلوريك ، وحقنت في جهاز الـ HPLC بواقع ثلاث مكررات لكل حقنة ، وأنشئ منحني المعايرة لكل منها ، وحسبت الخطية من برنامج Excel .

4-3-2- حساب الكمية المسترجعة Recovery :

أجري اختبار الكمية المسترجعة بالنسبة لعينات الجبن وفق الطريقة المتبعة من قبل (Komprda *et al.*, 2005) حيث حضّر مزيج من المحاليل القياسية للأمينات الحيوية بتركيز 200 ppm لكل من التريبتامين، β -فينيل إيثيل أمين، الكادافيرين، والتيرامين و 500 ppm للهيستامين، أضيف 1مل من المزيج السابق إلى 4 غ جبن فكان تركيز الهيستامين (0.125 ملغ/غ جبن) وتركيز كل أمين من

الأمينات الأخرى (0.05 ملغ/غ جبن), ثم تم حساب النسبة المئوية للكمية المسترجعة وفق العلاقة التالية :

$$\% \text{ Recovery} = [(BA_2 - BA_1) / BA_3] * 100$$

حيث : BA_1 : تركيز الأمين في العينة قبل إضافة المزيج القياسي للأمينات (ملغ/غ) .

BA_2 : تركيز الأمين في العينة بعد إضافة المزيج القياسي للأمينات (ملغ/غ) .

BA_3 : تركيز الأمين المضاف (ملغ/غ) .

3-3-4- حساب حد الكشف (LOD) وحد التقدير الكمي (LOQ):

بالاعتماد على الطريقة التي اتبعها (Gosetti *et al.*, 2007) تم تعيين حد الكشف Limit of Detection (LOD), وذلك بحقن 10 عينات شاهد في جهاز HPLC وحساب تركيز الأمينات الحيوية فيها، بتطبيق العلاقة التالية:

$$LOD = 3 * SD \quad \text{حيث : } SD: \text{ الانحراف المعياري لتراكيز الشاهد.}$$

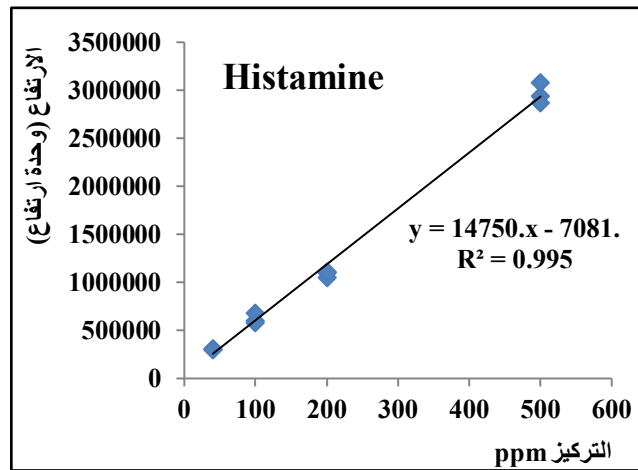
وكذلك تم تعيين حد التقدير الكمي Limit of Quantification (LOQ) بتطبيق العلاقة التالية : $LOQ = 10 * SD$.

5- النتائج والمناقشة Results and Discussion

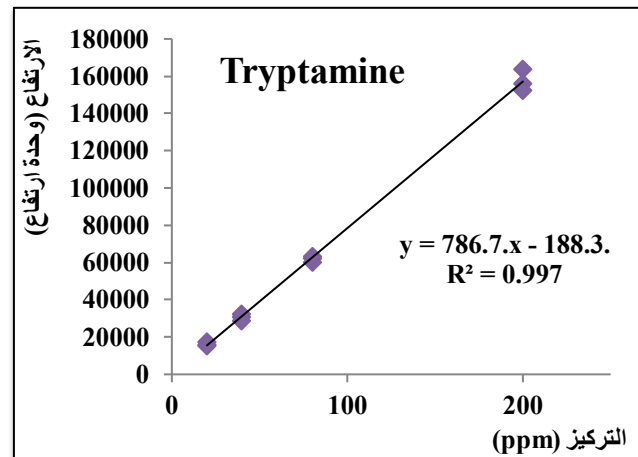
1-5- تقييم طريقة التحليل:

1-1-5 الخطية Linearity :

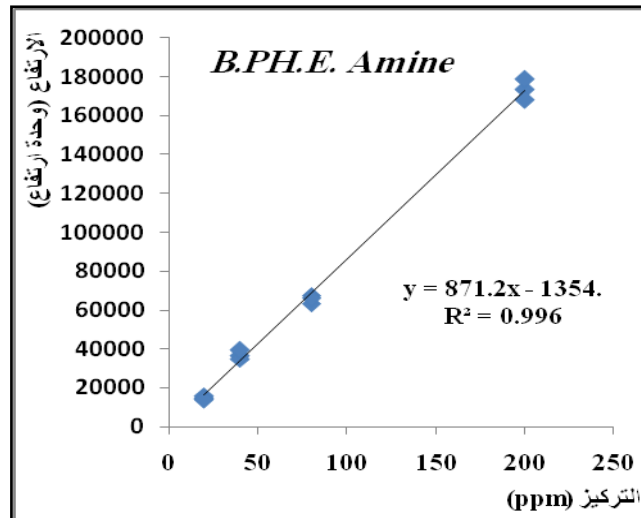
أنشئ منحني المعايرة لكل أمين من الأمينات القياسية المستخدمة فكانت قيمة معامل التحديد $R^2 =$, 0.995 , 0.997 , 0.996 , 0.998 , 0.998 , لكل من الهيستامين ، التربتامين ، β -فينيل إيثيل أمين ، الكادافيرين ، التيرامين على التوالي ، وهي مقاربة مع قيم معامل التحديد التي توصل إليها (Gosetti *et al.*, 2007) عند تقديره للأمينات الحيوية في الجبن الإيطالي باستخدام HPLC حيث كانت قيم $R^2 =$ 0.996 , 0.999 , 0.998 , 0.998 , 0.997 , لكل من الهيستامين ، التربتامين ، β -فينيل إيثيل أمين ، الكادافيرين ، التيرامين على التوالي . وتبين الأشكال (2) ، (3) ، (4) ، (5) ، (6) منحنيات المعايرة لكل منها ، ويشير ذلك إلى دقة الطريقة المستخدمة في تقدير هذه الأمينات .



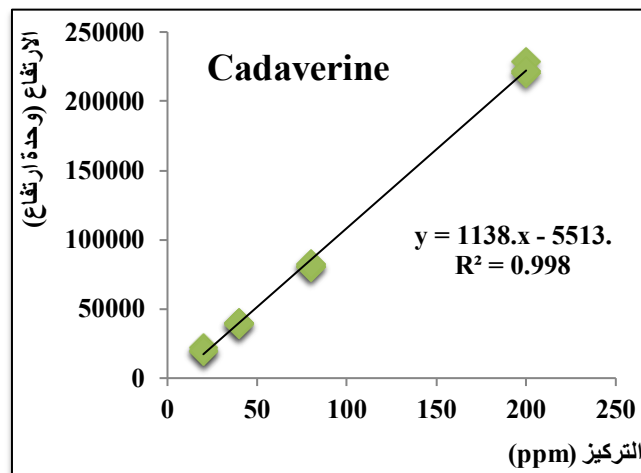
الشكل (2) منحنى المعايرة للهيستامين .



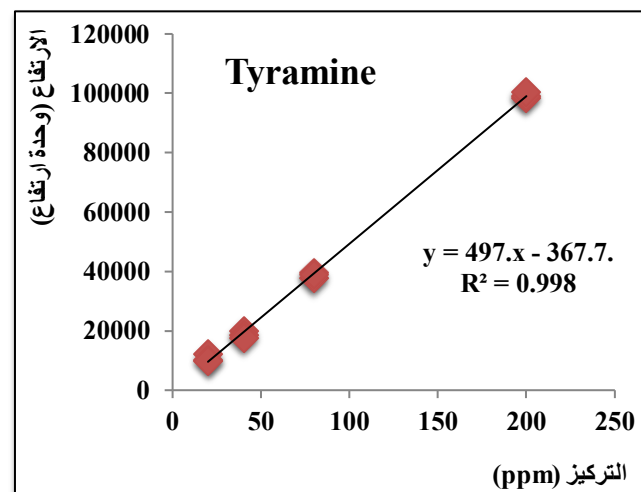
الشكل (3) منحنى المعايرة للتربتامين .



الشكل (4) منحنى المعايرة لـ β -فينيل إيثيل أمين .



الشكل (5) منحنى المعايرة للكادافيرين .



الشكل (6) منحنى المعايرة للتيرامين .

5-1-2- الكمية المسترجعة Recovery :

تم حساب النسبة المئوية للكمية المسترجعة من الأמיئات المدروسة حسب القانون المذكور سابقاً ويوضح الجدول (3) القيم المتحصل عليها.

الجدول (3) النسبة المئوية للكمية المسترجعة من الأميئات الحيوية .

نوع الأمين	% الكمية المسترجعة X±SD
الهستامين	93±1.28
التريتامين	74±0.90
β- فينيل إيتيل أمين	78±0.80
الكادافيرين	94±1.32
التيرامين	84±0.95

n=3 X =Mean SD=Standard Deviation

نلاحظ من الجدول (3) أن أعلى نسبة استرجاع حققتها هذه الطريقة كانت للكادافيرين 94% ، تلاه الهستامين 93% ، ثم التيرامين 84% ، في حين كانت أخفض نسبة استرجاع عند β- فينيل إيتيل أمين 78% ، والتريتامين 74% . وقد كانت هذه النتائج مشابهة تقريباً لما توصل إليه (Innocente et al., 2007) حيث كانت نسبة استرجاع كلاً من الكادافيرين ، الهستامين ، التيرامين ، β- فينيل إيتيل أمين، و التريتامين ، كما يلي 95% ، 93.7% ، 84% ، 78.4% ، 75.1% ، على التوالي .

5-1-3- حد الكشف (LOD) وحد التقدير الكمي (LOQ):

يوضح الجدول (4) قيم كل من حد الكشف وحد التقدير الكمي لكل من الهستامين ، التريتامين ، β- فينيل إيتيل أمين ، الكادافيرين ، و التيرامين. حيث تراوحت قيم حد الكشف (LOD) للأميئات المدروسة ما بين 0.06 و 0.29 ملغ/ل ، في حين كانت قيم حد التقدير الكمي (LOQ) ما بين 0.20 و 0.95 ملغ/ل . وقد كانت هذه النتائج قريبة من النتائج التي توصل إليها (Calbiani et al., 2005) حيث وجد أن حدود الكشف لكل من الأميئات المذكورة تقع بين 0.05 - 0.27 ملغ/ل ، وحدود التقدير الكمي لها تقع بين 0.17 - 0.9 ملغ/ل.

الجدول (4) حدود الكشف وحدود التقدير الكمية للأמיينات الحيوية .

نوع الأمين	حد الكشف LOD (ملغ/ل) X±SD	حد التقدير الكمي LOQ (ملغ/ل) X±SD
الهستامين	0.26±0.03	0.85±0.09
التربتامين	0.29±0.02	0.95±0.06
β- فينيل إيتيل أمين	0.06±0.01	0.20±0.03
الكادافيرين	0.17±0.01	0.55±0.04
التيرامين	0.23±0.02	0.76±0.05

n=10 X =Mean SD=Standard Deviation

5-2- محتوى عينات الأجبان المدروسة من الأميينات الحيوية:

يوضح الجدول (5) محتوى العينات المدروسة من الهستامين ، التربتامين ، β- فينيل إيتيل أمين ، الكادافيرين والتيرامين . حيث نلاحظ أن 90% من عينات الأجبان السابقة احتوت على كميات متفاوتة من الهستامين تراوحت بالمتوسط بين 18.2 و 52.1 ملغ/100 غ في عينات الجبن الناعم وجبن البقر الأبيض على التوالي، باستثناء الجبن المطبوخ الذي خلى تماماً منه لاحتمال تدهمه بالحرارة العالية المستخدمة (Stratton *et al.*, 1991) . أما التربتامين فقد لوحظ في 20% من العينات المدروسة وبلغ في جبن البقر الأبيض 37.3 ملغ/100 غ ، وفي الجبن المطبوخ 37.1 ملغ/100 غ. تراوح محتوى الـ β- فينيل إيتيل أمين بين 13 و 29.1 ملغ/100 غ في عينات جبن البقر الأبيض والجبن الناعم على التوالي ، كما وجد في الجبن المطبوخ بنسبة 23.1 ملغ/100 غ ، ووصلت نسبة وجوده في العينات المدروسة إلى 30% ، ليتشابه بذلك مع الكادافيرين الذي احتوت عليه أيضاً 30% من العينات، وبلغت نسبته 18.7 ، 31.4 ، 38 ملغ/100 غ في جبن الغنم الأبيض، الناعم ، البقر الأبيض ، على التوالي. وكان الأمين الأقل تواجداً في الأجبان المختبرة هو التيرامين ونسبة 10% فقط من العينات المختبرة، حيث احتوى عليه جبن البقر الأبيض بقيمة بلغت 17.7 ملغ/100 غ .

الجدول (5) متوسط محتوى الأمينات الحيوية لبعض أنواع الأجبان المحلية المدروسة.

Tyramine (mg/100g)			Cadaverine (mg/100g)			B.Ph.E.amine (mg/100g)			Tryptamine (mg/100g)			Histamine (mg/100g)			التركيز العينة
X±SD	Max	Min	X±SD	Max	Min	X±SD	Max	Min	X±SD	Max	Min	X±SD	Max	Min	
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	44.12±8.75	50	28.9	جبين قشقوان
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	41.1±11.8	47.8	20.1	جبين شلل (بقر)
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	49.3±9.27	61.4	36.4	جبين موزاريللا
ND	ND	ND	31.4±27.30	74.8	1.1	29.1±26.81	72.6	ND	ND	ND	ND	18.2± 5.30	21.9	9.4	جبين ناعم (بقر + قريش)
ND	ND	ND	ND	ND	ND	23.1±9.97	39.4	13.5	37.1±18.56	63	15.8	ND	ND	ND	جبين مطبوخ
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	21± 14.60	39.6	4.5	جبين عكاوي (بقر)
17.7±18.98	48.8	ND	38± 18.87	67.3	20	13± 7.47	18.4	ND	37.3±30.31	84.4	ND	52.1±13.47	59.2	28	جبين بقرأبيض
ND	ND	ND	18.7±10.67	25.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	30.7±19.45	62	9.5	جبين غنم أبيض
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	39.8±6.37	44.4	31.4	جبين ماعز أبيض
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	51.4±8.84	62	39.6	شنكلش

n=5 X = المتوسط SD=Standard Deviation Max = أكبر قيمة Min = أصغر قيمة ND : Not detected

وبمقارنة النتائج التي توصلنا إليها في هذه الدراسة مع نتائج الدراسات الأخرى التي أجريت على أجبان مشابهة نجد أن منها ما يتفق مع هذه الدراسات , ومنها ما يخالفه . فقد بين (Silvana *et al.*, 1998) أن نسبة كل من الهيستامين, التريتامين, β -فينيل إيثيل أمين, الكادافيرين, والتيرامين في الجبن الأبيض البرازيلي كانت كما يلي 89.3 , 4.1 , 3.9 , 19.56 , 17.37 ملغ/100 غ على التوالي. كذلك وجد (Ladero *et al.*, 2008) أن نسبة الهيستامين في كل من جبن البقر والماعز كانت 11.8 , 38.6 ملغ/100 غ على التوالي, أما الدراسة التي أجريت من قبل (Zuzana *et al.*, 2004) بينت أن نسبة كل من الهيستامين والكادافيرين في جبن الغنم كانت 24.3 , 12.1 ملغ/100 غ على التوالي. وبلغت نسبة الهيستامين في جبن الموزاريلا 52.7 ملغ/100 غ (Alba, 1996), في حين وجد (زين الدين, 1999) أن نسبة الهيستامين في جبن القشقوان 22 ملغ/100 غ , بينما خلا منه الجبن المطبوخ ليعتبر فقط على التريتامين و β -فينيل إيثيل أمين بنسبة 23.7 , 13.4 ملغ/100 غ على التوالي.

5-3- علاقة محتوى الأمينات في عينات الجبن بتركيبها الكيميائي:

تم تقدير النسبة المئوية لكل من الرطوبة , الحموضة , والملح في عينات الجبن المدروسة, والجدول (6) يبين متوسطات نتائج التحاليل الكيميائية لهذه العينات. حيث يظهر الجدول تبايناً كبيراً في قيم المؤشرات الكيميائية للأجبان المدروسة, ويعود ذلك لاختلاف طريقة تصنيع كل نوع منها, فقد تراوحت نسبة الرطوبة من 41 % في جبن القشقوان حتى 62.14 % في جبن الماعزالأبيض, ويعتمد ذلك على نوع الجبن . أما بالنسبة للحموضة فقد تفاوتت نسبها بين 0.24 % في جبن البقر الأبيض و 1.72 % في جبن القشقوان, ويعزى ذلك إلى الحمولة الميكروبية ونوع البادئ المستخدم في صناعة كل نوع من أنواع هذه الأجبان , وما لذلك من تأثير في معدل إنتاج الحموضة فيها . في حين كانت أخفض نسبة ملح بقيمة 2 % في الجبن المطبوخ , وأعلى نسبة وصلت إلى 11.36 % في الجبن العكاوي , ويعود هذا التفاوت في نسبة الملح إلى اختلاف طريقة التملح المتبعة وتركيز المحلول الملحي المستخدم في تصنيع كل نوع من أنواع هذه الأجبان.

بشكل عام تعد نتائج هذه الدراسة متقاربة مع النتائج التي نشرها (Fox, 1993) بالنسبة للأجبان, أما بالنسبة للشنكليش فقد تقاربت النتائج أيضاً مع ماتوصل له (Tamime and Robinson, 1993).

الجدول (6) متوسطات نتائج التحاليل الكيميائية لبعض أنواع الأجبان المحلية.

الاختبار العينة	% للرطوبة X±SD	% للحموضة X±SD	% للملح X±SD
جبين قشقوان	41±4.26	1.72±0.13	2.38±0.13
جبين شلل	54.92±3.93	0.5±0.12	9.44±0.8
جبين موزاريللا	52.6±5.41	0.36±0.09	4.38±1.22
جبين ناعم	45.34±0.59	0.34±0.11	9.54±0.81
جبين مطبوخ	53.82±0.29	1.62±0.11	2±0.58
جبين عكاوي	57.76±1.87	0.3±0.05	11.36±0.55
جبين بقر أبيض	59.94±1.27	0.24±0.07	2.86±1.32
جبين غنم أبيض	59.04±2.94	0.28±0.08	3.1±0.92
جبين ماعز أبيض	62.14±2.48	0.54±0.32	3.8±0.86
شنكليش	51.76±2.93	0.74±0.29	8.08±1.29

n=5 X =Mean SD=Standard Deviation

وبدراسة مدى الارتباط بين قيم المؤشرات الكيميائية والمحتوى من الأمينات الحيوية في عينات الأجبان المدروسة، تبين أن هناك ارتباط ضعيف بين نسب كل من الرطوبة ، الحموضة و الملح ، في عينات الجبن وبين نسب كل من الهيستامين ، التربتامين ، β - فينيل إيثيل أمين ، الكادافيرين و التيرامين، وربما يعود ذلك إلى التفاوت بين تركيب العينات وأنواع البادئات المستخدمة واختلاف طرائق تصنيع كل منها، واحتمال تداخل العوامل المختلفة في التأثير على محتوى الأمينات الحيوية فيها. ويوضح الجدول (7) قيم معامل الارتباط بين الأمينات الحيوية والمؤشرات الكيميائية للعينات المدروسة.

الجدول (7) قيم معامل الارتباط R بين نسب الأمينات الحيوية والمؤشرات الكيميائية لعينات الجبن المدروسة

Tyramine	Cadaverine	B.Ph.E.Amine	Tryptamine	Histamine	R
- 0.303	- 0.040	- 0.277	- 0.216	- 0.111	% الرطوبة
0.232	0.421	0.143	0.281	0.138	% الحموضة
- 0.283	- 0.075	- 0.029	- 0.489	- 0.196	% الملح

يتضح من الجدول (7) وجود ارتباط سلبي ضعيف بين نسبة الرطوبة ومحتوى الأمينات في حين كان الارتباط إيجابى ضعيف بين نسبة الحموضة ومحتوى الأمينات لأن الحموضة المرتفعة تسرع من تراكم الحموض الأمينية الحرة ومن ثم دفعها لتكوين الأمينات الحيوية الموافقة وهذا يتفق مع (Fox *et al.*, 2000). كما وجد علاقة عكسية وإن كانت ضعيفة ما بين نسبة الملح والمحتوى الأميني، حيث ينخفض إنتاج الأمينات الحيوية في الجبن عند تراكيز عالية من NaCl ، وذلك لأن التركيز المرتفع من NaCl في الجبن يمنع التحلل البروتيني وبالتالي يقلل من إنتاج الأمينات الحيوية في الجبن وهذا يتوافق مع (Montgomery, 2001).

4-5- تأثير المعاملات التصنيعية في مستوى الأمينات الحيوية في الجبن الأبيض المصنع مخبرياً:

تم دراسة تأثير كلاً من المعاملة الحرارية ، تركيز المحلول الملحي ، وحرارة الحفظ في محتوى الأمينات الحيوية في عينات الجبن الأبيض المصنعة مخبرياً ، وقدر تركيز الأمينات الحيوية فيها حيث تم الكشف عن وجود نوعين فقط من الأمينات الحيوية في عينات الجبن المصنعة مخبرياً سواء كانت ناتجة من حليب خام أو من حليب معاملة حرارياً وهي الهيستامين والتربتامين ، وذلك بواسطة جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) وفق ماسبق شرحه .

4-5-1- محتوى الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن الأبيض المصنعة مخبرياً :

يعد الهيستامين من أكثر الأمينات الحيوية أهمية وأخطرها من الناحية السمية في حال وجد بتراكيز عالية في الجبن، يليه التربتامين الذي يعد أقل خطورة من الناحية الصحية. والجدولين (8) ، (9) يوضحان متوسط نسبة كلاً من الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن المصنعة مخبرياً من حليب خام وحليب معاملة حرارياً.

الجدول (8) متوسط محتوى الهيستامين في عينات الجبن الأبيض المصنعة مخبرياً.

محتوى الهيستامين (ملغ/100غ) في الجبن الأبيض المصنع مخبرياً من								
الحليب المعامل حرارياً والمحفوظ في محلول ملحي				الحليب الخام والمحفوظ في محلول ملحي				المعاملة فترة التخزين
25°C , %20 X±SD	4°C , %20 X±SD	25°C , %16 X±SD	4°C , %16 X±SD	25°C , %20 X±SD	4°C , %20 X±SD	25°C , %16 X±SD	4°C , %16 X±SD	
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1 يوم
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15 يوم
10.56±0.044 ^c	7.22±0.095 ^e	11.06±0.061 ^c	9.06±0.082 ^d	14.25±0.055 ^a	11.34±0.060 ^c	15.19±0.046 ^b	13.75±0.076 ^a	30 يوم
10.59±0.047 ^e	8.97±0.02 ^e	11.47±0.072 ^f	9.69±0.074 ^e	19.28±0.026 ^d	16.66±0.040 ^c	20.38±0.061 ^b	17.94±0.036 ^a	45 يوم
13.94±0.064 ^g	10.81±0.085 ^f	15.41±0.091 ^e	12.53±0.586 ^d	24.16±0.053 ^c	21.78±0.026 ^a	25.34±0.046 ^b	22.56±0.056 ^a	60 يوم
26.92	21.24	32.72	26.72	46.02	42.46	52.56	47.82	تركيز الهيستامين ملغ/100غ مادة جافة في اليوم 60 من الحفظ

n=3 X =Mean SD=Standard Deviation ND : Not detected

تشير الأحرف الأبجدية المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى $P > 0.05$.

الجدول (9) متوسط محتوى التريبتامين في عينات الجبن الأبيض المصنعة مخبرياً.

محتوى التريبتامين (ملغ/100غ) في الجبن الأبيض المصنع مخبرياً من								
الحليب المعامل حرارياً والمحفوظ في محلول ملحي				الحليب الخام والمحفوظ في محلول ملحي				المعاملة فترة التخزين
25°C , %20 X±SD	4°C , %20 X±SD	25°C , %16 X±SD	4°C , %16 X±SD	25°C , %20 X±SD	4°C , %20 X±SD	25°C , %16 X±SD	4°C , %16 X±SD	
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1 يوم
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15 يوم
3.16±0.05 ^d	2.78±0.061 ^d	3.91±0.036 ^e	2.94±0.044 ^d	5.44±0.036 ^c	4.7±0.346 ^a	6.19±0.056 ^b	4.9±0.4 ^{ac}	30 يوم
4.5±0.2 ^e	3.69±0.074 ^e	5.13±0.047 ^f	4.00±0.064 ^e	8.28±0.02 ^d	6.66±0.046 ^c	9.88±0.02 ^b	7.31±0.036 ^a	45 يوم
5.56±0.066 ^e	4.72±0.036 ^e	6.34±0.055 ^f	5.03±0.044 ^e	12.44±0.036 ^d	9.38±0.026 ^c	14.06±0.044 ^b	10.75±0.036 ^a	60 يوم
10.74	9.27	13.46	10.72	23.7	18.29	29.16	22.79	تركيز التريبتامين ملغ/100غ مادة جافة في اليوم 60 من الحفظ

n=3

X =Mean

SD=Standard Deviation

ND : Not detected

تشير الأحرف الأبجدية المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى $P > 0.05$.

يلاحظ من الجدولين (8) و (9) أن تكون الهيستامين والتربتامين يبدأ بعد 30 يوم من التخزين في جميع عينات الجبن المصنعة مخبرياً وبنسبة 100% وبقيم متفاوتة أخذت بالارتفاع مع تقدم زمن الحفظ والذي بلغ 60 يوماً، حيث وجد أن أعلى نسبة لكل من الهيستامين والتربتامين كانت في عينات الجبن المصنعة من حليب خام والمحفوظة في محلول ملحي ذو تركيز منخفض (16%) وفي درجة حرارة تخزين مرتفعة (25°C) حيث بلغت 25.34 ، 14.06 ملغ/100 غ (52.56 ، 29.16 ملغ/100 غ مادة جافة) على التوالي، في حين كانت أقل نسبة من الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن المصنعة من حليب مبستر والمحفوظة في محلول ملحي مرتفع التركيز (20%) وفي درجة حرارة تخزين منخفضة (4°C) وبلغت 10.81 ، 4.72 ملغ/100 غ (21.24 ، 9.27 ملغ/100 غ مادة جافة) على التوالي وذلك بعد 60 يوماً من الحفظ، لتكون هذه النتائج قريبة من القيم التي توصل إليها (Schneller, 1997) في الأجبان الطرية حيث بلغت نسبة كل من الهيستامين والتربتامين 22.6 ، 12.8 ملغ/100 غ في الجبن المصنع من حليب خام، و 12.4 ، 6 ملغ/100 غ في الجبن المصنع من حليب مبستر.

5-4-1-1- تأثير البسترة في مستوى الأمينات الحيوية في عينات الجبن المصنعة مخبرياً :

يبين الجدولين (8) و (9) تأثير البسترة للحليب المستخدم في صناعة الجبن في نسب كل من الهيستامين والتربتامين في الجبن المصنع ، حيث لوحظ وجود فروق معنوية ذات دلالة إحصائية على مستوى $P > 0.05$ في نسب كل من الهيستامين والتربتامين بين نوعي الجبن بدءاً من اليوم 30 وحتى اليوم 60 من الحفظ ، وقد كانت نسب الهيستامين والتربتامين في جميع عينات الجبن المصنعة من حليب مبستر أقل وبشكل معنوي من نسبها في العينات المصنعة من حليب خام ، وقد تراوحت نسبة الانخفاض في مستوى كل من الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن المصنعة وفي جميع المعاملات التخزينية ما بين 39.2% و 50.4% للهيستامين ، وبين 49.7% و 55.3% للتربتامين كما يوضح الجدول (10) وذلك في نهاية فترة الحفظ والتي بلغت 60 يوماً.

الجدول (10) النسبة المئوية لانخفاض محتوى الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن الأبيض المصنعة بتأثير البسترة.

% لانخفاض محتوى الأمين بتأثير البسترة في عينات الجبن الأبيض المصنّع من حليب خام ومن حليب مبستر				
ظروف تخزين الجبن الأبيض المصنّع (تركيز المحلول الملحي - حرارة الحفظ)	خام , مبستر 4°C , 16%	خام , مبستر 25°C , 16%	خام , مبستر 4°C , 20%	خام , مبستر 25°C , 20%
% لانخفاض محتوى الهيستامين	44.5	39.2	50.4	42.3
% لانخفاض محتوى التريتامين	53.2	54.9	49.7	55.3

فعلى سبيل المثال انخفضت نسبة الهيستامين من 22.56 ملغ/100غ في عينات الجبن المصنعة من حليب خام والمحفوطة في محلول ملحي بتركيز 16% وفي درجة حرارة تخزين 4°C , إلى 12.53 ملغ/100غ في عينات الجبن المصنعة من حليب مبستر والمحفوطة في نفس الشروط وذلك بعد 60 يوماً من الحفظ الجدول (8) , وبنسبة تخفيض بلغت 44.5% , وقد كانت هذه النتائج قريبة من النتائج التي توصل إليها (Ladero *et al.*, 2008) في دراسته على أصناف تجارية من الأجبان البيضاء الإسبانية المصنعة من حليب الأبقار الخام والمبستر والمخزنة لفترة لا تتجاوز 3 أشهر, حيث بلغت نسبة الهيستامين 26.27 ملغ/100غ في جبن الحليب الخام وانخفضت إلى 11.36 ملغ/100غ في جبن الحليب المبستر.

في حين انخفضت نسبة التريتامين من 9.38 ملغ/100غ في عينات الجبن المصنعة من حليب خام والمحفوطة في محلول ملحي بتركيز 20% وفي درجة حرارة تخزين 4°C , إلى 4.72 ملغ/100غ في عينات الجبن المصنعة من حليب مبستر والمحفوطة في نفس الشروط وذلك بعد 60 يوماً من الحفظ الجدول (9) , وبنسبة تخفيض بلغت 49.7% , لتتشابه بذلك مع النتائج التي توصل إليها (Gennaro *et al.*, 2003) الذي درس تأثير عمليات تصنيع الجبن الأبيض الإيطالي (Toma) في مستوى الأمينات الحيوية, فكانت نسبة التريتامين 9.1 ملغ/100غ في جبن الحليب الخام وانخفضت إلى 3 ملغ/100غ في جبن الحليب المبستر.

يتجلى تأثير المعاملة الحرارية في خفض نسبة الأمينات الحيوية في الجبن في القضاء على الفلورا الطبيعية المتواجدة في الحليب الخام والذي قلل من إنتاجها لحمض اللبن وبالتالي خفض الحموضة في الجبن المعامل حرارياً (Ghosh *et al.*, 1999), وكذلك في الأنزيمات الموجودة بشكل طبيعي في الحليب أو تلك التي تفرزها البكتيريا والقادرة على نزع كربوكسيل الأحماض الأمينية الناتجة من تدهم

بروتين الحليب, مما ينعكس بدوره على محتوى الجبن المصنع من هذه الأمينات (Elein et al., 1999 ; Ghosh et al., 1996).

وبدراسة تأثير المحتوى من الرطوبة في مستوى الأمينات الحيوية في عينات الجبن الأبيض المصنعة , يظهر الجدول (11) تأثير المعاملة الحرارية للحليب المستخدم في صناعة الجبن في المحتوى المائي للجبن المصنع , فقد أدت المعاملة الحرارية إلى زيادة في المحتوى الرطوبي في جميع عينات الجبن المصنعة من حليب مبستر, لأنها تساهم في تشويه بروتينات المصل وتشكيل معقد من كابتا كازئين وبتا لاكتو غلوبولين (Buffa et al., 2001) , يعطي الخثرة مظهراً غير متماسك وغير منتظم, مما يؤدي إلى زيادة كمية الماء المتبقية في الخثرة , وتجمعه داخل الفراغات المتواجدة فيها (Forde and Fitzgerald, 2000 ; Wouters et al., 2002) , وهذا يتوافق مع ما وجدته (Aly and Galal, 2002) من أن نسبة الرطوبة في الجبن الدميائي المصنع من حليب مبستر كانت أعلى من مثيله المصنع من حليب خام.

لكن بدراسة مدى الارتباط بين النسبة المئوية للرطوبة وبين تركيز الأمينات الحيوية في عينات الجبن الأبيض المصنعة مع تقدم زمن الحفظ عن طريق حساب قيم معامل الارتباط (R) , نجد أن هناك ارتباط سلبي قوي جداً بين نسب كل من الرطوبة والأمينات في الجبن حيث نلاحظ ارتفاعاً ملحوظاً في تركيز كلاً من الهيستامين والتربتامين مع انخفاض تدريجي في نسبة الرطوبة في عينات الجبن الأبيض المصنعة بدءاً من اليوم الأول وحتى اليوم 60 من الحفظ , وهذا ما يفسر القيم السالبة لمعامل الارتباط (R) الذي تراوحت قيمه بين -0.946 و -1 لنسب الرطوبة/الهيستامين وبين -0.951 و -1 لنسب الرطوبة/التربتامين الجدول (11).

الجدول (11) مقارنة نسبة الرطوبة مع محتوى الأمينات في عينات الجبن الأبيض المصنع مخبرياً

النسبة المئوية للرطوبة ومحتوى الهستامين والتربتامين (ملغ/100غ) في الجبن الأبيض المصنع مخبرياً من									
الحليب المعامل حرارياً والمحفوظ في محلول ملحي				الحليب الخام والمحفوظ في محلول ملحي				المعاملة	
25°C , %20 X±SD	4°C , %20 X±SD	25°C , %16 X±SD	4°C , %16 X±SD	25°C , %20 X±SD	4°C , %20 X±SD	25°C , %16 X±SD	4°C , %16 X±SD	فترة التخزين	
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز His	1 يوم
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز Try	
49.5±0.71 ^c	51.2±0.6 ^e	54.12±0.21 ^d	55.61±0.7 ^a	49.13±0.44 ^c	50.51±0.34 ^{ce}	53.51±0.67 ^b	55.19±0.35 ^a	% للرطوبة	
10.56±0.044 ^c	7.22±0.095 ^e	11.06±0.061 ^c	9.06±0.082 ^d	14.25±0.055 ^a	11.34±0.060 ^c	15.19±0.046 ^b	13.75±0.076 ^a	تركيز His	30 يوم
3.16±0.05 ^d	2.78±0.061 ^d	3.91±0.036 ^e	2.94±0.044 ^d	5.44±0.036 ^c	4.7±0.346 ^a	6.19±0.056 ^b	4.9±0.4 ^{ac}	تركيز Try	
48.9±0.6 ^b	50.4±0.5 ^d	53.34±0.62 ^a	54.3±0.17 ^a	48.41±0.65 ^c	49.62±0.29 ^b	52.83±0.74 ^a	53.45±0.75 ^a	% للرطوبة	
13.94±0.064 ^g	10.81±0.085 ^f	15.41±0.091 ^e	12.53±0.586 ^d	24.16±0.053 ^c	21.78±0.026 ^a	25.34±0.046 ^b	22.56±0.056 ^a	تركيز His	60 يوم
5.56±0.066 ^e	4.72±0.036 ^e	6.34±0.055 ^f	5.03±0.044 ^e	12.44±0.036 ^d	9.38±0.026 ^c	14.06±0.044 ^b	10.75±0.036 ^a	تركيز Try	
48.22±0.32 ^b	49.1±0.91 ^e	52.9±0.45 ^d	53.1±0.5 ^d	47.5±0.64 ^b	48.71±0.52 ^{be}	51.79±0.73 ^a	52.82±0.97 ^{ad}	% للرطوبة	
26.92	21.24	32.72	26.72	46.02	42.46	52.56	47.82	تركيز His ملغ/100غ مادة جافة في اليوم 60 من الحفظ	
10.74	9.27	13.46	10.72	23.7	18.29	29.16	22.79	تركيز Try ملغ/100غ مادة جافة في اليوم 60 من الحفظ	
51.78	50.9	47.1	46.9	52.5	51.29	48.21	47.18	% للمادة الجافة في اليوم 60	
-0.948	-0.946	-0.996	-0.974	-0.985	-1	-0.973	-0.990	R:الهستامين/الرطوبة	
-0.993	-0.972	-1	-0.997	-1	-1	-0.999	-0.951	R:التربتامين/الرطوبة	

n=3 X =Mean

SD=Standard Deviation

ND : Not detected

تشير الأحرف الأبجدية المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى $P > 0.05$

5-4-1-2- تأثير تركيز المحلول الملحي:

كان لتركيز المحلول الملحي أيضاً دور إيجابي وتأثير معنوي واضح على مستوى $P > 0.05$ في نسب كل من الهستامين والتريبتامين في عينات الجبن سواء المصنعة من حليب خام أو من حليب معاملة حرارياً الجدول (12). حيث لوحظ وجود تناسب عكسي بين نسبة الأمينات وتركيز المحلول الملحي وهذا يتفق مع (Santos et al., 2003), فكلما زاد تركيز المحلول الملحي أدى ذلك إلى زيادة نسبة الملح في الجبن الجدول (12) لأن زيادة تركيز المحلول الملحي تزيد من معدل امتصاص الملح خلال عملية التملح (Kaya, 2002), لينعكس سلباً على نسبة الأمين في الجبن, فالتركيز الملحي المرتفع يقلل من التحلل البروتيني, مما يجعل تحطم الكازئين والبيتيدات الكبيرة لتكوين بيتيدات صغيرة وأحماض أمينية حرة أقل ليخفّض بذلك من إنتاج الأمينات الحيوية (Guinee and Fox, 1993). فقد ارتفع تركيز الملح في عينات الجبن المصنعة من حليب خام والمحفوطة في الدرجة 25°C وتركيز محلول ملحي 16% و 20% من 8.79% إلى 10.28% على التوالي وذلك في نهاية فترة الحفظ والتي بلغت 60 يوماً, في حين انخفضت نسبة الهستامين في هاتين العينتين من 25.34 ملغ/100غ إلى 24.16 ملغ/100غ الجدول (12), ونسبة انخفاض بلغت 4.7% الجدول (13), بينما انخفضت نسبة التريبتامين من 14.06 ملغ/100غ إلى 12.44 ملغ/100غ في نفس العينتين الجدول (12), ونسبة انخفاض بلغت 11.5% الجدول (13), حيث أثر الملح بشكل كبير في خفض نسبة الأمينات في عينات الجبن المصنعة, وقد تراوحت نسبة الانخفاض بين 3.5% و 13.7% في تركيز الهستامين, في حين تراوحت بين 6.2% و 12.7% في تركيز التريبتامين في الجبن المصنع سواء كان من حليب خام أو مبستر الجدول (13). وبمقارنة هذه النتائج مع دراسات أخرى نجد أنها قريبة مما توصل له (Aliakbarlu et al., 2009) في دراسته على الجبن الأبيض الإيراني المملح والمحفوظ في تركيزين من المحلول الملحي (16%, 20%) حيث انخفضت نسبة الهستامين من 19.24 ملغ/100غ في الجبن المحفوظ في التركيز 16% إلى 18.1 ملغ/100غ في الجبن المحفوظ في التركيز 20%, بينما انخفضت نسبة التريبتامين من 10.36 ملغ/100غ في الجبن المحفوظ في التركيز 16% إلى 8.81 ملغ/100غ في الجبن المحفوظ في التركيز 20%.

الجدول (12) مقارنة نسبة الملح مع محتوى الأمينات في عينات الجبن الأبيض المصنعة مخبرياً.

النسبة المئوية للملح ومحتوى الهستامين والتربتامين (ملغ/100غ) في الجبن الأبيض المصنع مخبرياً من									
الحليب المعامل حرارياً والمحفوظ في محلول ملحي				الحليب الخام والمحفوظ في محلول ملحي				المعاملة فترة التخزين	
25 °C , %20 X±SD	4 °C , %20 X±SD	25 °C , %16 X±SD	4 °C , %16 X±SD	25 °C , %20 X±SD	4 °C , %20 X±SD	25 °C , %16 X±SD	4 °C , %16 X±SD		
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز His	1 يوم
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز Try	
7.5±0.1 ^e	7.29±0.056 ^a	6.49±0.046 ^d	6.1±0.01 ^{cd}	8.3±0.173 ^b	7.7±0.07 ^b	7.13±0.046 ^a	6.69±0.085 ^{ad}	% للملح	
10.56±0.044 ^c	7.22±0.095 ^e	11.06±0.061 ^c	9.06±0.082 ^d	14.25±0.055 ^a	11.34±0.060 ^c	15.19±0.046 ^b	13.75±0.076 ^a	تركيز His	30 يوم
3.16±0.05 ^d	2.78±0.061 ^d	3.91±0.036 ^e	2.94±0.044 ^d	5.44±0.036 ^c	4.7±0.346 ^a	6.19±0.056 ^b	4.9±0.4 ^{ac}	تركيز Try	
8.71±0.026 ^e	8.12±0.01 ^b	7.51±0.098 ^a	6.68±0.044 ^d	9.17±0.056 ^c	8.51±0.052 ^b	7.94±0.036 ^b	7.49±0.036 ^a	% للملح	
13.94±0.064 ^g	10.81±0.085 ^f	15.41±0.091 ^e	12.53±0.586 ^d	24.16±0.053 ^c	21.78±0.026 ^a	25.34±0.046 ^b	22.56±0.056 ^a	تركيز His	60 يوم
5.56±0.066 ^e	4.72±0.036 ^e	6.34±0.055 ^f	5.03±0.044 ^e	12.44±0.036 ^d	9.38±0.026 ^c	14.06±0.044 ^b	10.75±0.036 ^a	تركيز Try	
9.49±0.056 ^e	9.3±0.03 ^e	8.14±0.036 ^a	7.2±0.156 ^d	10.28±0.01 ^c	9.84±0.056 ^{ce}	8.79±0.072 ^b	8.19±0.01 ^a	% للملح	

n=3 X =Mean SD=Standard Deviation ND : Not detected

تشير الأحرف الأبجدية المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى $0.05 > P$

الجدول (13) النسبة المئوية لانخفاض محتوى الهيستامين والتريتامين في عينات الجبن الأبيض بتأثير تركيز المحلول الملحي.

% لانخفاض محتوى الأمين بتأثير تركيز المحلول الملحي في عينات الجبن الأبيض المصنّع مخبرياً				
نوع الحليب المصنّع منه الجبن الأبيض		حليب خام		حليب مبستر
درجة حرارة حفظ الجبن الأبيض المصنّع	الدرجة 4°C	الدرجة 25°C	الدرجة 4°C	الدرجة 25°C
تركيزي المحلول الملحي المقارن بينهما والمحفوظ فيهما الجبن الأبيض المصنّع	%20 , %16	%20 , %16	%20 , %16	%20 , %16
% لانخفاض محتوى الهيستامين	3.5	4.7	13.7	9.5
% لانخفاض محتوى التريتامين	12.7	11.5	6.2	12.3
R : الهيستامين/الملح	-0.999	-1	-0.989	-0.998
R : التريتامين/الملح	-1	-0.988	-0.997	-1

وبحساب قيم معامل الارتباط (R) بين نسبة الملح وتركيز كل من الهيستامين والتريتامين نجد أن هناك ارتباط سلبي قوي جداً، حيث اقتربت جميع قيم R من -1 عند مقارنة تركيز كل من الهيستامين والتريتامين مع نسبة الملح في عينات الجبن الأبيض المحفوظة في تركيز ملحي منخفض (16%) والعينات المحفوظة في تركيز ملحي مرتفع (20%) في نفس الدرجة من الحرارة الجدول (13)، فعلى سبيل المثال ارتفعت نسبة الملح من 7.2% في عينات الجبن الأبيض المصنعة من حليب مبستر والمحفوظة في تركيز ملحي 16% وبدرجة حرارة 4°C إلى 9.3% في مثيلتها المحفوظة في تركيز ملحي 20% وبنفس الدرجة من الحرارة، لينخفض تركيز كل من الهيستامين والتريتامين من 12.53% للهيستامين و5.03% للتريتامين في العينات المحفوظة في التركيز 16% وبالدرجة 4°C إلى 10.81% للهيستامين و4.72% للتريتامين في العينات المحفوظة في التركيز 20% وبنفس الدرجة من الحرارة الجدول (12) وكذلك الأمر بالنسبة لبقية المعاملات التخزينية حيث التناسب العكسي بين نسبة الملح وتركيز الأمين وهذا ما يفسر القيم السالبة لـ R .

كما أظهرت دراسة تأثير تركيز المحلول الملحي في المحتوى المائي للجبن، وجود اختلافات معنوية ذات دلالة إحصائية على مستوى $P > 0.05$ في نسبة الرطوبة في عينات الجبن المحفوظ في محلولين

ملحيين مختلفي التركيز 16-20 % الجدول (11) , فقد انخفضت نسبة الرطوبة في جميع عينات الجبن المصنعة سواءً من حليب خام أو معامل حرارياً مع ارتفاع تركيز المحلول الملحي , وبمقارنة عينتين من الجبن الطازج والمصنعتين من حليب خام , والمحفوظتين في درجة حرارة 25°C, تبين انخفاض محتوى الرطوبة مع زيادة فترة الحفظ والتي بلغت 60 يوماً في كلتي العينتين لتصل إلى 51.79% في عينة الجبن المحفوظة في محلول ملحي 16% , و47.5% في عينة الجبن المحفوظة في محلول ملحي 20% , وقد كانت هذه النتائج مماثلة لما وجدته (Prasad and Alvarez, 1999) وذلك لانتقال جزيئات NaCl من المحلول الملحي إلى الجبن مما يؤدي إلى انتشار الماء إلى خارج قالب الجبن , ليقبل ذلك من محتوى الرطوبة فيه (Kaya, 2002).

كان لتركيز المحلول الملحي أيضاً تأثيراً معنوياً على مستوى $P > 0.05$ في نسبة الحموضة في عينات الجبن الأبيض المصنعة الجدول (14), فعند مقارنة عينتين من الجبن المصنع من حليب معامل حرارياً ومحفوظتين بدرجة حرارة 25°C ولكن في محلولين ملحيين مختلفي التركيز (16 - 20%) , لوحظ انخفاض نسبة الحموضة من 0.221% مقدرةً كحمض لبن عند استخدام محلول ملحي منخفض التركيز 16% إلى 0.112% عند استخدام محلول ملحي مرتفع التركيز 20% وذلك في اليوم 60 من الحفظ , وهذا يتفق مع ما وصل إليه (Madadlou et al., 2007) في دراسته على الجبن الأبيض الإيراني وربما يعود السبب في ذلك إلى التأثير الذي يحدثه التركيز الملحي المرتفع في زيادة الضغط الاسموزي للطور المائي للجبن, والذي يؤثر بدوره في جدر الخلايا البكتيرية مؤدياً إلى قتلها أو على الأقل تثبيط نموها وبالتالي انخفاض إنتاج حمض اللبن (Fox et al., 2000 ; Melilli et al., 2005).

بدراسة تأثير حموضة الجبن في تركيز الأمينات الحيوية في عينات الجبن الأبيض المصنعة يظهر الجدول (14) أن هناك تناسباً طردياً بين نسبة الحموضة وتركيز الأمينات الحيوية مع تقدم زمن الحفظ حيث يزداد تركيز كل من الهيستامين والتريبتامين مع ارتفاع نسبة الحموضة بدءاً من اليوم الأول حتى اليوم 60 من الحفظ , ويعود ذلك إلى ما يحدث خلال فترة التخزين من تحطم تدريجي في الكربوهيدرات واستقلاب اللاكتوز وتحوله إلى حمض لبن وغيره من منتجات التخمر ومن ثم تحوله إلى أحماض عضوية وCO₂ (El-Owni and Hamid, 2008) مؤدياً بذلك إلى ارتفاع الحموضة مع تقدم زمن الحفظ, وتحلل البروتين إلى سلاسل ببتيدية قصيرة ومن ثم إلى أحماض أمينية حرة تتحول بدورها إلى أمينات ومركبات كبريتية (Novella-Rodriguez et al., 2002), في حين تنخفض نسبة الحموضة

مع ارتفاع تركيز المحلول الملحي وتترافق بانخفاض تركيز الأمينات الحيوية وهذا يتوافق مع ما وجدته (Khosrowshahi *et al.*, 2006) من أن زيادة تركيز المحلول الملحي ترفع من محتوى الملح في الجبن وتخفض من نسبة الحموضة والرطوبة بشكل واضح . وهذا ينعكس على قيم معامل الارتباط R والتي تظهر ارتباطاً إيجابياً قوياً بين نسبة الحموضة وتركيز الأمينات في عينات الجبن الأبيض المصنعة سواءً من حليب خام أو من حليب مبستر حيث تتراوح قيمها بين 0.890 و 1 لنسب الحموضة/الهستامين وبين 0.927 و 1 لنسب الحموضة/التربتامين الجدول (14) .

الجدول (14) مقارنة نسبة الحموضة مع محتوى الأمينات في عينات الجبن الأبيض المصنعة مخبرياً.

النسبة المئوية للحموضة ومحتوى الهيستامين والتربتامين (ملغ/100غ) في الجبن الأبيض المصنع مخبرياً من									
الحليب المعامل حرارياً والمحفوظ في محلول ملحي				الحليب الخام والمحفوظ في محلول ملحي				المعاملة فترة التخزين	
25 °C , %20 X±SD	4 °C , %20 X±SD	25 °C , %16 X±SD	4 °C , %16 X±SD	25 °C , %20 X±SD	4 °C , %20 X±SD	25 °C , %16 X±SD	4 °C , %16 X±SD		
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز His	1 يوم
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز Try	
0.035±0.006 ^a	0.033±0.006 ^a	0.039±0.003 ^b	0.033±0.003 ^a	0.04±0.008 ^b	0.033±0.003 ^a	0.04±0.006 ^b	0.034±0.003 ^a	% للحموضة	
10.56±0.044 ^c	7.22±0.095 ^e	11.06±0.061 ^c	9.06±0.082 ^d	14.25±0.055 ^a	11.34±0.060 ^c	15.19±0.046 ^b	13.75±0.076 ^a	تركيز His	30 يوم
3.16±0.05 ^d	2.78±0.061 ^d	3.91±0.036 ^e	2.94±0.044 ^d	5.44±0.036 ^c	4.7±0.346 ^a	6.19±0.056 ^b	4.9±0.4 ^{ac}	تركيز Try	
0.094±0.004 ^d	0.035±0.004 ^c	0.13±0.01 ^b	0.04±0.01 ^a	0.139±0.008 ^b	0.05±0.003 ^a	0.16±0.02 ^b	0.051±0.002 ^a	% للحموضة	
13.94±0.064 ^g	10.81±0.085 ^f	15.41±0.091 ^e	12.53±0.586 ^d	24.16±0.053 ^c	21.78±0.026 ^a	25.34±0.046 ^b	22.56±0.056 ^a	تركيز His	60 يوم
5.56±0.066 ^e	4.72±0.036 ^e	6.34±0.055 ^f	5.03±0.044 ^e	12.44±0.036 ^d	9.38±0.026 ^c	14.06±0.044 ^b	10.75±0.036 ^a	تركيز Try	
0.112±0.001 ^e	0.041±0.010 ^d	0.221±0.002 ^b	0.046±0.005 ^d	0.211±0.007 ^c	0.07±0.011 ^a	0.265±0.009 ^b	0.073±0.005 ^a	% للحموضة	
1	0.890	0.970	0.979	1	0.997	0.997	0.980	R:الهستامين/الحموضة	
0.976	0.927	0.991	0.999	0.987	0.999	0.994	1	R:التربتامين/الحموضة	

n=3 X =Mean SD=Standard Deviation ND : Not detected

تشير الأحرف الأبجدية المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى $P > 0.05$.

5-4-1-3- تأثير درجة حرارة الحفظ :

أثرت درجة حرارة الحفظ وبفروق معنوية واضحة على مستوى $P > 0.05$ في نسبة كل من الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن سواء المصنعة من حليب خام أو معامل حرارياً , فكلما انخفضت درجة حرارة الحفظ كلما كان التحلل البروتيني أقل وبالتالي تركيز الأمين أقل (Pinho *et al.*, 2001) وذلك لأن درجة الحرارة المرتفعة تزيد من معدل التحلل البروتيني أثناء تخزين الجبن وبالتالي زيادة نشاط البكتريا المحللة للبروتين والنازعة لكربوكسيل الأحماض الأمينية (Schneller, 1997 ; Halasz *et al.*, 1994) وهذا واضح من الجدول (16), حيث كان تركيز الأمين في جميع العينات المحفوظة في الدرجة 25°C أعلى منه في العينات المحفوظة في الدرجة 4°C , فمثلاً عند مقارنة عينتين من الجبن الناتج من حليب خام والمحفوظتين بتركيز ملحي 20% ولكن بدرجتى حرارة مختلفتين (25°C , 4) وصلت نسبة الهيستامين والتربتامين في الجبن المحفوظ في الدرجة 25°C إلى 24.16 , 12.44 ملغ/100 غ على التوالي لتتخفض في العينتين المحفوظتين في الدرجة 4°C إلى 21.78 , 9.38 ملغ/100 غ وذلك بعد 60 يوماً من الحفظ , وبنسبة تخفيض بلغت 9.9% , 24.6% لكل من الهيستامين والتربتامين على التوالي الجدول (15) . حيث تراوحت نسبة الانخفاض في تركيز الهيستامين مع انخفاض درجة حرارة الحفظ ما بين 9.9 و 22.5% , في حين تراوحت نسبة الانخفاض في تركيز التربتامين بين 15.1 و 24.6% الجدول (15) . وقد توصل (Bunkova *et al.*, 2010) إلى نتيجة مماثلة في دراسته على جبن الإيدام المخزن في درجتى حرارة (25°C , 5) لمدة ثلاثة أشهر حيث انخفض تركيز كل من الهيستامين والتربتامين من 22.75 , 11.41 ملغ/100 غ على التوالي في عينات الجبن المخزنة في الدرجة 25°C , إلى 18.56 , 9.1 ملغ/100 غ في عينات الجبن المخزنة في الدرجة 5°C .

الجدول (15) % لانخفاض محتوى الهيستامين والتربتامين في عينات الجبن الأبيض بتأثير درجة حرارة الحفظ.

% لانخفاض محتوى الأمين بتأثير درجة حرارة الحفظ في عينات الجبن الأبيض المصنّع مخبرياً					
نوع الحليب المصنع منه الجبن الأبيض		حليب خام		حليب مبستر	
تركيز المحلول الملحي المحفوظ فيه الجبن الأبيض المصنع		16%	20%	16%	20%
درجتي حرارة حفظ الجبن الأبيض المصنع المقارن بينهما		25°C , 4°C	25°C , 4°C	25°C , 4°C	25°C , 4°C
% لانخفاض محتوى الهيستامين		11	9.9	18.7	22.5
% لانخفاض محتوى التربتامين		23.5	24.6	20.7	15.1

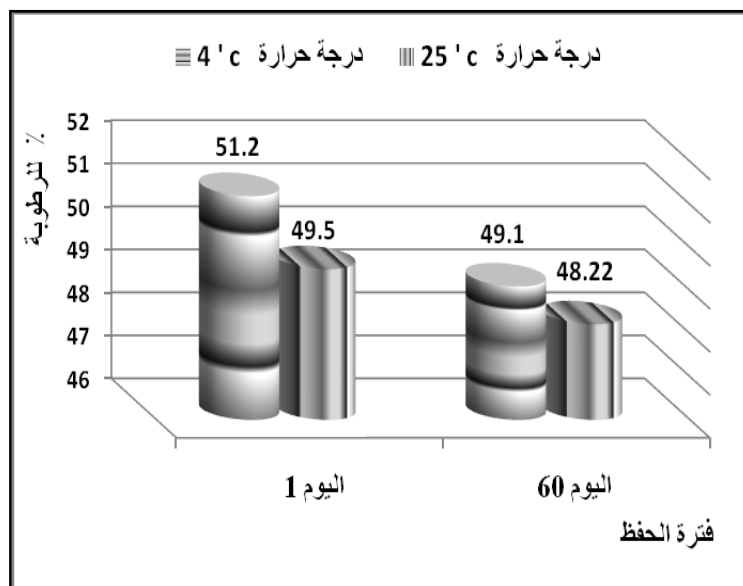
الجدول (16) تأثير درجة حرارة الحفظ في محتوى الأمينات الحيوية في عينات الجبن الأبيض المصنعة مخبرياً.

تأثير درجة حرارة الحفظ في محتوى الهيستامين والتربتامين (ملغ/100غ) في الجبن الأبيض المصنوع مخبرياً من									
الحليب المعامل حرارياً والمحفوظ في محلول ملحي				الحليب الخام والمحفوظ في محلول ملحي				المعاملة	
25 °C , %20 X±SD	4 °C , %20 X±SD	25 °C , %16 X±SD	4 °C , %16 X±SD	25 °C , %20 X±SD	4 °C , %20 X±SD	25 °C , %16 X±SD	4 °C , %16 X±SD	فترة التخزين	
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز His	1 يوم
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	تركيز Try	
10.56±0.044 ^c	7.22±0.095 ^e	11.06±0.061 ^c	9.06±0.082 ^d	14.25±0.055 ^a	11.34±0.060 ^c	15.19±0.046 ^b	13.75±0.076 ^a	تركيز His	30 يوم
3.16±0.05 ^d	2.78±0.061 ^d	3.91±0.036 ^e	2.94±0.044 ^d	5.44±0.036 ^c	4.7±0.346 ^a	6.19±0.056 ^b	4.9±0.4 ^{ac}	تركيز Try	
13.94±0.064 ^g	10.81±0.085 ^f	15.41±0.091 ^e	12.53±0.586 ^d	24.16±0.053 ^c	21.78±0.026 ^a	25.34±0.046 ^b	22.56±0.056 ^a	تركيز His	60 يوم
5.56±0.066 ^e	4.72±0.036 ^e	6.34±0.055 ^f	5.03±0.044 ^e	12.44±0.036 ^d	9.38±0.026 ^c	14.06±0.044 ^b	10.75±0.036 ^a	تركيز Try	

n=3 X =Mean SD=Standard Deviation ND : Not detected

تشير الأحرف الأبجدية المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى $P > 0.05$.

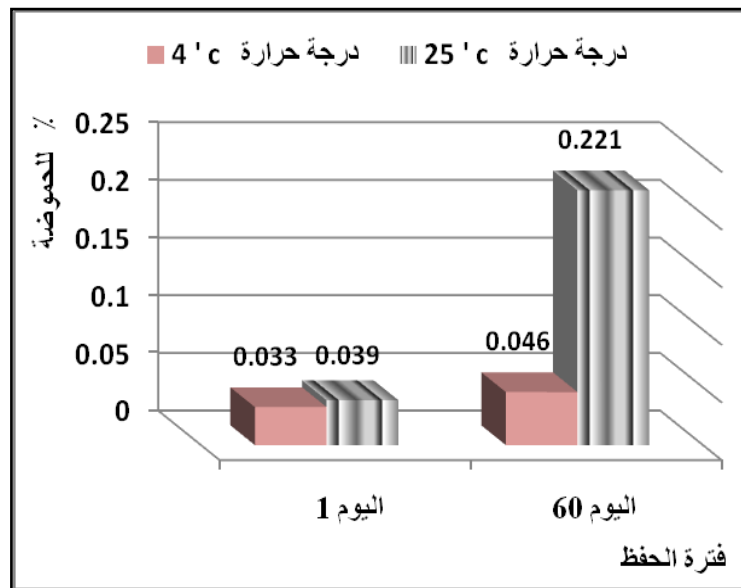
كان لدرجة حرارة الحفظ تأثيراً معنوياً في محتوى الرطوبة على مستوى $P > 0.05$, حيث لوحظ انخفاض نسبة الرطوبة مع ارتفاع درجة حرارة الحفظ حسب ما يظهره الشكل (7) , فعند تثبيت تركيز المحلول الملحي عند 20% واستخدام درجتي حرارة حفظ مختلفتين (25°C , 4) لعينتين من الجبن المعامل حرارياً, انخفضت نسبة الرطوبة تدريجياً من 51.2% في الجبن المحفوظ في الدرجة 4°C إلى 49.5% في الجبن المحفوظ في الدرجة 25°C في اليوم الأول , ومن 49.1% في الجبن المحفوظ في الدرجة 4°C إلى 48.22% في الجبن المحفوظ في الدرجة 25°C في اليوم 60 من الحفظ, وربما يعود ذلك إلى زيادة امتصاص الملح بارتفاع درجة حرارة الحفظ مؤدياً بذلك إلى انخفاض الرطوبة (Melilli et al., 2004).



الشكل (7) تأثير درجة حرارة الحفظ في محتوى الرطوبة لعينات الجبن الأبيض المصنعة من حليب معامل حرارياً والمحفوظة في محلول ملحي بتركيز 20%.

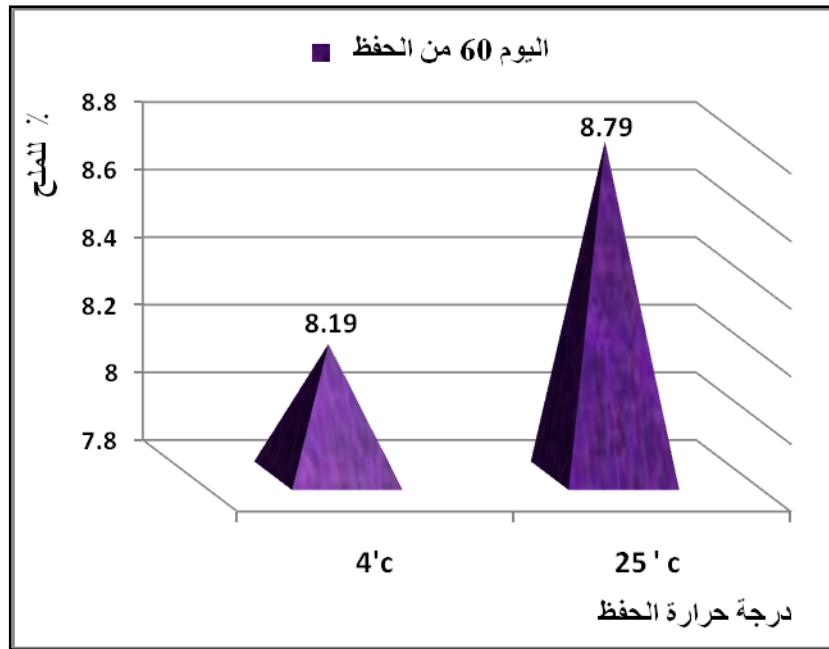
كذلك كان لحرارة الحفظ تأثيراً معنوياً ذو دلالة إحصائية على مستوى $P > 0.05$ في نسبة حموضة الجبن الناتج من حليب خام أو من حليب معامل حرارياً الشكل (8), ولبيان ذلك تمت مقارنة نسبة الحموضة في عينات الجبن الناتجة من حليب معامل حرارياً والمحفوظة في محلول ملحي بتركيز 16% ولكن بدرجتي حرارة حفظ مختلفتين (25°C , 4) , فوجد أن نسبة الحموضة ارتفعت وبشكل معنوي من 0.033% في الجبن المحفوظ بدرجة حرارة 4°C إلى 0.039% مقدرة كحمض لبن في مثيله المحفوظ بدرجة 25°C في اليوم الأول من الحفظ , ومن 0.046% إلى 0.221% مقدرة كحمض لبن في الجبن

المحفوظ بدرجة حرارة 4°C والمحفوظ بدرجة 25°C على التوالي في اليوم 60 من الحفظ , وذلك لأن درجة الحرارة المرتفعة تزيد من نشاط البكتيريا بما فيها بكتيريا حمض اللبن التي تساهم في رفع حموضة الجبن عن طريق إنتاجها لحمض اللبن إضافةً إلى نشاطها المحلل للبروتين والنازع لكربوكسيل الأحماض الأمينية والتي تسرع درجة حرارة التخزين المرتفعة, ونسب الحموضة المرتفعة وتركيز المحلول الملحي المنخفض من تراكُمها ومن ثم دفعها لتكوين الأمينات الحيوية الموافقة (Fox ; Vieites *et al.*, 1997 ; *et al.*, 2000).



الشكل (8) تأثير درجة حرارة الحفظ في نسبة الحموضة لعينات الجبن الأبيض المصنعة من حليب معامل حرارياً والمحفوظة في محلول ملحي بتركيز 16%.

أثرت درجة حرارة الحفظ أيضاً في نسبة الملح بشكل معنوي على مستوى $P > 0.05$ الشكل (9) , حيث كانت نسبة الملح في الجبن المصنع من حليب خام والمحفوظ في محلول ملحي تركيز 16% وبدرجة 4°C 8.19% , وارتفعت إلى 8.79% في الجبن المحفوظ في نفس التركيز من الملح لكن بدرجة 25°C في اليوم 60 من الحفظ , وهذه النتيجة مشابهة لما توصل إليه (Melilli *et al.*, 2006). وذلك لأن حفظ الجبن بدرجات حرارة منخفضة يقلل من امتصاص الملح (Melilli *et al.*, 2004).

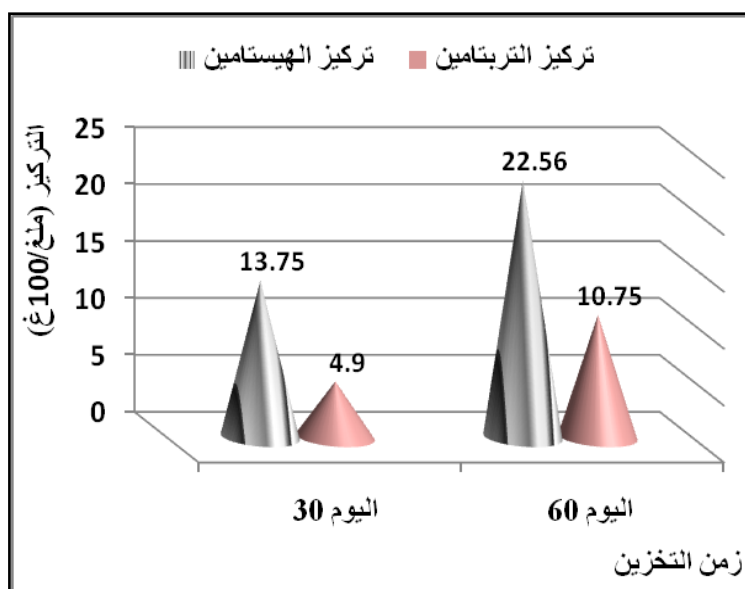


الشكل (9) تأثير درجة حرارة الحفظ في نسبة الملح لعينات الجبن الأبيض المصنعة من حليب خام والمحفوظة في محلول ملحي بتركيز 16% في اليوم 60 من الحفظ.

4-1-4-5- تأثير طول فترة التخزين:

يؤثر طول فترة التخزين بشكل كبير في التحلل البروتيني في الجبن (Warsama *et al.*, 2006) الذي يتمثل بتحطم الكازئين والبيتيدات ذات الوزن الجزيئي الكبير والأوليغوببتيدات إلى بيتيدات ذات وزن جزيئي صغير وأحماض أمينية حرة ، بفعل البروتياز والبيتيداز المنتجان بواسطة بكتريا حمض اللبن (Attaie, 2005 ; Martinez-Guesta *et al.*, 2001). حيث بدأ تكون كل من الهستامين والتربتامين في اليوم 30 من الحفظ ثم ازداد تدريجياً مع تقدم زمن الحفظ والذي بلغ 60 يوماً وذلك في جميع عينات الجبن سواء المصنعة من حليب خام أو من حليب معاملة حرارياً وفي جميع المعاملات التخزينية ، فقد ارتفع تركيز كل من الهستامين والتربتامين في جبن الحليب الخام والمحفوظ في تركيز ملحي 16% وبدرجة حرارة 4°C من 13.75 و 4.9 ملغ/100 غ جبن في اليوم 30 من الحفظ إلى 22.56 و 10.75 ملغ/100 غ جبن في اليوم 60 من الحفظ على التوالي الشكل (10) ، ليتشابه بذلك مع نتائج الدراسة التي أجراها (Oner *et al.*, 2006) على الجبن الأبيض التركي المصنع من حليب خام والمخزن في تركيز ملحي 16% وبدرجة حرارة 5°C لمدة 90 يوم حيث بلغت نسبة كل من الهستامين والتربتامين 12.9 و 3.92 ملغ/100 غ جبن في اليوم 30 من الحفظ وارتفعت إلى 22 و 9.6 ملغ/100 غ جبن في

اليوم 60 من الحفظ على التوالي , ويعود ذلك إلى الفعل الأنزيمي العالي جداً الذي يصل لأقصى نشاطه بعد 40 يوم من التخزين (Bunkova *et al.*, 2009), والذي يؤدي إلى تراكم الحموض الأمينية الحرة , التي يتحول بعض منها إلى أمينات حيوية يمكن أن تهدد صحة المستهلك في حال وجدت بتركيز عالية (Moatsou *et al.*, 1999 ; Tarakci, 2004) .



الشكل (10) تأثير زمن التخزين في المحتوى الأميني لعينات الجبن الأبيض المصنعة من حليب خام والمحفوظة في محلول ملحي بتركيز 16% وبدرجة حرارة 4°C .

6- الاستنتاجات Conclusions

- ❖ الأمين الحيوي الأكثر تواجداً في الأجبان المحلية هو الهيستامين حيث وجد في 90% من العينات المدروسة , باستثناء الجبن المطبوخ الذي خلا تماماً منه لاحتمال تدهمه بالحرارة العالية المستخدمة.
- ❖ تواجد التريبتامين في نوعين من الأجبان المحلية فقط , وهما الجبن المطبوخ وجبن البقر الأبيض أي في 20% من العينات المختبرة.
- ❖ وجد β -فينيل إيتيل أمين في 30% من العينات , في الجبن الناعم , المطبوخ , وجبن البقر الأبيض.
- ❖ وجد الكادافيرين أيضاً في 30% من العينات , في الجبن الناعم , جبن البقر الأبيض , جبن الغنم الأبيض.
- ❖ وجد التيرامين في 10% فقط في جبن البقر الأبيض.
- ❖ كانت قيم المؤشرات الكيميائية متفاوتة بين أنواع الأجبان المحلية المدروسة تبعاً لطريقة تصنيع كل منها, وكان هناك ارتباط ضعيف بين تركيز الأمينات الحيوية فيها وبين نسبة كل من الرطوبة, الحموضة, والملح .
- ❖ احتوى الجبن الأبيض المصنع على الهيستامين والتريبتامين فقط بعد تخزينه لمدة 60 يوماً.
- ❖ أثرت المعاملة الحرارية للحليب المستخدم في صناعة الجبن الأبيض في المؤشرات الكيميائية بشكل واضح , حيث ساهمت في انخفاض نسبة كل من الحموضة والملح بينما أدت إلى زيادة نسبة الرطوبة في الجبن المصنع وذلك بدءاً من اليوم الأول وحتى اليوم 60 من الحفظ , كذلك أثرت بشكل معنوي في مستوى الأمينات الحيوية في عينات الجبن الأبيض المصنعة , حيث أدت إلى انخفاض تركيزها في عينات الجبن.
- ❖ أدى استخدام محلول ملحي مرتفع التركيز 20% إلى انخفاض نسبة كلاً من الرطوبة والحموضة وارتفاع نسبة الملح في عينات الجبن الأبيض المصنعة سواء من حليب خام أو من حليب مبستر.
- ❖ أثر تركيز المحلول الملحي بشكل معنوي في نسبة الأمينات الحيوية حيث انخفض تركيزها في الجبن بزيادة تركيز المحلول الملحي.
- ❖ أدى تخزين الجبن الأبيض المصنع في درجة حرارة منخفضة 4°C إلى انخفاض نسبة كل من الحموضة والملح وارتفاع نسبة الرطوبة مقارنة مع مثيله المخزن في درجة حرارة مرتفعة 25°C .

- ❖ لدرجة حرارة التخزين تأثير كبير في المحتوى الأميني للجبن فكلما زادت درجة حرارة الحفظ زاد تركيز الأمينات الحيوية .
- ❖ أثر طول فترة التخزين في المؤشرات الكيميائية للجبن الأبيض المصنع حيث انخفض محتوى الرطوبة وارتفعت نسبة كلاً من الحموضة والملح مع تقدم زمن الحفظ وكان هذا الارتفاع أكثر وضوحاً في عينات الجبن المحفوظة في الدرجة 25°C مقارنة مع تلك المحفوظة في الدرجة 4°C .
- ❖ ازداد تركيز الأمينات الحيوية في عينات الجبن بشكل ملحوظ مع تقدم زمن الحفظ حيث بدأ تكونها في الجبن بعد شهر تقريباً من الحفظ وأخذ تركيزها بالارتفاع مع تقدم زمن الحفظ وكان ارتفاع التركيز على درجة حرارة 25°C أعلى منه على درجة حرارة 4°C .
- ❖ وجد أقل تركيز للأمينات الحيوية في عينات الجبن الأبيض المصنعة المخزنة على درجة حرارة منخفضة 4°C وبتركيز ملحي مرتفع 20% , في حين كان أعلى تركيز لها في عينات الجبن الأبيض المخزنة على درجة حرارة مرتفعة 25°C وبتركيز ملحي منخفض 16% .
- ❖ بلغت نسبة المخالفة في الأجبان المحلية المختبرة في الدراسة حسب منظمة الغذاء والدواء الدولية (FDA, 2001) 92% , حيث أوصت ألا يتجاوز تركيز كل أمين من الأمينات الحيوية 10 ملغ / 100 غ جبن, كذلك كانت نسبة المخالفة في عينات الجبن الأبيض المصنعة من حليب خام أو مبستر والمخزنة لمدة 60 يوماً 100% بالنسبة للهيستامين و 37.5% بالنسبة للتربتامين.

7- التوصيات Recommendations

- ❖ تؤكد هذه الدراسة عل ضرورة إجراء مسح شامل للأمينات الحيوية في جميع الأغذية السورية ليس فقط في الأجبان , نظراً لخطورة هذه المركبات وتأثيرها على صحة الإنسان .
- ❖ تبين الدراسة ضرورة إجراء بستره للحليب المستخدم في صناعة الجبن لما لذلك من أهمية في القضاء على الفلورا الطبيعية المتواجدة في الحليب الخام , وكذلك الأنزيمات الموجودة بشكل طبيعي في الحليب أو تلك التي تفرزها البكتريا والقادرة على نزع كربوكسيل الأحماض الأمينية الناتجة من تهدم بروتين الحليب , مما يقلل بدوره من محتوى الجبن المصنع من الأمينات الحيوية.
- ❖ إجراء دراسة للأحياء الدقيقة التي تساهم في رفع المحتوى الأميني في الجبن الأبيض.
- ❖ أفضل طريقة لتخزين الأجبان البيضاء هي في محلول ملحي بتركيز مرتفع 20% وبدرجة حرارة منخفضة 4°C .

REFERENCES المراجع - 8

- Abd El-Salam, M., Askar, A., Hamzawi, L., El Dien, H. and Farag, A., (1992). Compositional quality of Domiati cheese as affected by lactose content in milk. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 20:41-51.
- Abd El-Salam, M. H., Alichanidis, E. and Zerfiridis, G. K., (1993). Domiati and Feta type cheeses. P:301-335 in *cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 2. P. F. Fox, ed. 2nd ed. Chapman and Hall, London, UK.
- Abou-Donia, S. A., (1991). Manufacture of Egyptian Soft and Pickled Cheeses. In: Tamime, R. K. (Ed.). *Feta and Related Cheese*. London: Ellis Horwood Limited, PP:160-180.
- Alba, Z., (1996). Biogene aminen in voedingsmiddelen. Databank voor voedselovergevoeligheid.
- Aliakbarlu, J., Alizadeh, M., Razavi-Rohani, S. M., Vahabzade, Z., Saei, S. S., and Agh, N., (2009). Effects of Processing Factors on Biogenic Amines Production in Iranian White Brine Cheese. *Journal of Biological Sciences* 4(1):23-28.
- Alizadeh, M., Hamed, M., and Khosroshahi, A., (2006). Modeling of proteolysis and lipolysis in Iranian white brine cheese. *Food chemistry* 79(2):294-301.
- Al-Otaibi, M. M. and Wilbey, R. A., (2004). Effect of temperature and salt on the maturation of White -salted cheese. *International Journal of Dairy Technology*, Vol: 57(2).
- Aly, S. A. and Galal, E. A., (2002). Effect of milk pretreatment on the keeping quality of Domiati cheese. *Pakistan Journal of Nutrition*, 1 (3): 132-136.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). (1999). "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists-16th ed". Washington, D.C., A.O.A.C.
- Arena, M. E., Fiocco, D., Manca de Nadra, M. C., Pardo, I., and Spano, G., (2007). Characterization of a *Lactobacillus plantarum* strain able to produce tyramine and partial cloning of a putative tyrosine decarboxylase gene. *Curr. Microbiol.* 55:205-210.
- Attaie, R., (2005). Effects of aging on rheological and proteolytic properties of goat milk Jack cheese produced according to cow milk procedures. *Small Rumin. Res.* 57:19-29.

- Aymerich, T., Martin, B., Garriga, M., Vidal-Carou, M.C., Bover-Cid, S., and Hugas, M., (2006). Safety properties and molecular strain typing of lactic acid bacteria from slightly fermented sausages. *J. Appl. Microbiol.* 100:40-49.
- Azarnia, S., (1997). Evaluation of the physico-chemical characteristics of the curd during the ripening of Iranian brine cheese. *Int. Dairy J.*, 7:471-478.
- Begona, B. G., Juan, M. V. B. D., Tomas, G. V., and Jorge, B. V., (1998). Changes in biogenic amines and microbiological analysis in Albacore (*Thunnus alalunga*) muscle during frozen storage. *Journal of Food Protection*, 61(5): 608-615.
- Bernardeau, M., Vernoux, J.P., Henri-Dubernet, S., and Gueguen, M., (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126:278-285.
- Binitis, T. and Papademas, P., (2002). Microbiological quality of white brined cheeses: A review. *Int. J. Dairy Technol.* 55:113-120.
- Blumenthal, S., (2002). Encyclopedia of commercial food products. Food Technology and Consultant American Institutes of Chemists. Agriobis, India, PP:40-86.
- Boncazar, G., Walczycka, M., Gamarat, M., Janiec, J. and Szpak, B., (2001). The influence of some factor on texture of fresh cheese. *Food science and Technology*, Vol: 4(2).
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C., (2001). Effectiveness of a *Lactobacillus sakei* starter culture in the reduction of biogenic amine accumulation as a function of the raw material quality. *J. Food Prot.* 64:367-373.
- Bover-Cid, S., Miguelez-Arrizado, M.J., Becker, B., Holzapfel, W.H., and Vidal-Carou, M.C., (2008). Amino acid decarboxylation by *Lactobacillus curvatus* CTC273 affected by the pH and glucose availability. *Food Microbiol.* 25: 269-277.
- Brink, B. T., Damink, C., Joosten, H. M. L. J., and Huis, J. H. J., (1990). Determination of Biogenic Amines in Spoiled Cheese by Ion Chromatography with Integrated Pulsed Amperometric Detection, *Int. J. Food Micro*, 11, 73 .
- Brown, J. A., (2002). Cheese texture. M. Sc, Thesis, graduated faculty of North Carolina State University. (U.S.A).
- Buffa, M. N., Trujillo, A. J., Pavia, M. and Guamis, B., (2001). Changes in textural, Micro structural, and colour characteristic during ripening of

- cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats milk. *International Dairy Journal*, 11:927-934.
- Bunka, F., Bunkova, L., Klcovska, P., Mrkvicka, V., Dolezalova, M., and Kracmar, S., (2010). Formation of biogenic amines by gram-negative bacteria isolated from poultry skin. *Food Chem.* 121:203-206.
- Bunkova, L., Bunka, F., Hlobilova, M., Vanatkova, Z., Novakova, D., and Drab, V., (2009). Tyramine production of technological important strains of *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus*. *Eur. Food Res. Technol.* 229:533-538.
- Bunkova, L., Bunka, F., Mantlova, G., Cablova, A., Sedlacek, I., Svec, P., Pachlova, V., and Kracmar, S., (2010). The effect of ripening and storage conditions on the distribution of Biogenic amines in Edam-cheese. *Food Microbiology* 27:880-888.
- Burdychova, R., and Komprda, T., (2007). Biogenic amine-forming microbial communities in cheese. *FEMS Microbiol. Lett.* 276:149-155.
- Calbiani, F., Careri, M., Elviri, L., Mangia, A., Pistarà, L., and Zagnoni, I., (2005). Rapid assay for analyzing biogenic amines in cheese: matrix solid-phase dispersion followed by liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53 (10):3779-3783.
- Cenci, G. B. T., Bystricky, P., Clementi, F., and Di Antonio, E., (1993). Technology of a typical slovak ewe cheese: Evaluation of lactic and non-lactic microflora in Brindza production. *FEMS Microbiol. Rev.* 12:167.
- Chia, J. (2007). Amine intolerance and Food Safety. *American J. Clinical Nutrition.* 85: 1185-1196.
- Chiacchierini, E., Restuccia, D., and Vinci, G., (2005). Evaluation of two different extraction methods for chromatographic determination of bioactive amines in tomato products. *Talanta.* 69(3):548-555.
- Christensen, J. E., Dudley, E.G., Pederson, J.A., and Steele, J. L., (1999). Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 76: 217-246.
- Cogan, T. M. and Hill, C., (1993). Cheese starter cultures. Pages 193-255 in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Vol. 1. 2nd ed. Chapman and Hall, London, UK.
- Delgado, S., Delgado, T., and Mayo, B., (2002). Technological performance of several *Lactococcus* and *Enterococcus* strains of dairy origin in milk. *J. Food Prot.* 65:1590-1596.

- Dicakova, Z., Paulsen, P., Bystricky, P., Cabadaj, R., and Soko, J., (2001). Determination of some biogenic amines in cheese by ion exchange chromatography. In: Proc. HygienaAlimentorum XXII, Strbske Pleso, pp:147-149.
- Dicakova, Z., Dudrikova, E., and Cabadaj, R., (2004). Biogenic amines in ewe's milk lump cheese and bryndza. Bull. Vet. Inst. Pulawy 48:53-57.
- Doyle, M. E., Steinhart, C. E. and Cochran, B. A. (1993). Food Safety. Marcel Dekker, New York, PP: 254-259.
- El-Owni, A. O., and Hamid, O. I. A., (2008). Effect of Storage Period on Weight Loss, Chemical Composition, Microbiological and Sensory Characteristics of Sudanese White Cheese (Gibna Bayda) Pakistan Journal of Nutrition 7(1):75-80.
- El-Sayed, M. M., (1999). Biogenic amines in processed cheese available in Egypt. International Dairy Journal, 6(11,12):1079-1086.
- Elein, G., Abd ElGhany, I., Youssef, L. and Mohamed, L., (1999). Effect of milk pretreatment and storage condition on the properties and keeping quality of Ras cheese. Egypt J. Dairy Sci., 27:153-166.
- EOS, Egyptian Organization for Standardization and Quality Control, (1996). Detection of poisons and Control, Report. pp:1796.
- FDA, Food and Drug Administration, (2001). Food and drug administration hazards and controls. Guidance, 3rd ed. Center of Food Safety and Nutrition, Washington, U.S.A.
- Fernandez, E., Tomillo, J., and Nunez, M., (1999). Effect of added proteinases and level of starter culture on the formation of biogenic amines in raw milk Manchego cheese. International Journal of Food Microbiology, 52(3):189-196.
- Fernandez, M., del Rio, B., Linares, D., Martin, M. C., and Alvarez, M. A. (2006). Realtime polymerase chain reaction for quantitative detection of histamine-producing bacteria: Use in cheese production. Journal of Dairy Science, 89:3763-3769.
- Fernandez, M., Linares, D., del Rio, B., Ladero, V., and Alvarez, M. A. (2007). HPLC quantification of biogenic amines in cheeses: correlation with PCR-detection of tyramine-producing microorganisms. Journal of Dairy Research, 74: 276-282.
- Ferrer, S., Landete, J.M., and Pardo, I., (2007). Biogenic amine production by lactic acid bacteria, acetic bacteria and yeast isolated from wine. Food Control 18:1569-1574.

- Forde, A., and Fitzgerald, G.F., (2000). Biotechnological approaches to the understanding and improvement of mature cheese flavour. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11:484-489.
- Fox, P. F., (1993). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Chapman and Hall, New York. vol, 2, p. 1.2nd edn.
- Fox, P. F., Law, J., McSweeney, P. L. H., and Wallace, J., (1993). Biochemistry of cheese ripening. PP:389-438.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., and McSweeney, P. L. H., (2000). Starter culture, Fundamentals of cheese science, Aspen Publishers, Inc, Gaithersburg, MD. PP: 638.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., and Guinee, T.P., (2004a). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. 3rd edition. Vol1 Major cheese group, Elsevier Academic Press. London.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., and Guinee, T.P., (2004b). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. 3rd edition. Vol2 Major cheese group, Elsevier Academic Press. London.
- Galgano, F., Suzzi, G., Favati, F., Caruso, M., Martuscelli, M., Gardini, F., and Salzano, G., (2001). Biogenic amines during ripening in Semicotto Caprino cheese: Role of *Enterococci* . International Journal of Food Science and Technology, vol: 36:153-160.
- Gardini, F., Martuscelli, M., Caruso, M. C., Galgano, F., Crudele, M. A., Favati, F., Guerzoni, M. E., and Suzzi, G., (2001). Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amines production of *Enterococcus faecalis*. *Int. J. Food Microbiol*, 64:105-117.
- Gennaro, M. C., Gianotti, V., Marengo, E., Patton, D., and Tur, R. M., (2003) . A chemometric investigation of the effect of the cheese-making process on contents of biogenic amines in a semi-hard Italian cheese (Toma). *Italy, Food Chemistry* 82: 545-551.
- Ghosh, B., Steel, A. and Kessier, H., (1996). Rennetability of milk containing different heat denaturated whey protein. *Milchwissenschaft*, 51:28-30.
- Ghosh, B., Steel, A. and Kessier, H., (1999). Effect of heat treatment and homogenization of milk on camembert cheese Egyptian *J. Dairy Sci.*, 27:331-343.
- Gloria, M. B. A., Pimentel, E. F., Dias, R. S., and Cunha, M. R. R. (2002). Bioactive amines as quality control criteria for cheese used for grated cheese productio. *Dairy Foods: Probiotics and bioactive components in milk*.

- Gosetti, F., Mazzucco, E., Gianotti, V., Polati, S., and Gennaro, M. C., (2007). High Performance Liquid Chromatography/tandem mass spectrometry determination of biogenic amines in typical Piedmont cheese. *Journal of Chromatography A*, 1149:151-157.
- Grappin, R. and Beuvier, E., (1997). Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese. *International Dairy Journal*, 7:751-761.
- Greif, G., and Greifova, M., (1998). Vyskyt biogenných amino mliečnych produktov. *Mliekarstvo*, 29, pp:33-36.
- Guerzoni, M.E., and Suzzi, G., (2001). Effects of pH, temperature and NaCl concentration on the growth kinetics, proteolytic activity and biogenic amine production of *Enterococcus faecalis*. *Int. J. Food Microbiol.* 64:105-117.
- Gugliucci, A., (2004). Polyamines as clinical laboratory tools. *Clinica Chimica Acta*, 344:23-35.
- Guinee, T. P., and Fox P. F., (1993). Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological, Aspects. In: Fox, P. F. (Ed.). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. London: Chapman and Hall, 1:257-302.
- Guinee, T. P., (2004). Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 57(2-3):99.
- Gunasekaran, and Mehmet, A. K., (2003). *Cheese rheology and texture*, CRC press LLC, USA.
- Güven, M., Yerlikaya, S., and Hayaloglu, A. A., (2006). Influence of salt concentration on the characteristics of Beyaz cheese, a Turkish white-brined cheese. *INRA, EDP Sciences*. (86):73-81.
- Halasz, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L., and Holzapfel, W., (1994) Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci. Technol.* 5:42-49.
- Hamed, A., Nafisa, A., and Farag, S., (1992). Effect of pasteurization and storage conditions on the microbiological chemical and organoleptic properties of Domiati cheese during pickling. *Egyptian J. Dairy Sci.*, 20:177-190.
- Hayaloglu, A. A., Güven, M., and Fox, P. F., (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White-brined cheese "Beyaz peynir". *Int. Dairy J.* 12:635-648.
- Hayaloglu, A. A., Güven, M., Fox, P. F., and McSweeney, P. L. H., (2005). Influence of starters on chemical, biochemical, and sensory changes in Turkish white-brined cheese during ripening. *J. Dairy Sci.* 88:3460-3474.

- Ibrahim, E. M. A., and Amer, A. A., (2010). Comparison of biogenic amines levels in different processed cheese varieties with regulatory specifications. *World Journal of Dairy and Food Sciences*. 5(2):127-133.
- Innocente, N., Biasutti, M., Padovese, M., and Moret, S., (2007). Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. Italy. *Food Chemistry* 101:1285-1289.
- Irigoyen A., Izco J. M., Ibanez F. C., and Torre, P., (2001). Influence of rennet milk-clotting activity on the proteolytic, and sensory characteristics of an ovine cheese. *Food Chemistry*, PP:137-144.
- Jarisch, R., (2004). Histamine-Intoleranz. Histamine and Seekrankheit. (Histamine intolerance. Histamine and motion sickness). Stuttgart, Germany: Georg Thieme Verlag. K. G.(in German).
- Jayarajah, N. C., Skelley, M. A., Fortner, D. C., and Mathies, A. R., (2007). Analysis of Neuroactive amines in fermented beverages using a Portable Microchip Capillary Electrophoresis System. *J. Analytical Chem.*, 79(21):8162-8169.
- Kalac, P., and Krausova, p. (2005). A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, 90: 219-230.
- Karakus, M., Borcakli, M., and Alperden, I., (1992). Beyas peynirinin olgunlasmasi surecinde laktik asit bakterileri. *Gida* 17:363-369.
- Kaya, S., (2002). Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short term brining. *J. Food Eng.* 52:155-159.
- Kebary, K. M. K., El-Sonbaty, A. H., and Badawi, R. M., (1998). Effects of heating milk and accelerating ripening of low fat Ras cheese on biogenic amines and free amino acids development. *Food Chemistry*, 64(1):67-75.
- Khosrowshahi, A., Madadlou, A., Mousavi, M., and Emam-Djomeh, Z., (2006). Monitoring the chemical and textural changes during ripening of Iranian White cheese made with different concentration of starter. *J. Dairy Sci.* 89:3318-3325.
- Komprda, T., Novicka, K., Kalhotka, L., and Smela, D., (2005). Biogenic amine content in sterilised and pasteurised long-term stored processed cheese. *Czech J. Food Sci.*, 23: 209-216.
- Komprda, T., Smela, D., Novicka, K., Kalhotka, L., Sustova, K., Pechova, P., (2007). Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese. *Food Chem.* 102: 129-137.

- Komprda, T., Burdychova, R., Dohnal, V., Cwikova, O., Sladkova, P., and Dvorackova, H., (2008). Tyramine production in Dutch-type semi-hard cheese from different producers. *Food Microbiol.* 25:219-227.
- Kvasnicka, F., and Voldrich, M., (2006). Determination of biogenic amines by capillary zone electrophoresis with conductometric detection. *Journal of Chromatography .A*, 1103: pp:145-149.
- Ladero, V., Linares, D. M., Fernandez, M., and Alvarez, M. A., (2008). Real time quantitative PCR detection of histamine-producing lactic acid bacteria in cheese: Relation with histamine content. *Food Research International* 41:1015-1019.
- Lane, C. N., and Fox, P. F., (1996). Contribution of starter and adjunct *Lactobacilli* to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *Int. Dairy J.*, 6:715-728.
- Lane, C. N., and Fox, P. F., (1997). Role of starter enzymes during ripening of Cheddar cheese made from pasteurized milk under controlled microbiological conditions. *Int. Dairy J.*, 7:55-63.
- Lanciotti, R., (2007). Effects of milk high pressure homogenization on biogenic amine accumulation during ripening of ovine and bovine Italian cheese. *Food Chem.*, 104:693-701.
- Landete, J. M., de Las Rivas, B., Marcobal, A., and Muoz, R., (2007). Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on foods. *International Journal of Food Microbiology*, 117:258-269.
- Lange, J., Thomas, K., and Wittmann, C., (2002). Comparison of a capillary electrophoresis method with high-performance liquid chromatography for the determination of biogenic amines in various food samples. *J. Chromatograph. B.*, 779:229-239.
- Law, B. A., (1999). Microbiological surveillance and control in cheese manufacture. In: *Technology of cheese making* (Law, B.A. ed.) 1st Ed. Academic Press, pp: 251-280.
- Leuschner R., and Boughtflower, A., (2002). Laboratory scale preparation of soft cheese artificially contaminated with low levels of *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enteric* Serovars Typhimurium, Enteritidis, and Dublin. *J. Food Protect.*, 65:508-514.
- Lucas, P. M., Claisse, O., and Lonvaud-Funel, A., (2008). High frequency of histamine producing bacteria in the enological environment and instability of the histidine decarboxylase production phenotype. *Applied and Environmental Microbiology*, 74:811-817.

- Madadlou, A., Khosrowshahi, A., Ebrahimzadeh Mousavi, M., and Farmani, J., (2007). The influence of brine concentration on chemical composition and texture of Iranian white cheese. *Journal of Food Engineering*. 81(2):330-335.
- Maijala, R., and Erola, S., (2002). Biogenic amines. National Vet. and Food Res. Institute. Elsevier Sci. Ltd. Helsinki, Finland.
- Marcobal, A., de las Rivas, B., Moreno-Arribas, V., and Munoz, R., (2005). Multiplex PCR method for the simultaneous detection of histamine, tyramine, and putrescine-producing lactic acid bacteria in foods. *J. Food Prot.* 68:874-878.
- Martinez-Guesta, M. C., Depalencia, P. F., Requena, T. and Pelaes, C., (2001). Enzymatic ability of *Lactobacillus casei subsp. Casei* IFPL 731 for flavour development in cheese. *Int. Dairy J.* 11:577-585.
- Martuscelli, M., (2005). Production of biogenic amines during the ripening of Pecorino Abruzzese cheese. *Int. Dairy J.*, 15:571-578.
- Melilli, C., Barbano, D. M., Licitra, G., Farina, G., and Carpino, S., (2003b). Influence of temperature of salt brine concentration on salt upake by Ragusano cheese. *J. Dairy Sci.* 86:2799-2812.
- Melilli, C., Barbano, D. M., Manenti, M., Lynch, J. M., Carpino, S., and Licitra, G., (2004). Lipolysis and proteolysis in Ragusano cheese during brine at different temperature. *J. Dairy Sci.* 87:2359-2374.
- Melilli, C., Carco, D., Barbano, D. M., Tumino, G., Carpino, S., and Licitra, G., (2005). Composition, microstructure, and surface barrier layer development during brine salting. *J. Dairy Sci.* 88:2329-2340.
- Melilli, C., Barbano, D. M., Caccamo, M., Tuminello, L., Carpino, S., and Licitra, G., (2006). Interaction of brine concentration, brine temperature, and presalting on salt penetration in Ragusano cheese. *J. Dairy Sci.* 89:1420-1438.
- Mendia, C., Ibanez, F. J., Torre, P., and Barcina, Y., (2000). Effect of pasteurization and use of a native starter culture on proteolysis in a ewe's milk cheese. *Food Contr.* 11:195-200.
- Moatsou, G. A., Kandarikis, I. G., Georgala, A. K., Alichanidis, E. S., and Anifantakis, E. M., (1999). Effect of starters on proteolysis of Graviera Kritis cheese. *Lait* 79:303-315.
- Moller, P. N., (2005). Cheese starter cultures. Electronic version:
[www.biology.clc.uc.edu/Cheese-course/Cheese starter culture. Html.](http://www.biology.clc.uc.edu/Cheese-course/Cheese%20starter%20culture.Html)
- Montgomery, D. C., (2001). Design and Analysis of Experiments. 5th Edn., pp:573.

- Mcsweeney, P. L. H., and Sousa, M. J., (2000). Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheese during ripening : A review. *Lait* 80:293-324.
- Nout, M.J.R. (1994). Fermented foods and food safety. *Food Res. Int.*, 27:291-296.
- Novella-Rodriguez, S., Veciana-Nogues, M. T., Rog-Sagues, A. X., Trujillo-Mesa, A. J., and Vidal-Carou, M. C., (2002). Influence of starter and nonstarter on the formation of biogenic amine in Goat cheese during ripening, *Journal of Dairy Science* 85:2471-2478.
- Novella-Rodriguez, S., Veciana-Nogues, M. T., Izquierdo-Pulido, M., and Vidal-Carou, M. C., (2003). Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. *Journal of Food Science*, 68:750-755.
- Novella-Rodriguez, S., Veciana-Nogues, M. T., Roig-Sagues, A. J., Trujillo-Mesa, A. J., and Vidal-Carou, M. C. (2004). Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *Journal of Dairy Research*, 71:245-252.
- Olson, N. F., (1990). The impact of *Lactic acid* bacteria on cheese flavor. *FEMS Microbiol Rev.* 87:131-147.
- Oner, Z., Karahan, A. G., and Aloglu, H., (2006). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *Turkey. LWT.* 39:449-454.
- Ordenez, A. I., Ibanez, F. C., Torre, P., and Barcina, Y., (1997). Formation of biogenic amines in Idiazabal ewe's-milk cheese: Effect of ripening, pasteurization, and starter. *Washington. Journal of Food Protection*, 60:1371-1375.
- Ordenez, A., Lbanez, F., Torre, P., and Barcina, Y., (1999). Effect of ewes milk pasteurization on the free amino acids in Idiazabal cheese. *International Dairy J.*, 9:135-141.
- Pereira, C.I., Barreto Crespo, M.T., and San Romao, M.V., (2001). Evidence for proteolytic activity and biogenic amines production in *Lactobacillus curvatus* and *L. homohiochii*. *Int. J. Food Microbiol.* 68:211-216.
- Perez, M. S., (2007). Accelerated ripening by Enzyme Modified Application in Swiss cheese. Department of food science and Technology, the Ohio state University, Columbus, Ohio.
- Petridis, K. D., Steinhart, H., (1996b). Biogene Amine in der Hartkaseproduktion: II. Stufenkontroll-Studie einer standardisierten

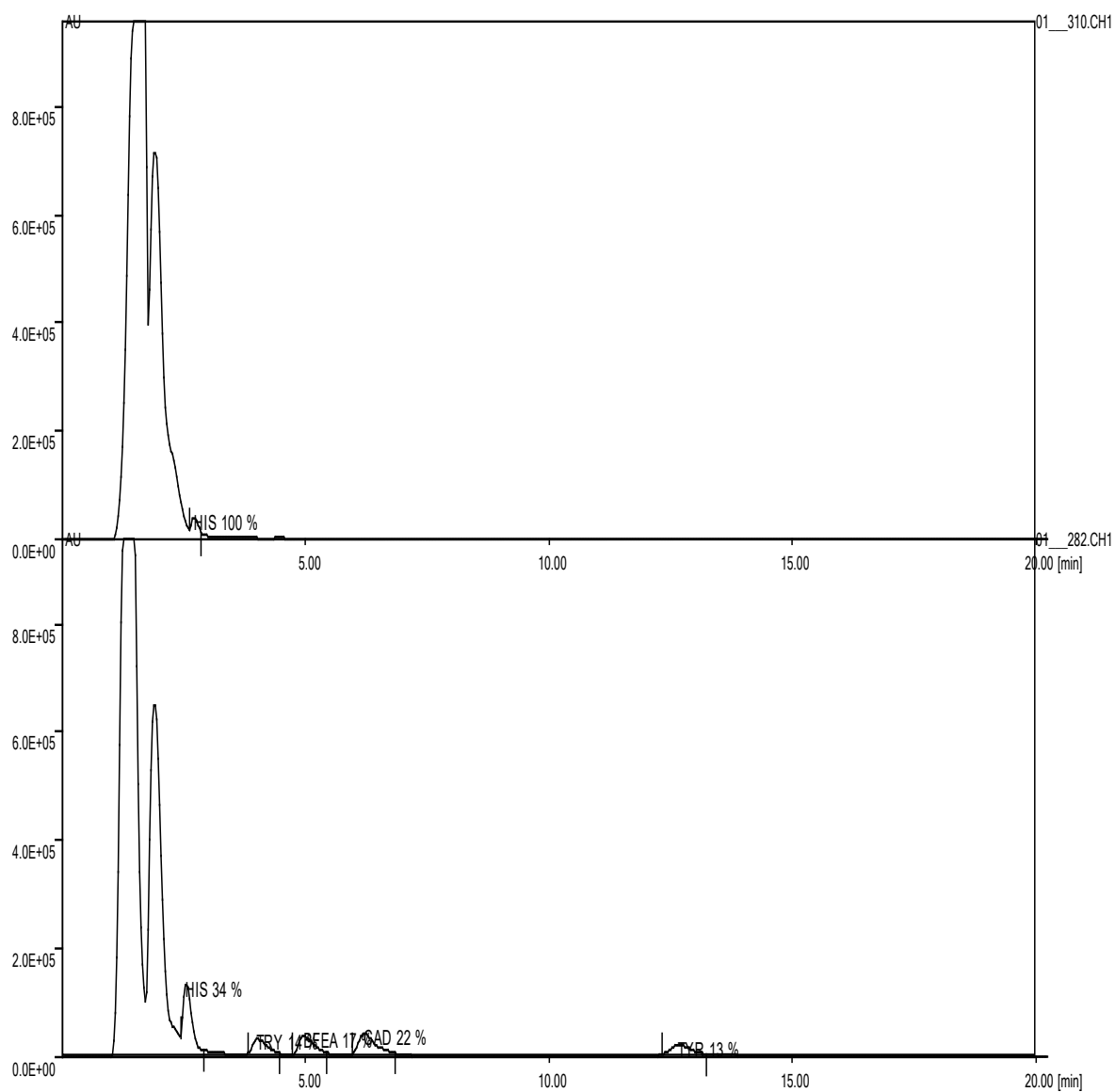
- Emmentalerkase-Produktion. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 92: 142-146.
- Pinho, O., Ferreira, I. M. P. L.V. O., Mendes, E., Oliviera, B. M., and Ferreira, M., (2001). Effect of temperature on evolution of free amino acid and biogenic amines contents during storage of Azeitao cheese. Food Chem., 75:287-291.
- Pircher, A., Bauer, F., and Paulsen, P., (2007). Formation of cadaverine, histamine, putrescine and tyramine by bacteria isolated from meat, fermented sausages and cheeses. European Food Research and Technology, 226:225-231.
- Prasad, N., and Alvarez, V. B., (1999). Effect of salt and chymosin on the physico-chemical properties of Feta cheese during ripening . J. Dairy Sci. 82:1061-1067.
- Pollock, I., Mudoch, R. D., and Lessof, M. H., (1991). Plasma histamine and clinical tolerance to infused histamine in normal, atopic and urticarial objects. Agents Actions. 32:359-365.
- Powell, I. B., Broome, M. C., and Limsowtin, G. K. Y., (2002). Starter cultures: General aspects. PP:261-268 in Encyclopedia of Dairy Science. H. Roginski, J. W. Fuquay, and P. F. Fox, ed Academic press, London, UK.
- Raheem, B., (2006). Development and microbiological application in African foods: Emphasis on Nigerian Wara cheese .Electronic version: ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/skemi/vk/raheem/developm.pdf.
- Rea, M. C., Franz, C. M. A. P., Holzapfel, W. H., and Cogan, T. M., (2004). Development of *Enterococci* and production of tyramine during the manufacture and ripening of Cheddar cheese. Irish Journal of Agricultural and Food Research 43:247-258.
- Repka-Ramirez, M. S., and Baraniuk, J. N. (2002). Histamine in health and disease. Clinical Allergy and Immunology, 17:1-25.
- Rivas, B. D. L., Marcobal, A., Carrascosa, A.V., Munoz, R., (2006). PCR detection of foodborne bacteria producing the biogenic amines histamine, tyramine putrescine and cadaverine. J. Food Prot. 69:2509-2514.
- Rodriguez-Jerez, J.J.; Gieccone, V.; Colavita, G. and Pafisi, E. (1994a). *Bacillus macerans*. A new potent hitamine producing microorganism isolated from Italian cheese. Food MicrobioL, 11:409-415.
- Rodriguez, S. N., Nogues Sagues, M. T. V. Mesa, A. J. T. and Carou, M. C. V., (2002). Influence of starter and nonstarter on the formation of biogenic amine in goat-cheese during ripening. J. Dairy Sci., 85(10):2471-2478.

- Roig-Sagues, A., and Eerola, S., (1997). Biogenic amines in meat inoculated with *Lactobacillus sake* starter strains and an amine-positive lactic acid bacterium. *Eur. Food Res. Technol.*, 205: 227-231.
- Roig-Sagues, A.X., Molina, A.P., and Hernandez-Horrero, M.M., (2002). Histamine and tyramine-forming microorganisms in Spanish traditional cheese. *Eur. Food Res. Technol.* 215:96-100.
- Santos, W. C., Souza, M. R., Cerqueira, M. M. O. P., and Gloria, M. B. A., (2003). Bioactive amines formation in milk by *Lactococcus* in the presence of not of rennet and NaCl at 20 and 32°C. *Food Chem.* 81:595-606.
- Sarkadi, L., (2004). Histamine in food. In: *Biology and medical aspects.* (Falus, A. N. Grosman and Z. Darvas, eds.). Spring-Medicine Publishing Budapest, Hungary.
- Schneller, R., (1997). Influence of pasteurized milk, raw milk and different ripening cultures on biogenic amine concentrations in semi-soft cheeses during ripening. *Z. Lebensm-Unters-Forsch A.*, 204:265-272.
- Sert, D., Ayar, A., and Akin, N., (2007). The effects of starter culture on chemical composition, microbiological and Sensory Characteristics of Turkish Kasar cheese during ripening. *Internet Journal of Food Safety.* 9:7-13.
- Shalaby, A. R., (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Inter.*, 29(7):675-690.
- Silla-Santos, M. H., (1996). Determination of Biogenic Amines in Spoiled Cheese by Ion Chromatography with Integrated Pulsed Amperometric Detection, *International Journal of Food Microbiology*, 29: 213-231.
- Silvana, V., Beatriz, M., and Gloria, A., (1998). Biogenic amines in Brazilian cheeses. *Food Chemistry*, 63(3): 343-348.
- Smit, G., Smit, B. A., and Engels, W. J. M., (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *Femsmicrobiol. Rev.* 29:591-610.
- Spanjer, M.C. and Van-Roode, B. A. S. W. (1991). Towards a regulatory limit for biogenic amines in fish, cheese and sauerkraut. *De Ware(n) -Chemicus*, 21:139-167.
- Standara, S., Vesela, M., and Drdak, M., (2000). Determination of biogenic amines in cheese by ion exchange chromatography. *Nahrung / Food*, 44(1): 28-31.
- Stratton, J.E., Hutkins, R.W., and Taylor, S. L., (1991). Biogenic amines in cheese and other fermented foods. *Journal of Food Protection*, 54(6), pp:460-470.

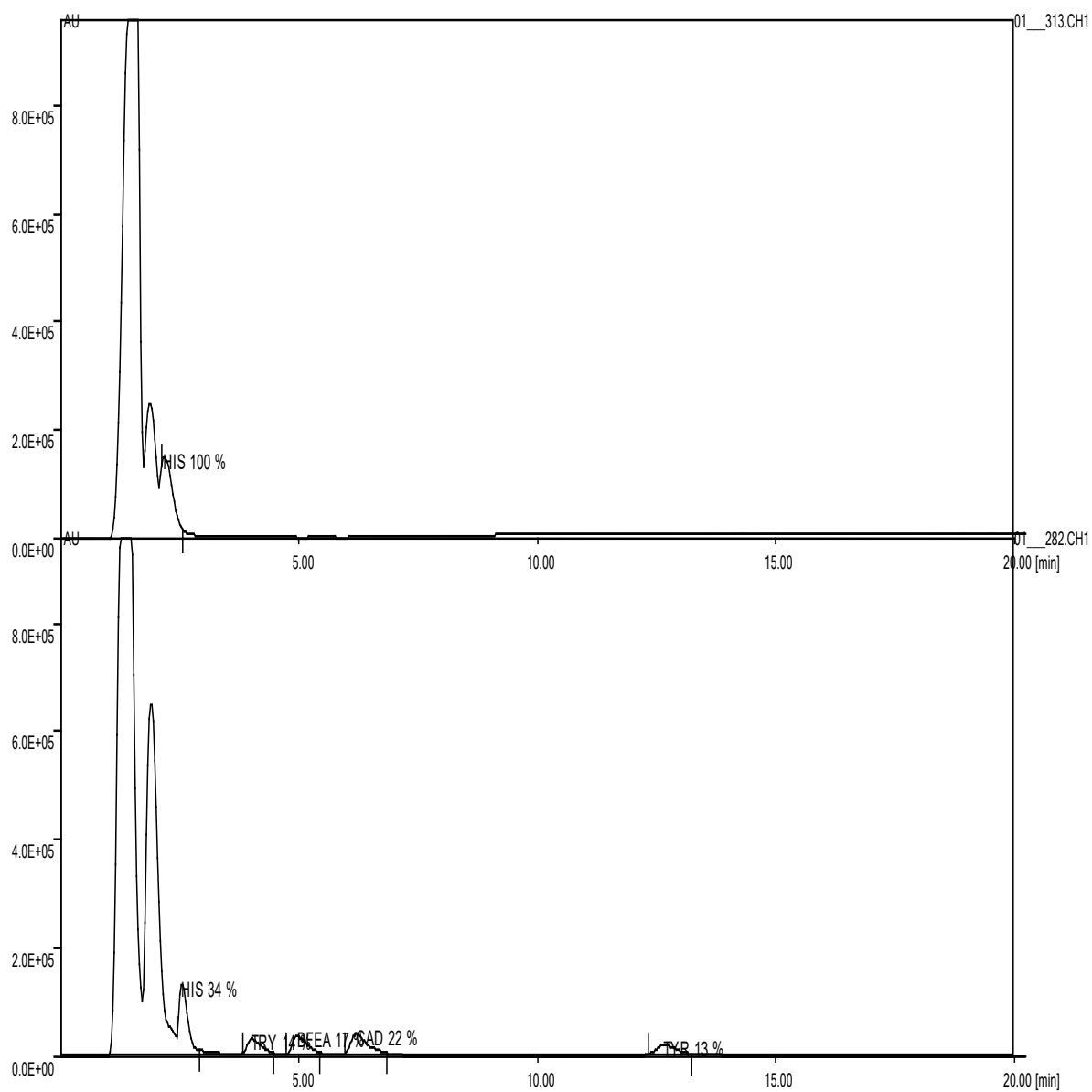
- Sumner, S. S., (1990). Factors controlling histamine production in Swiss cheese implicated with *Lactobacillus buchneri*. J. Dairy Sci., 73:3050-3058.
- Suzzi, G., and Gardini, F., (2003). Biogenic amines in dry fermented sausages: A review. Int. J. Food Microbiol., 88: 41-54.
- Svec, P., Sedlacek, I., Zackova, L., Novakova, D., and Kukletova, M., (2009). *Lactobacillus spp.* associated with early childhood caries. Folia Microbiol. 54:53-58.
- Tamime, A.Y., and Robinson, R. K., (1993). Some aspects of the production of concentrated yoghurt (labneh) popular in the Middle East. Milchwissenschaft. 33:209.
- Tarakci, Z., (2004). The Influence of Helis (Prangos sp.) on Ripening Characteristics of Vacuum-packed Van Herby cheese during Ripening. Milchwissenschaft, 11/12:619-623.
- Tarakci, Z., and Kucukoner, E., (2006). Changes on physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum packed Turkish Kashar cheese during ripening. Journal of Central European Agriculture, Vol 79(3):459-464.
- Urbach, G., (1997). The flavour of milk and dairy products. II. Cheese: Contribution of volatile compounds. Int. J. Dairy Techno. 50:79-89.
- Vale, S., and Gloria, M. B. A., (1997). Determination of biogenic amines in cheese. J. AOAC Int., 80:1006-1012.
- Valsamaki, K., Michaelidou, A., and Polychroniadou, A. (2000). Biogenic amine production in Feta cheese. Food Chemistry, 71: 259-266.
- Vidal-Carou, M. C. (2003). Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. Journal of Food Science, 68:750.
- Vieites, J. M., Castro, S., and Rodriguez, M., (1997). Methods de determinacion de amines biogenas en productos de la pescaysus transformados mediante HPLC. Alimentaria 279:55-63.
- Vinci, G., and Antonelli, M. L., (2002). Biogenic amines: quality index of freshness in red and white meat. J. Food Control. 13:519-524.
- Warsama, L. M., Elzubeir, I. E. M., and El-Owni, O. A., (2006). Composition and hygienic quality of Sudanese white cheese in Khartoum North markets (Sudan). Int. J. Dairy Sci., 1:36-43.
- Wöhrl, S., Hemmer, W., Focke, M., Rappersberger, K., and Jarisch, R., (2004). Histamine intolerance-like symptoms in healthy volunteers after oral provocation with liquid histamine. Allergy and Asthma Proceedings, 25:305-311.

- Wouters, J. T. M., Ayad, E. H. E., Hugenholtz, J., and Smit, G., (2002). Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J.* 12:91-109.
- Yousef, H., Sobieh, M., and Nagedan, K., (2001). Microbial status of Domiati cheese at Al Gassiem area Saudi Arabia. 8th Sci. Con. Fac. Vet. Med. Assiut University, PP:91-97.
- Zuzana, D., Eva, D., and Rudol, f. C., (2004). Biogenic amines in ewe's milk lump cheese and bryndza, *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 48:53-57.
- أبو يونس؛ عهد. (2007). "دراسة خصائص بكتريا حمض اللبن المعزولة من بعض منتجات الألبان السورية". أطروحة دكتوراه في ميكروبيولوجيا الحليب. كلية الزراعة. جامعة دمشق.
- المدني؛ خالد. (2004). التغذية العلاجية. دار المدني. المملكة العربية السعودية. جدة.
- اليوسفي؛ لميس. (1985). الكيمياء العضوية. مديرية الكتب الجامعية. جامعة دمشق.
- زين الدين؛ محمد. (1999). وجود الأمينات الحيوية في الألبان ومنتجاتها بمحافظة الدقهلية. كلية الزراعة. مركز الدراسات والبحوث البيئية. جامعة المنصورة.
- سمينة؛ غياث، محمد؛ محمد، كورية؛ أمل. (2006). مبادئ الكيمياء الحيوية. مديرية الكتب الجامعية. جامعة دمشق.

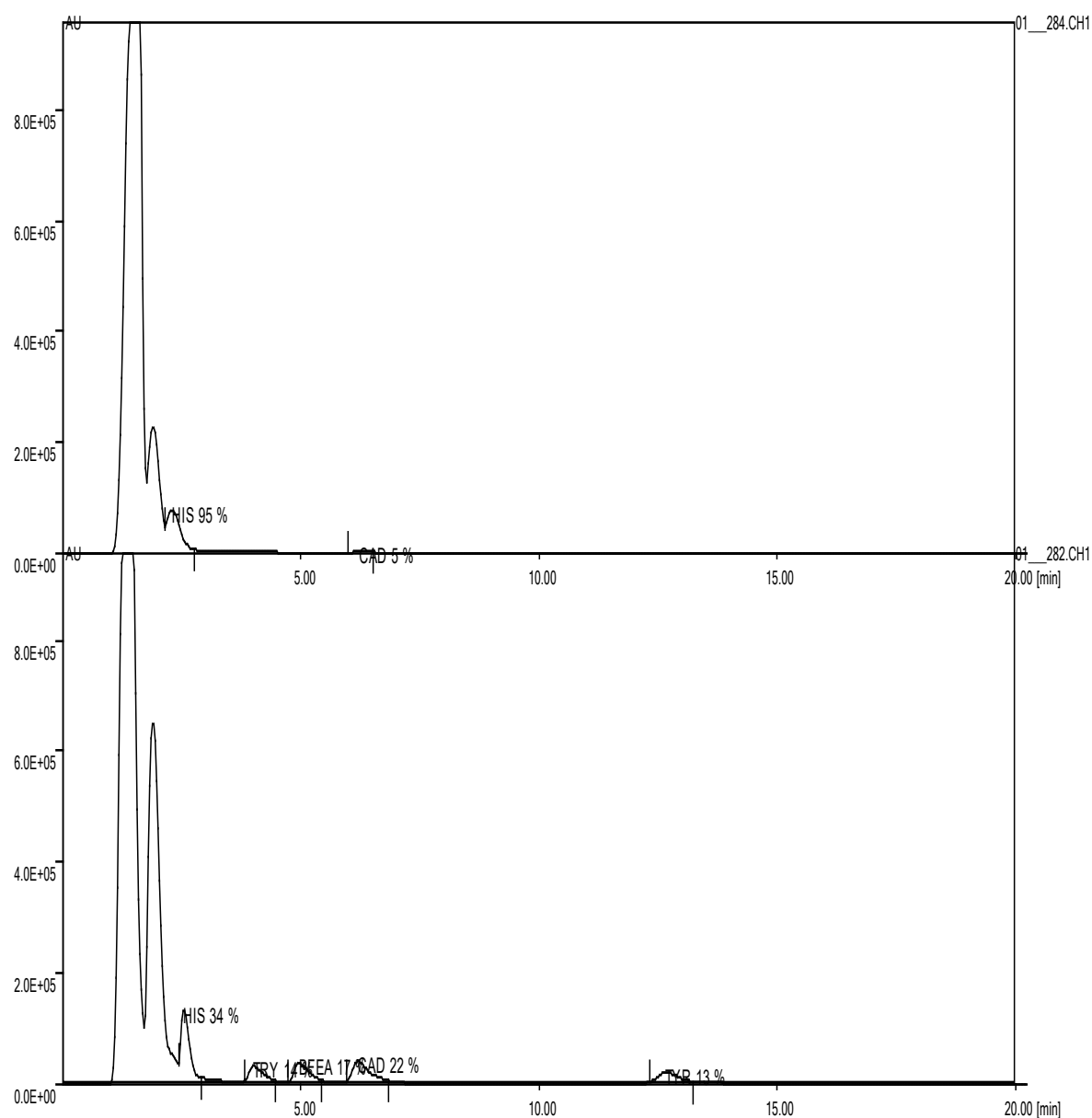
9- الملحق Appendix



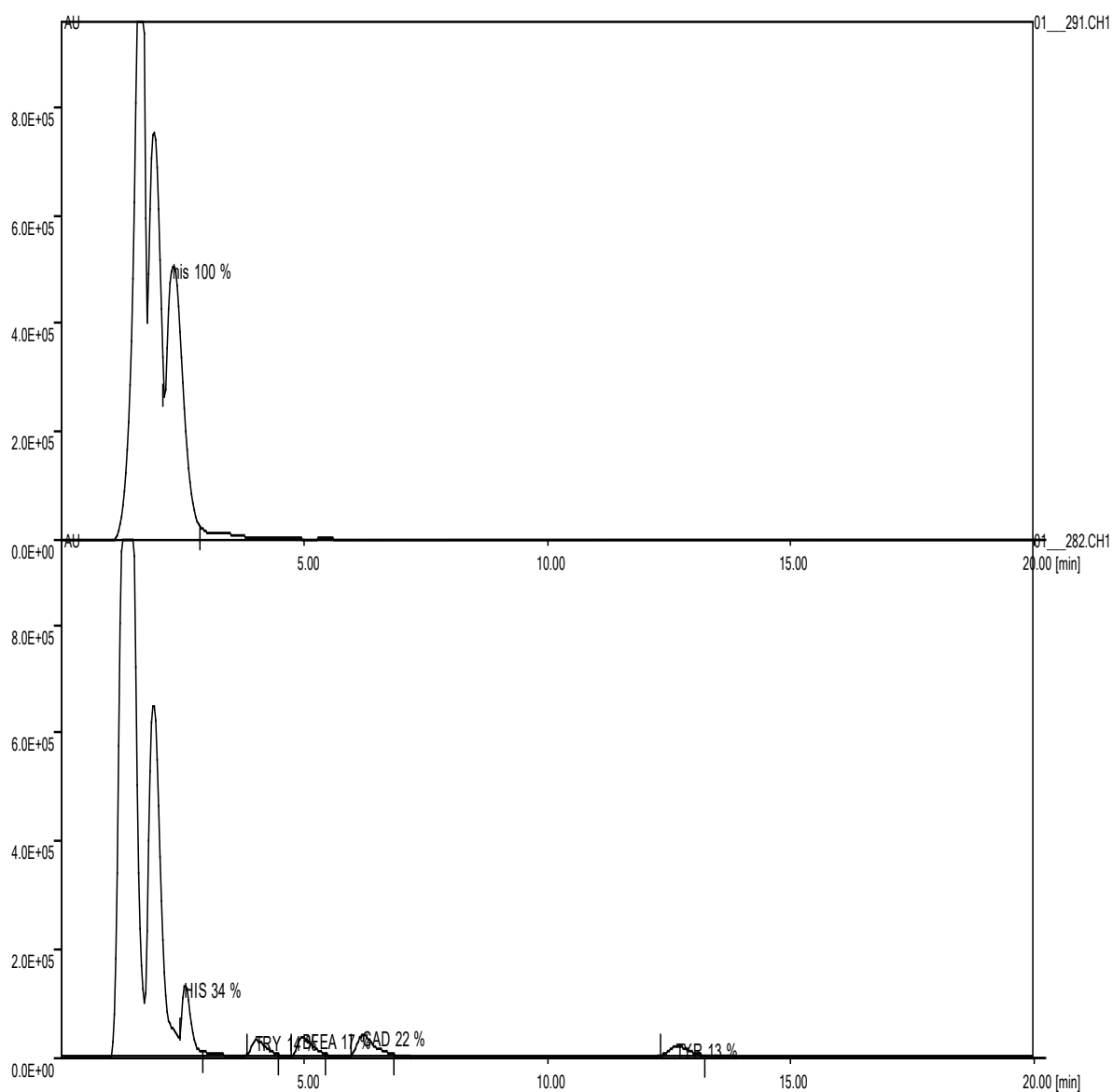
قمة فصل للهستامين في جبن القشقوان مقارنة مع المزيج القياسي للأمينات الحيوية
بواسطة جهاز HPLC



قمة فصل للهستامين في جبن الشلل مقارنة مع المزيج القياسي للأمينات الحيوية
بواسطة جهاز HPLC



قمة فصل للهستامين والكادافيرين في جبن الغنم مقارنة مع المزيج القياسي للأمينات الحيوية بواسطة
HPLC جهاز



قمة فصل للهستامين في الشنكلش مقارنة مع المزيج القياسي للأمينات الحيوية
بواسطة جهاز HPLC