

الفصل العاشر

النشاط المائى وقوة حفظ الجبن

Water activity and keeping quality of cheese

١- مقدمة

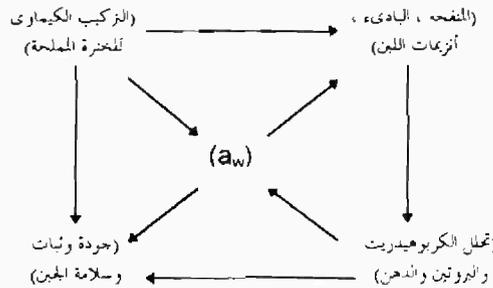
الجبن ليس نظاما ثابتا حيث توجد به تغيرات مستمرة فى الصفات الطبيعية والكيمائية والبيولوجية نتيجة للنشاط البيوكيماوى سواء للميكروبات المفيدة أو الضارة (المسببة للتغيرات غير المرغوبة والمرضية) والذى يؤدى الى تكوين نظام بيئى مناسب يعتمد على سلسلة تفاعلات بين العوامل الطبيعية والكيمائية والبيولوجية والتى تنتهى الى تهيئة ظروف معينة داخل الجبن تحدد قوة حفظ وسلامة الناتج النهائى. ويعتبر النشاط المائى (a_w) من العوامل الأكثر أهمية فى هذا المجال والتى تلعب دورا هاما فى تحديد قوة حفظ الجبن keeping quality (أى ثبات الجبن stability of cheese) حيث تقوم بتهيئة الظروف الملائمة لنمو ونشاط ومقاومة الميكروبات فى الجبن والذى يؤدى الى تغيرات فى صفات الجبن الناتج تؤثر على تحدد قوة حفظه وصلاحيته للأستهلاك .

تعتبر صناعة الجبن أساسا وسيلة لحفظ مكونات اللبن لفترات متباينة حيث يتم تحويل اللبن، مادة سريعة الفساد (a_w مرتفع ، pH قريب من التعادل) الى جبن يتميز بقوة حفظ أفضل (a_w و pH منخفض). فى بداية صناعة الجبن يكون a_w حوالى ٠,٩٩ . حيث يأخذ فى الأنخفاض طبقا لطريقة الصناعة وفترة تسوية الجبن التى تختلف طبقا لنوع الجبن . لذلك فإن a_w فى الناتج النهائى يلعب دورا هاما فى تحديد قوة حفظه . والجبن الطرية والنصف طرية تتميز بقوة حفظ قصيرة نسبيا (٢-١٢ أسبوع) حيث تكون a_w مرتفعة وتتراوح بين ٠,٩٦-٠,٩٩ (a_w فى جبن الكمببر ٠,٩٨ ، ومدة الحفظ لا تتجاوز ٨-١٢ أسبوع ، جبن الكوارج ، Cottage حيث تكون a_w ٠,٩٩ ومدة الحفظ فى حدود أسبوعين). الجبن شديدة الجفاف مثل البريسان تتميز بقوة حفظ طويلة تصل الى أكثر من سنتين حيث تكون a_w منخفضة نسبيا (٠,٩). الجبن المرتفعة فى a_w تكون سريعة الفساد

بدرجة ملحوظة وقد تسبب بعض حالات التسمم الغذائي ومن الضروري حفظها تحت درجات حرارة منخفضة حتى الأستهلاك . وعموما لا تستطيع الميكروبات أن تنمو فى الأغذية التى تقل فيها قيم a_w عن ٠,٦ ، لذلك فإن حدوث أى تغيرات غير مرغوبة (تؤدى الى فساد وعدم الصلاحية للأستهلاك) فى هذه الأغذية لا ترجع الى نشاط ميكروبيولوجى ولكن ترجع بصفة أساسية الى آفات حشرية أو تفاعلات كيميائية مثل الأكسدة .

الأساس فى صناعة الجبن الطرية والنصف طرية تتضمن انخفاض pH والنشاط المائى a_w من خلال تخمر حمض اللاكتيك الذى يتبعه طرد الشرش وتقليح الخثرة . يتم تجين اللبن بواسطة التجين الأنزيمى بأستخدام أنزيم بروتيناز مناسب (قد يكون منفحة حيوانية أو ميكروبية) مع أنتاج حمض لاكتيك بواسطة بكتريا البادئ . زيادة الحموضة خلال مراحل التصنيع مثل تسوية اللبن ، التجين ، تصفية الخثرة ثم تسوية الجبن على جانب كبير من الأهمية فى تحديد a_w وقوة حفظ وسلامة الجبن .

يعتبر النشاط المائى (a_w) حاليا من أهم التطورات فى مجال علوم الأغذية والألبان فى خلال ٥٠ سنة الأخيرة حيث يتم حاليا دراسة تأثير a_w على التغيرات الطبيعية والكيميائية والميكروبيولوجية التى تحدث فى الأغذية على أسس علمية . وتعتبر a_w حاليا بعد درجة الحرارة من أهم العوامل فى تكنولوجيا الأغذية والألبان . وتلعب دورا مركزيا فى الجبن كما يتضح من المخطط التالى حيث يؤثر على جودة وقوة حفظ وسلامة الناتج النهائى من الجبن .



٢- النشاط المائى وعلاقته بنمو الميكروبات

جميع أنواع الميكروبات لا تستطيع أن تنمو فى عدم توفر الماء . تختلف كمية الماء المطلوبة لنمو الميكروبات والتى يعبر عنها بالماء المتاح available water أو النشاط المائى

water activity (a_w) . وهناك عدة طرق قد تؤثر على عدم إتاحة الماء لنشاط الميكروبات:
 ١- المواد الذائبة والأيونات ترتبط بالماء لذلك فإن أى زيادة فى تركيز المواد الذائبة مثل السكريات والأملاح يؤدي الى تقليل الماء المتاح. هذا بالإضافة الى أن الماء يميل الى التسرب من الخلايا الميكروبية بفعل الأسموزية نظرا لأرتفاع تركيز المواد الذائبة خارج الخلايا عنها داخل الخلايا .

٢- الغرويات المحبة للماء hydrophilic (الجل) يجعل الماء غير متاح . وجود كميات ضئيلة من السكر (حوالى ٣-٤٪) فى البيئة قد تمنع نمو البكتريا نتيجة لانخفاض كمية الماء المتاح عن الحد المطلوب لنمو هذه البكتريا .

٣- ماء البللورة crystallization أو التشرب hydration عادة يكون غير متاح للميكروبات . الماء نفسه عندما يتحول الى بللورات ثلجية لا يمكن استخدامه بواسطة الميكروبات . a_w لمخلوط الماء والثلج ينخفض بانخفاض درجة الحرارة إلى أقل من الصفر المتوى . قيم a_w للماء النقى ١,٠ عند الصفر المتوى ، ٠,٩٥٣ عند -٥م° ، ٠,٩٠٧ عند -١٠م° ، ٠,٨٤٦ عند -١٥م° ، ٠,٨٢٣ عند -٢٠م° وهكذا . عندما يتكون بللورات ثلجية فى الغذاء فإن تركيز المواد الذائبة فى الماء غير المتجمد يرتفع ويؤدي الى خفض a_w . يتوقف الانخفاض فى a_w بواسطة المواد الذائبة بصفة أساسية على التركيز الكلى للجزيئات والأيونات الذائبة ، كل من هذه الجزيئات والأيونات محاطة بجزيئات من الماء مرتبطة بدرجات مختلفة من القوة . لذلك فإن درجة تجمد المحلول تنخفض وكذلك الضغط البخارى مقارنة بالماء النقى . فى هذه الحالة فإن الميكروبات يجب أن تتنافس مع هذه الجزيئات والأيونات على جزيئات الماء المتاح حتى يمكن أن تنمو .

a_w عبارة عن النسبة بين الضغط البخارى vapor pressure للمحلول (المواد الذائبة فى رطوبة الجبن) والضغط البخارى للمذيب (عادة الماء) عند نفس درجة الحرارة .

الضغط البخارى للمحلول (P)

$$= a_w \frac{\text{الضغط البخارى للماء النقى } (P_0)}$$

وقيمة a_w للماء النقى ١,٠ ومحلول بتركيز ١ مول ٠,٩٨٢٣ ، وال $a_w \times 100$ تكون فى حالة أتران مع الرطوبة النسبية (RH) relative humidity للهواء الجوى المحيط بالجبن أى أن الرطوبة النسبية عند الأتران :

$$a_w = ERH/100 \text{ أو } a_w \times 100 = (ERH) \text{ equilibrium relative humidity}$$

الرطوبة النسبية فى الهواء المحيط بالغذاء (الجبن) تعادل قيم a_w أقل من الموجوده فى الغذاء والتي قد تسبب جفاف سطح الغذاء ، وعلى العكس من ذلك فإذا كانت الرطوبة النسبية

أعلا من قيم a_w المقابلة فإن ذلك يؤدي الى زيادة a_w عند سطح هذه الأغذية .
 الانخفاض في الضغط البخارى لأى مذيب مثالى يتبع قانون Raoult's law : الضغط
 البخارى للمحلول بالنسبة للمذيب النقى يعادل التركيز المولى للمذيب أى أن :

$$P/P_0 = n_2 / n_1 + n_2$$

حيث أن P_0 ، P = الضغط البخارى لكل من المحلول والمذيب على التوالى

n_1 ، n_2 = تركيز المواد الذائبة والمذيب بالمول على التوالى .

بالرغم من أن a_w تختلف باختلاف درجة الحرارة إلا أن التباين يكون ضئيل جدا فى نطاق درجات الحرارة التى تسمح بنمو الميكروبات . وعلى أى حال فإن زيادة تركيز المواد الذائبة يجعل الاختلاف فى درجة الحرارة يصبح أكثر أهمية بالنسبة لـ a_w نظرا لزيادة التأين بارتفاع درجة الحرارة .

لكل ميكروب قيم مثلى وذنبا وقصى من a_w للنمو . عندما ينخفض a_w الى أقل من الدرجة المثلى فإنه يحدث أطالة لمرحلة النمو اللاجى lag phase وبالتالي انخفاض فى كل من معدل النمو وبناء مواد الخلايا . تختلف معدل هذه التغيرات باختلاف الميكروب والمواد الذائبة المستخدمة فى خفض a_w . تتضمن طرق قياس أو تقدير قيم a_w فى الأغذية: تقديرات نقطة التجمد ، استخدام المانومترا وكذلك معدات كهربائية . تقدير نقطة التجمد تكون ذات جدوى فقط فى حالة الأغذية السائلة ذات a_w مرتفعة وتستخدم بصفة روتينية فى برامج مراقبة الجودة فى صناعة الألبان للكشف عن غش الألبان بإضافة الماء ويمكن تطبيقها فى مراقبة جودة الجبن . تستخدم طرق المانومترا لقياس الضغط البخارى مباشرة فى الحيز البخارى vapor space المحيط بالغذاء وهى طريقة دقيقة . يستخدم معدات كهربائية لقياس a_w بطريقة غير مباشرة حيث تستخدم حساس sensor الذى يقيس الرطوبة النسبية فى الحيز البخارى المحيط بالغذاء على أساس المقاومة الكهربائية electrical resistance . عادة يوضع الغذاء فى وعاء خاص ويترك حتى يحدث اتزان بين الماء فى الغذاء والحيز البخارى المحيط به وتصل عادة حالة الأتزان فى خلال ساعة أو عدة ساعات . وعادة تستخدم جداول قياسية لتحويل المقاومة الكهربائية الى قيم a_w أو نسبة مئوية للرطوبة النسبية .

معظم الميكروبات تنمو بصورة جيدة فى البيئات التى تقترب فيها a_w من 1,0 (من 0,995-0,998) أى أن الميكروبات تنمو بدرجة أفضل فى التركيزات المنخفضة من السكر أو الملح بالرغم من أن هناك استثناءات واضحة فى هذا الشأن . بيئات المزارع لمعظم البكتريا تحتوى على سكر بنسبة لا تزيد عن 1% ، 0,85% NaCl (محلول ملهى

فسيولوجي). وجود السكر بتركيز ٣-٤٪ ، NaCl بتركيز ١-٢٪ قد يثبط نمو بعض البكتيريا . تختلف درجة a_w المثلى والحد الأدنى للنمو باختلاف البكتيريا وكذلك نوع الغذاء ، درجة الحرارة ، pH ، ووجود الأكسجين ، CO₂ والمواد المثبطة . عموماً فإن البكتيريا تحتاج الى رطوبة أعلى من الخمائر ، الخمائر تحتاج رطوبة أعلى من الفطريات كما يتضح من جدول (١-١٠) الذي يبين الحدود الدنيا للـ a_w للبكتيريا ، الخمائر والفطريات. توجد بعض الاستثناءات في هذا المجال حيث توجد بعض الفطريات تحتاج الى a_w أعلى للنمو (وأنبات الجراثيم) عما يحتاجه كثير من الخمائر وبعض البكتيريا . الميكروبات التي تستطيع أن تنمو في وجود تركيزات مرتفعة من المواد الذائبة (مثل السكر والملح) يكون a_w لها منخفضة . تحتاج البكتيريا المحبة للملوحة *halophilic bacteria* الى حد أدنى من تركيزات NaCl لكي تنمو ، الخمائر المحبة للتركيزات المرتفعة من السكر *osmophilic yeasts* تنمو بدرجة أفضل في وجود تركيزات مرتفعة من السكر .

جدول ١-١٠ : الحد الأدنى لقيم a_w التي تسمح بنمو نشط للميكروبات

الميكروبات	الحد الأدنى للقيم a_w
البكتيريا السالبة لسكرام	٠,٩٧
البكتيريا الموجبة لسكرام	٠,٩٠
الخمائر	٠,٨٨
الفطريات	٠,٨٠
البكتيريا المحبة للملوحة <i>Halophilic bacteria</i>	٠,٧٥
الفطريات التي تنمو على الأغذية الجافة <i>Xerophilic fungi</i>	٠,٦٥
الخمائر المحبة للتركيزات المرتفعة من السكر <i>Osmophilic yeasts</i>	٠,٦٠

٣- تقدير النشاط المائي في الجبن

الجبن ليس نظام ثابت حيث أن كمية الماء (المذيب) التي توجد في الجبن تتناقص بصفة مستمرة نتيجة البخر *evaporation* مع إنتاج مواد ذائبة جديدة منخفضة الوزن الجزئي بصورة تدريجية من العمليات البيوكيميائية التي تحدث في الجبن خلال التسوية . هذه التغيرات المستمرة في كل من المواد الذائبة في الماء وتفاعلات الأيونات الصغيرة في الماء ونتيجة لفقد الماء فإن النسبة بين الماء والجوامد غير الذائبة تنخفض وبالتالي تسرع من التفاعلات الداخلية بين الكازين والماء والتي بدورها تقلل من النسبة بين الماء غير المرتبط والماء المرتبط غير المشترك في الذوبان . تأثر هذين العاملين (تغير الرطوبة وتكوين المواد

الذائبة) يكون ضئيل في الجبن الطازجة ومع ذلك فعندما تسوى هذه الجبن فإن التأثير المشترك للتجفيف والتحليل الكيماوى يصبح على جانب كبير من الأهمية .

تتراوح a_w في الجبن عادة من ٠,٧-١,٠ بالرغم من أن معظم الأنواع يكون فيها a_w أعلا من ٠,٩ ويجب أن يؤخذ ذلك في الاعتبار عند اختيار الطريقة لتقدير a_w في الجبن وكذلك زيادة نشاط الميكروبات في بعض أنواع وأنفراد بعض المركبات الطيارة على مراحل والتي قد تتداخل مع تقدير a_w بواسطة بعض الطرق . تتضمن طرق قياس أو تقدير a_w في الأغذية بالإضافة إلى الطرق السابق الإشارة إليها طريقة وزنيه تعتمد على التغيرات في محتوى الرطوبة للعينة بعد الوصول الى حالة أتران مع الجو المحيط بالعينة معروف الرطوبة النسبيه ، فإذا كانت a_w للعينة أقل من الرطوبة النسبية في الجو المحيط فإن وزن العينة يزيد إذا كان a_w أعلا فإن وزن العينة ينخفض . بأجراء وزن العينة فى نطاق مختلف من الرطوبة النسبية فإنه من الممكن تحديد الرطوبة النسبية التى لا تسبب تغيير فى وزن العينة وبالتالي حساب a_w للعينة من المعادلة التالية : $a_w = ERH/100$

استخدام طرق التجميد فى قياس a_w فى الجبن يمكن تطبيقها فى مراقبة جودة صناعة الجبن وتعتمد هذه الطريقة على العلاقة بين a_w عند ٢٠°م للجبن التى يكون فيها a_w ٠,٩ أو أعلا ونقطة تجمد المستخلصات المائية لهذه الجبن . وتتلخص طريقة الأعداد فيما يلى :

جزء واحد بالوزن من الجبن يخلط مع ٣ أجزاء بالحجم من ماء مقطر ويعرض المخلوط للطرود المركزى عند سرعة ١٣٢٥ (g) لمدة ٥ دقائق ثم تترك أنابيب الطرد المركزى ساكنة فى حمام ثلجى ice bath حتى تتجمد الطبقة الدهنية المتكونة على السطح . عند هذه النقطة يتم التقدير نقطة تجمد (f.p.) الوسط المائى الموجود فى الوسط (أسفل طبقة الدهن) وتحسب a_w لعينة الجبن الأصلية من نقطة تجمد (بالدرجات المثوية) لمستخلص الجبن من المعادلة التالية : $a_w = 1.0155 + 0.1068 \text{ f.p.}$

وعند استخدامها للجبن الطرى فإن هذه الطريقة تعطى نتائج مماثلة للطرق الأخرى . وهناك طريقة أخرى تعتمد على نقطة التجمد يمكن استخدامها للجبن المطبوخة فقط حيث تستخدم فى الأتحاد السوفيتى (سابقاً) معتمدة على المعادلة التالية :

$$\log a_w = -0.004221 - 0.000002 \Delta t^2$$

حيث أن Δt عبارة عن الأنخفاض فى نقطة تجمد الجبن المطبوخة المسالة (الذى تم تسيحها) عند ٧٠°م ثم حفظت عند ١٠-١٢°م لمدة ٢٤ ساعة . هناك طرق أخرى لحساب a_w بطريقة مباشرة بأستخدام معادلات خاصة تعتمد على التركيب الكيماوى للجبن . بعض هذه المعادلات يمكن تطبيقها على النتائج المتوفرة من

البحوث السابق إجرائها أو من جداول التركيب الكيماوى للأغذية للحصول على تقدير تقريبي لـ a_w لأنواع مختلفة من الجبن . وفيما يلى بعض المعادلات المختارة لحساب a_w لأنواع مختلفة من الجبن على النحو التالى:

١- الجبن غير المسواه unripened cheese

$$a_w = 0.9719 - 0.0044 (\text{NaCl}) + 0.0041 \text{ pH}$$

٢- الجبن المسواه بالبكتريا bacterial ripened cheese

$$a_w = 1.0234 - 0.0070 (\text{Ash})$$

٣- الجبن المسواه بالفطر mold ripened cheese

$$a_w = 1.0058 - 0.0045 (\text{Ash}) - 0.0107 (\text{NPN})$$

أ - الجبن الطرية soft cheese

$$a_w = 0.9960 - 0.0029 (\text{Ash}) - 0.0106 (\text{NPN})$$

ب- جبن معرفة بالفطر blue cheese

$$a_w = 0.9808 - 0.0058 (\text{Ash}).$$

٤- جبن مطبوخة processed cheese

$$a_w = 0.9951 - 0.0032 (\text{Ash})$$

٥- جميع أنواع الجبن ذات a_w أعلا من ٠,٩

$$a_w = 0.9450 - 0.0059(\text{NaCl}) - 0.0056(\text{NPN}) - 0.0019 [(\text{Ash}) - (\text{NaCl})] + 0.0105 \text{ pH}$$

حيث أن NPN النتروجين غير البيروتيني (النتروجين الذائب فى ١٢٪ TCA) و جميع مكونات الجبن الكيماوية يعبر عنها بالجرام / ١٠٠ جرام رطوبة .

ويمكن تقدير a_w فى الجبن الطازج بواسطة محلول مركز من NaCl ، حيث ترتبط تركيز المحاليل الملحية بالمول (m) بالنشاط المائى ، من خلال هذه العلاقة :

$$a_w = 1 - 0.033 [\text{NaCl}_m]$$

لحساب الحد الأعلى لـ a_w للجبن غير المسواه بدقة عالية بشرط أن يكون تركيز محلول NaCl لا يزيد عن ١,٢ مول . قيم a_w الحقيقية دائما تكون أقل ويرجع ذلك الى وجود مواد ذائبة أخرى .

ولتبسيط ذلك فإن المعادلة تصبح على النحو التالى :

$$a_w = 1 - 0.00565 [\text{NaCl}]$$

التي تستخدم للخبثرة المملحة salted curd والجبن الطازجة (حديثة العمر) والتي يكون فيها تركيز الملح فى الرطوبة salt-in-moisture أقل من ٧ جرام / ١٠٠ جرام ماء .

وقد وجد أن a_w لنوع من الجبن المسواه بالبكتريا ترتبط مباشرة بمحتواها من الرطوبة من خلال المعادلة التالية :

$$a_w = 0.7662 + 0.0046 (g H_2O/100 g cheese)$$

ولكن أيضا تكون أكثر ارتباطا (عكسيا) بمحتوى الرمد في الرطوبة . وقد وجد أن هذه المعادلة يمكن استخدامها لعدد من أنواع الجبن المسواه بالبكتريا . ومع ذلك لم تختبر لبعض أنواع من الجبن الرئيسية مثل التشدر والأنواع الهولندية والسويسرية والإيطالية . حيث أن ثوابت الانحدار regression constant تختلف كنتيجة لبعض الصفات المميزة للجبن (التمليح ، الحجم والشكل ، التغليف أو التشميع ، السمط ، تخمر حمض البروبيونيك ، تحلل الدهن بواسطة أنزيم الليباز المضاف). وقد اقترحت المعادلة التالية لتقدير a_w في الجبن المسواه بالفطر :

$$a_w = 1.0076 - 0.0079 (Ash)$$

محتوى NPN في الجبن يؤثر أيضا على a_w لهذه الجبن ولكن في البحث عن الارتباطات بين a_w وكمية الرمد في الرطوبة لمجاميع الجبن التي يحدث بها تحلل البروتين بدرجات مختلفة ولكن متماثلة في خلال كل مجموعة (أى الجبن التى تسوى بالبكتريا أو الفطر). محتوى NPN ، أقل في الجبن المسواه بالبكتريا عن الجبن المسواه بالفطر ، قد يؤثر (بدرجة تناسب مع محتوى الجبن من NPN) على انخفاض a_w فى جميع الجبن فى كل مجموعة ولذلك فإنه لا يؤثر بدرجة محسوسة على الارتباطات مع محتوى الرمد فى كل مجموعة .

يمكن تقدير a_w للجبن المسواه بالفطر الأبيض ليس فقط من المعادلة (أ٣) السابقة ولكن أيضا من العلاقات الأخرى التى تكونت بواسطة الارتباطات البسيطة :

$$a_w = 0.9769 - 0.0019 (Ash)$$

$$a_w = 0.9793 - 0.0101 (NPN)$$

a_w للجبن المعرقة بالفطر يمكن تقديرها من المعادلة (٣ ب) :

$$a_w = 1.0013 - 0.0051 (Ash) - 0.0056 (SN)$$

حيث أن SN تعنى محتوى الجبن من النيتروجين الذائب عند pH ٤,٦ . المعادلة (٥) يمكن استخدامها فى جميع أنواع الجبن والتي تكون فيها a_w أعلى من ٠,٩ ، وهى ذات قيمة علمية أكثر من قيمتها العملية وبالرغم من أنها تعطى نظرة شاملة للعوامل الكيماوية الرئيسية الأربعة والعامل الطبيعي الرئيسى الذى يؤثر على النشاط المائى فى الجبن فإن الأمر يتطلب الحصول على بعض النتائج التى يمكن استخلاصها بسهولة من نتائج البحوث

السابقة (جداول التركيب الكيماوى) ولذلك فإنه يجب تقديرها معمليا بطرق أكثر تعقيدا عن الطرق المستخدمة فى قياس a_w وعلى أية حال فإنه قد تم إستخدامها بنجاح لمئات من عينات الجبن لعدد من الأنواع ولكن لا يمكن إستخدامها لبعض أنواع من الجبن المعرقة بالفطر Blue cheese (a_w أقل من ٠,٩) كما تكون النتائج مبالغ فيها لقيم a_w للجبن المسواه سطحيا بالفطر .

٤- النشاط المائي فى الجبن

تعتبر صناعة الجبن بصفة أساسية وسيلة لحفظ مكونات اللبن لمدة قصيرة أو متوسطة مع وجود صفات أساسية مثل إنخفاض pH والنشاط المائي (a_w) . يعتبر اللبن مادة سريعة الفساد نظرا لأرتفاع a_w حيث يصل الى ٠,٩٩٥ ويتراوح pH من ٦,٥-٦,٧ بينما الجبن يكون أكثر ثباتا فى التخزين لفترة أطول أى ذات مدة حفظ أطول حيث يكون أقل عرضة للفساد نظرا لإنخفاض pH ، a_w . خلال المراحل الأولى فى صناعة الجبن يكون a_w حوالى ٠,٩٩ حيث يأخذ فى الإنخفاض طبقا لعمليات التصنيع المستخدمة فى كل نوع من الجبن . عموما فإن الجبن الأكثر جفافا (أعلا فى المواد الصلبة اللاذهنية MFFC) تكون أقل فى قيم a_w على عكس الجبن الأكثر طرواة (أقل فى MFFC) تكون أعلا فى قيم a_w . ويعتبر قيم a_w على درجة كبيرة من الأهمية عند الأخذ فى الاعتبار صفات التسوية وقوة حفظ ومدة تخزين أنواع الجبن المختلفة بعد ذلك . بعد التمليح والتسوية بصفة عامة فإن قيم a_w تكون أقل من القيم المثلى اللازمة لنمو بكتريا البادئات وبالتالي فإن a_w تنظم أو تحد من نشاط ونمو الميكروبات خلال فترة التسوية ومدة الحفظ المتوقعة للجبن . لذلك فإن جبن مثل البرمسان التى تكون a_w فيها منخفضة نسبيا (٠,٩٠) تسوى ببطء ويكون pH فيها مرتفع نسبيا ومدة الحفظ تزيد عن سنتين .

فى الجبن الطرية مثل الكوارج Quarg أو Cottage حيث تكون قيم a_w مرتفعة (٠,٩٩) وبالتالي فإن نشاط بكتريا البادئ يكون عاليا بدرجة كبيرة مما يؤدي الى خفض pH بدرجة ملحوظة مع فترة حفظ قصيرة فى حدود أسبوعين . جبن الكمببر حيث تكون قيم a_w ٠,٩٨ و pH فى البداية فى حدود ٤,٦ يتم تسويتها فى فترة قصيرة نسبيا (٤-٨ أسابيع) وتكون أقصى فترة حفظ لها ٨-١٢ أسبوع . تتراوح قيم a_w فى الجبن الطرية والنصف طرية بصفة عامة من ٠,٩٦-٠,٩٩ ، pH من ٤,٣-٥,٠ ومدة حفظ تتراوح من ٢-١٢ أسبوع تحت درجات حرارة التبريد . لذلك ينظر الى هذه المنتجات على أن مدة حفظها قصيرة وتحتاج الى نظام تبريد يبدأ من الصناعة حتى الأستهلاك .

تتراوح a_w في الجبن عادة بين ٠,٧-١,٠ بالرغم من أن معظم الأنواع يكون فيها a_w أعلا من ٠,٩ (جدول ٢-١٠) ويرجع هذا الاختلاف ، بالإضافة الى نوع الجبن من حيث محتوى الرطوبة ، إلى الاختلاف في النشاط الأيضي metabolism للميكروبات في أنواع الجبن المختلفة وأنفراد المكونات الطيارة على مراحل والتي قد تتداخل مع تقدير a_w بواسطة بعض الطرق .

جدول ٢-١٠ : النشاط المائي (a_w) في بعض أنواع من الجبن

a_w	الجبن
٠,٩٩	الكوارج ، Cottage
٠,٩٨	مطبوخة
٠,٩٧	الكممبير والبراي والأمينثال
٠,٩٦	الأيدام والتليست
٠,٩٥	التشدر ، الجودا ، الجرويير والجروجونزلا
٠,٩٤	الموزاريلا ، رومانو وستليتون
٠,٩٢	البرمسان
٠,٩١	البرفلونو والركفور
٠,٩٠	الجمالوست

النظام البيئي في الجبن ليس ثابتا نتيجة للتغيرات التي تطرأ على محتوى الجبن من الماء والصفات الطبيعية والكيميائية والبيولوجية نتيجة لنشاط الميكروبات الموجودة في الجبن مما ينتج عنه فقد في الرطوبة وزيادة في المواد الذائبة ، مثل هذه التغيرات تقلل من النسبة بين الماء الحر والماء المرتبط في الجبن وتساهم في انخفاض a_w في الجبن خلال فترة التسوية. وكما لوحظ سابقا فإن هذه التغيرات تنتج من كل من الفقد في الماء (المذيب) من خلال التجفيف الطبيعي physical dehydration ومن تكوين أنواع جديدة من المواد الذائبة المنخفضة الوزن الجزيئي من خلال تحلل المكونات الأصلية . وفي حالة تسوية الجبن فالمكونات الكبيرة الحجم (مثل البروتينات والدهن والسكريات العديدة) التي يحدث لها تحلل مائي مثل الكربوهيدرات glycolysis ، البروتين proteolysis والدهن lipolysis تتأثر بالعوامل البيوكيميائية والميكروبيولوجية .

٤-١- النشاط المائي في الخثرة المملحة

يمكن النظر الى الجين المملحة بطريقة مبسطة كنظام طبيعي - كيميائي يتكون من نسيج (شبكة) بنائي structural matrix للمكونات ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة والقطبية ممتلاً جزئياً بالجليسيريدات الثلاثية غير المحبة للماء hydrophobic وجزئياً بالماء والذي بدوره يحتوي على المواد الذائبة المنخفضة الوزن الجزيئي . وبعض من الماء (حوالي ١٠٪) يكون مرتبط بالباراكازينات المرتفعة الوزن الجزيئي كماء غير مذيب non-solvent (ماء مرتبط) بينما باقى الماء ، الموجود على حالة حرة محتجز طبيعياً فى فراغات الشبكة ، يحفظ قدرته على الإذابة ولكن يكون الضغط البخارى له أقل من الماء النقى (a_w) نظراً لوجود NaCl المضاف عند التملح وبقايا اللاكتوز وأملاح اللبن (من الشرش) .

ونظرياً إذا كانت التفاعلات بين البروتينات والماء والأيونات الصغيرة التي تحدث فى خثرة الجين لا تؤثر بدرجة كبيرة على الضغط البخارى للوسط المائى الحر فإن قيم a_w القصوى فى أى جزء فى الخثرة المملحة يمكن حسابها بدقة كبيرة من المعادلات السابق ذكرها والتي تربط التركيز المولى للمحاليل الملحية بالنشاط المائى (a_w) لهذه المحاليل . وفى خلال المراحل الأولى من التملح فإن a_w للخثرة المملحة أو الجين الطازجة قد تكون ثابتة كنتيجة للتغيرات المستمرة الناتجة من أنتشار الماء فى البداية متجهاً إلى الخارج وتحلل الكربوهيدريت glycolysis أو نتيجة أنتشار الملح/الرطوبة لمعادلة أختلاف التركيز . وقيم a_w المذكورة للجين الطازجة هى فى الحقيقة متوسط قيم متحصل عليها من عينات ممثلة ومتجانسة للنتائج متحصل عليها عند وقت معين بعد الصناعة أو عند وقت غير معلوم خلال فترة حفظه تحت الظروف التجارية .

ومن الناحية العملية فإن تفاعلات البروتينات مع الماء والأيونات يجب أن تلغى تأثير كل منهما تقريباً عندما تكون a_w فى الجين الطازجة والمحتوية على نسبة رطوبة أعلا من ٤٠٪ محسوبة من تركيز NaCl فى الرطوبة الكلية التي تكون أعلا قليلاً من قيم a_w المقدرة فى عينات الجين . وقيم a_w الحقيقية فى الجين الطازجة أقل لحد ما من القيم المقدرة حسابياً (NaCl فى رطوبة الجين) ، وغالباً ما تكون نتيجة إنخفاض أضافى لضغط بخار الماء ناتج من المواد الذائبة المنخفضة الوزن الجزيئى غير NaCl (مثل اللاكتوز والأملاح فى الشرش المتبقى) .

لذلك فإن التملح هو أهم المعاملات التي تؤثر فى الأنتخفاض الأولى للضغط البخارى للماء فى خثرة الجين .

٤-٢- دور فقد الماء في انخفاض a_w

من المعروف أن صناعة الجبن أساساً عبارة عن عملية تجفيف والتي قد تستمر خلال فترة طويلة من التسوية قد تصل إلى أكثر من سنة . فإذا كان اللين يتم تركيزه إلى ٤ أضعاف فإن a_w في البداية تقريباً ٠,٩٩٥، تنخفض إلى حوالي ٠,٩٩٠، والتي تعادل إضافة ٢٥ جرام من NaCl لكل لتر من اللين. التجفيف يؤثر على اللين المملحة بدرجة أكثر وضوحاً بالنسبة لانخفاض a_w لذلك فإن جزء من الرطوبة الكلية تكون مرتبطة بالكازين (ماء مرتبط) لدرجة أن فقد الماء الحر نتيجة التبخير بمفرده يزيد من نسبة الماء المرتبط بالنسبة للرطوبة المتبقية الكلية كما أن تركيز المواد الذائبة في الماء الحر سوف يكون أكبر بكثير عن المتوقع من النسبة بين المواد الذائبة / الرطوبة الكلية .

تأثير التجفيف على النشاط المائي في الجبن يمكن تقييمه من معامل الارتباط بين a_w والرطوبة الكلية في الجبن أو تركيز المحلول المائي (بالجرام / ١٠٠ جرام رطوبة) لبعض المكونات الخاملة inert والتي تؤخذ كمقياس . لذلك فإن نتائج ٢٠ عينة من دفتين لنوع من جبن مسواه بالبكتريا تعطى علاقة مستقيمة ذات معنوية عالية بين محتواها من الرطوبة تتراوح بين ٢٠ - ٤٦٪ ، a_w من ٠,٩٨ إلى ٠,٨٥ مع معامل ارتباط $r = ٠,٩٨$.

معامل الارتباط بين محتوى الرمد في الرطوبة (جرام رمد لكل ١٠٠ جرام ماء) والنشاط المائي أعلا ($r = ٠,٩٩$) من المتوقع لعينات مماثلة في العدد نظراً لأن محتوى الرمد يعكس اختلاف كمية الملح المضافة في عمليات التصنيع . كما أن النتائج المتحصل عليها من ٨٢ عينة جبن مختلفة في قيم a_w في نطاق ٠,٩٩٤ - ٠,٨٧، أوضحت أن a_w يرتبط بالنتروجين الكلي ومحتوى الرمد ، الذي لم يحدث له تغيرات كمية أثناء التسوية ويعزى إليه الاختلافات في التملح على التوالي ، مع معامل ارتباط من ٠,٨ - ٠,٩ على التوالي أي أعلا من الناتج من أي مكون آخر أو معامل اختلاف (pH ، NPN ، NaCl) عند التعبير عنه على أساس نسبة الرطوبة . وعموماً فإنه يوجد معامل ارتباط مرتفع في معظم عينات الجبن لأنواع مختلفة من الجبن بين a_w والمواد اللادھنية في الجبن (MFFC) يصل إلى ٠,٩ .

ومن الملاحظات السابقة يمكن القول أن فقد الماء الحر من الجبن نتيجة التملح (خلال عملية التجفيف وطوال فترة التسوية) يعتبر أهم عملية فردية يرجع إليها الزيادة في تركيز المواد الذائبة والانخفاض المصاحب في a_w في معظم أنواع الجبن وخاصة في الجبن الجافة المسواه بالبكتريا لفترة طويلة . ومن الاستثناءات لهذه الملاحظة ، الجبن الطازجة ، التي تغلف بأغشية غير نافذة للرطوبة والأنواع المسواه بالفطر والتي تكون في حالة أتزان

مع الرطوبة النسبية المرتفعة في هواء غرف التسوية خلال فترات التسوية .
لذلك فإن تركيز جميع المكونات الكيماوية المتضمنة في المعادلات المستخدمة في تقدير a_w يجب أن يعبر عنها على أساس نسبتها في الرطوبة .

٤-٣- مساهمة تحلل الكربوهيدريت في انخفاض a_w في الجبن الطازج

يعتبر تحلل الكربوهيدريت من أول التغيرات البيوكيماوية التي تساهم في انخفاض الضغط البخارى في الجبن الطازج نتيجة زيادة أعداد الجزئيات والأيونات الذائبة .حامض اللاكتيك الناتج من تخمر اللاكتوز يمثل زيادة في عدد الجزئيات تصل إلى ٤ أضعاف حيث أن تحلل مول واحد من اللاكتوز يعطى نظرياً ٤ مول من حمض اللاكتيك وبالتالي فإن كفاءته تصل إلى ٤ أضعاف كفاءة اللاكتوز في خفض الضغط البخارى .
وتحتوى خثرة المنفحة على بعض المكونات غير العضوية ، أساساً فوسفات الكالسيوم الغروية وكميات محسوسة من مغنسيوم جسيمات الكازين وبعض السرات والتي تتحول إلى الحالة الذائبة خلال عملية تخمر الكربوهيدريت وبالتالي تسبب انخفاضاً أكبر في a_w .

أنخفاض pH الناتج من حمض اللاكتيك المتكون من تخمر اللاكتوز يؤثر على أتران فوسفات الكالسيوم بزيادة كمية كل من الكالسيوم الذائب والكالسيوم الأيونى والفوسفات الذائبة على حساب فوسفات الكالسيوم الغروية $Ca_3 (PO_4)_2$. لذلك فإن دور pH يكون أكثر تأثيراً عن دور حمض اللاكتيك .

٤-٤- مساهمة تحلل البروتين في انخفاض a_w في الجبن المسواه بالفطر

بعد الأنخفاض الأولى في a_w في خثرة الجبن نتيجة التمليح والفقد التدريجى في الرطوبة أثناء تسوية كثير من أنواع الجبن والذي يعتبر أكثر أهمية في انخفاض a_w ، فإن تحلل البروتين يعتبر أهم التغيرات البيوكيماوية التي تساهم في انخفاض a_w أثناء تسوية الجبن (وخاصة من خلال نشاط الفطر) نتيجة تكوين مواد ذائبة منخفضة الوزن الجزئى نتيجة تحلل البروتين التدريجى والمتزايد .

العوامل الرئيسية لتحلل البروتين في الجبن هي المنفحة ، أنزيمات اللبن وبكتريا البادئ. في جميع أنواع الجبن فإن α_1 -casein هو الهدف الرئيسى لتحلل البروتين بواسطة بقايا المنفحة ، التي تنتج ببتيدات عديدة polypeptide كنتاج رئيسى من هذا التحلل ذائب في الماء . والبلازمين ، أنزيم البروتينيز الرئيسى في اللبن ، يحلل β -casein منتجاً أيضاً نواتج عديدة ذائبة من ببتيدات وبروتوز بيتون. جميع هذه النواتج الرئيسية من تحلل

البروتين والناجمة بفعل المنفحة والبلازمين من α_1 -caseins ، β - على الترتيب تكون بيتيدات عديدة مرتفعة الوزن الجزئى نسبياً (نيتروجين ذائب SN عند pH 6,6) التى يكون لها تأثير ضئيل على a_w والذى يتضح من عدم وجود ارتباط معنوى .

من ناحية أخرى بالرغم من أن بكتريا حمض اللاكتيك المستخدمة كبادئات فى الجبن تكون قدرتها على تحلل البروتين ضعيفة وتحتوى على أنواع من أنزيمات البروتينيز والبيتيديز والتى فى مجموعها تكون قادرة على تحلل β -casein أساساً وكذلك البيتيدات العديدة الكبيرة والمتوسطة ، إلى بيتيدات أصغر وأحماض أمينية حرة لذلك تكون مسئولة بصفة رئيسية عن تكوين NPN (نيتروجين ذائب SN فى ١٢٪ TCA) والذى بدوره يكون له تأثير قوى على a_w . كمية المكونات النيتروجينية الذائبة (فى صورة بيتيدات ذات أوزان جزئية مختلفة وأحماض أمينية) الناتجة من جبن الجودا المصنوعة تحت ظروف معقمة نتيجة الفعل المشترك أو المنفرد للمنفحة ، بروتينيز اللبن وبكتريا البادىء قد تم تقديرها .

وفى الجبن المسواه بالفطر يتحلل البروتين إلى درجة أكبر بكثير عن الجبن المسواه بالبكتريا . وفى الجبن المسواه سطحياً بالفطر والجبن المعرقة بالفطر Blue cheese فإن المواد النيتروجينية الذائبة SN تمثل ٣٠ - ٦٠٪ ، ٥٠ - ٧٥٪ من النيتروجين الكلى على التوالى . عمق تحلل البروتين يكون أكثر أهمية من درجة تحلل البروتين بالنسبة لـ a_w والناتج من فعل أنزيمات الفطر (أنزيمات البروتينيز الخارجية الحامضية والمتعادلة التى تفرز بواسطة *P. roqueforti* ، *P. camemberti* ، فى Blue cheese ، أنزيمات السيروتينيز والبيتيديز الداخلية الناتجة من تحلل ميسليوم الفطر) التى قد تحول إلى NPN بنسبه تصل إلى ٢٠ - ٤٠٪ من النيتروجين الكلى فى الجبن الطرية وحتى ٤٠ - ٧٥٪ من النيتروجين الكلى فى الجبن المعرقة بالفطر والتى تمثل فيها الأحماض الأمينية الحرة حوالى ١٠٪ من النيتروجين الكلى . لذلك فإن المكونات النيتروجينية المنخفضة الوزن الجزئى تلعب دوراً أكثر أهمية عن عملية التحفيف فى انخفاض a_w فى الجبن المسواه بالفطر حيث أن الرطوبة تفقد لدرجة محدودة فقط بعد رفع الجبن من غرف التسوية . لذلك فإن محتوى NPN يجب أن يؤخذ فى الاعتبار عند تقدير a_w بدقة أكبر فى الجبن المسواه بالفطر .

٤-٥- مساهمة تحلل الدهن فى انخفاض a_w فى الجبن أثناء التسوية

العلاقة بين تحلل الدهن أثناء التسوية والانخفاض فى a_w ما زالت غير واضحة وتسوية معظم الجبن عادة تكون مصحوبة بمستوى منخفض من تحلل الدهن حيث يشمل أقل من ٢٪ من الجليسيريدات الثلاثية . ومع ذلك كما فى تحلل البروتين فإن تحلل الدهن فى الجبن المسواه بالفطر يكون بدرجة أكبر وقد يصل إلى ٢٠٪ من الجليسيريدات الثلاثية . فى الجبن

المعركة بالفطر يحدث تحلل الدهون أساساً بفعل أنزيمات الليباز الناتجة من *P.roqueforti* بالرغم من أن أنزيم ليباز اللبن الطبيعي قد يساهم أيضاً لدرجة معينة خاصة في جبن اللبن الخام .

أنواع الجبن الإيطالية الجفافة (البرمسان والرومانو) يحدث بها أيضاً تحلل الدهون بدرجة كبيرة أثناء التسوية بواسطة أنزيم الأستريز المعوية من عجينة المنفحة *rennet paste* الذى يودى إلى انفصال الأحماض الدهنية الذائبة (قصيرة السلسلة) من الجليسيريدات الثلاثية لينتج كميات كبيرة نسبياً من حمض البيوتريك وبالرغم من أن a_w يؤثر على تحلل الدهون في جبن الرومانو فإن محتوى الأحماض الدهنية الحرة (FFA) تزيد مع a_w . ومن غير المؤكد أن العكس صحيح ، أى أن المستويات المرتفعة من الأحماض الدهنية الحرة قصيرة السلسلة تخفض a_w بدرجة كبيرة .

وبدون شك فإن الأحماض الدهنية الحرة والجليسيريدات الأحادية والثنائية الناتجة من تحلل الليبيدات ، تتفاعل بطرق مختلفة مع جزئيات الماء وبالتالي يؤثر على التركيب الطبيعي وصفات الماء ، ومع ذلك فإنه كقاعدة فإن الأهمية العملية لهذه التفاعلات فى انخفاض الضغط البخارى للماء (a_w) يكون ضئيل جداً يمكن التغاضى عنه بالمقارنة بالانخفاض الناتج من التحفيف ، التمليح وتحلل البروتين والكربوهيدرات .

ومن ناحية أخرى ، بالرغم من أن الجليسرول له تأثير خافض للـ a_w ويستخدم كمادة مقاومة للرطوبة ، مقاومة للتجميد *antifreeze* أو مقاومة للتبريد فإن كمية الجليسرول الحر الناتج من التحلل الكلى للروابط الثلاثة فى جزئى الجليسيريدات الثلاثية (بأستخدام ليباز البنكرياس) يجب أن يكون ضئيل جداً ليحدث تأثير يمكن قياسه فى معظم أنواع الجبن .

بالرغم من أن تحلل الدهون من المحتمل أن يكون له تأثير ضئيل على a_w فى كثير من الجبن المسواه بالبكتريا (مثل الجودا ، التشدر ، الجرويير والتي يمثل فيها الأحماض الدهنية الحرة أقل من ٣٪ من الأحماض الدهنية الكلية) وحتى فى الجبن المسواه بالفطر الناتج من فعل الفطريات السطحية (الكمبر ، البراي ٣ - ١٠٪ أحماض دهنية حرة) أو الفطريات الداخلية (مثل الرقفور ١٠ - ١٥٪ أحماض دهنية حرة) فإنها تبقى لمعرفة إذا كان تأثير تحلل الدهون على بعض أنواع الجبن المعركة بالفطر (*Cabrales* , *Danablu*) ، ١٥ - ٢٠٪ أحماض دهنية حرة) وخاصة على الجبن المضاف إليها ليباز ، والتي فيها الأحماض الدهنية الحرة تمثل أكثر من ٢٠٪ من الأحماض الدهنية الكلية ، يجب أن تؤخذ فى الاعتبار فى وضع المعادلات للجبن المعركة بالفطر أو للجبن الإيطالية (مثل البرمسان

والبرفولونو والرمانو) .

تأثير الأحماض الدهنية الحرة الكلية (كدليل على تحلل الدهن) على انخفاض a_w فى الجبن المعرقة بالفطر المسواه لفترات طويلة ما زال يحتاج إلى دراسة . ومع ذلك فإنه من الأفضل اختيار جبن الرومانو (٣٠ - ٤٥٪ أحماض دهنية حرة) كنموذج نظام model system والذي يتحدد فيه دور تحلل الدهن فى خفض a_w وتكوين عدة علاقات خطية :

$$a_w = a - b (\text{Ash}) - c(\text{FFA})$$

والتي يمكن استخدامها للجبن الإيطالية الجافة فى ضوء :

(أ) على عكس الجبن المعرقة بالفطر ، فإن مستوى ونوع تحلل البروتين فى هذه الجبن يكون عادى ومماثل لما هو موجود فى معظم الجبن النصف الجاف والجبن الجافة المسواه بالبكتريا .

(ب) تفقد هذه الجبن رطوبة أكثر عن الجبن المسواه بالفطر وبالتالي تعطى أسس مختلفة بدرجة أكبر للتعبير عن تركيز الأحماض الدهنية الحرة والرماد .

(ج) ارتفاع نشاط الأستريز فى هذه الجبن يودى إلى تحلل الجليسريدات الثلاثية وبالتالي أفراد أحماض دهنية حرة ذائبة فى الماء قصيرة السلسلة ($C_6 - C_{10}$) وخاصة حمض البيوتريك ، بدرجة أكبر عن الأنواع الأخرى من الجبن .

٤-٦- العوامل الرئيسية التي تؤثر على انخفاض a_w فى الجبن

تلعب العوامل الطبيعية الكيماوية الرئيسية دوراً هاماً فى انخفاض a_w أثناء تسوية الجبن ، من أهم هذه العوامل والتي تؤثر على a_w فى الجبن :

- محتوى الرطوبة فى جميع أنواع الجبن .
- نسبة الرطوبة الكلية / المواد الصلبة اللادهنية فى الجبن الجافة والشديدة الجفاف .
- محتوى الجبن من NaCl .
- pH فى حالة الجبن الطازجة غير المسواه .
- محتوى الرماد فى جميع أنواع الجبن .
- محتوى النتروجين اللابروتينى (NPN) فى الجبن المسواه بالفطر .
- محتوى الأحماض الدهنية الحرة الكلية أو الأحماض الدهنية الحرة الذائبة فى الماء (C_2-C_{10}) فى الجبن المعرقة بالفطر Blue cheese وفى أنواع الجبن الجافة المضاف إليها ليبيز .

٥- تفاعلات a_w مع عوامل أخرى بالنسبة لقوة حفظ وسلامة الجبن

٥-١- العوامل الطبيعية الأساسية

تشمل العوامل الطبيعية الأساسية فيما يتعلق بقوة حفظ الأغذية درجة الحرارة و a_w للبيئات الصلبة والسائلة (والرطوبة النسبية ، $ERH = 100 \times a_w$ للبيئات الغازية) pH ، جهد الأكسدة والأختزال (E_H) . النشاط الميكروبي يمكن أن يحدث فقط في نطاق من درجات الحرارة حوالي ١٠٠ درجة (يبدأ من مرحلة أنتقال الماء السائل من حوالي ١٠٠°م للبيئات المقاومة للبرودة إلى ٩٠°م) . وبالرغم من أن الميكروبات بصفة عامة تتأقلم على درجة الحرارة للنظام البيئي الطبيعي التي تعيش فيه فإن هناك مدى أكثر تحديداً من درجات الحرارة للمجموعات الميكروبية المختلفة (مثل المحبة للبرودة psychrophiles ، والمقاومة للبرودة psychrotrophs ، المحبة للحرارة المعتدلة mesophiles والمحبة للحرارة المرتفعة thermophiles ، جميع هذه الميكروبات لها درجات حرارة مثلى ودنيا وقصى والذي يختلف داخل كل جنس ونوع وسلالة .

يعتبر a_w ثاني أهم العوامل الطبيعية الحرجة بالنسبة لميكروبيولوجيا الأغذية . ويتراوح نطاق a_w من صفر إلى ١,٠ ولكن النشاط الميكروبي microbial metabolism يتم عادة عند قيم a_w في نطاق أعلا من ٠,٦ حيث يكون هناك ماء حر غير مرتبط (مفيد للميكروبات) قريب جداً من الوحدة (أى ٠,٩٩٩) حيث يوجد كميات كافية متاحة من العناصر الغذائية الذائبة . معظم الميكروبات تحتاج إلى أكثر من الماء العادي (أى بعض العناصر الغذائية) لتنمو وتبقى . قيم a_w المثلى والقصى لمعظم الميكروبات قريبة جداً من الوحدة (البكتيريا المرضية وكثير من الميكروبات الأخرى تنمو بدرجة أسرع عند قيم a_w في نطاق ٠,٩٩٥ إلى ٠,٩٨٠) وقيم a_w الدنيا للنمو وإنتاج التوكسين تعتبر من أهم العوامل المرتبطة بتكنولوجيا حفظ الأغذية وحماية الصحة العامة . قيم a_w لمعظم بيئات مزارع البكتيريا الشائعة تقع في نطاق ٠,٩٩٩ إلى ٠,٩٩٠ . بالرغم من أن هناك بعض البكتيريا extremophilic لها القدرة على النمو في بعض الأغذية الجافة عند قيم منخفضة من a_w (من البكتيريا المحبة للملوحة halophilic ، الخمائر المقاومة للتركيزات المرتفعة من السكر osmotolerant والمحبة للتركيزات المرتفعة من السكر osmophilic ، إلى فطريات xerophilic fungi القادرة على النمو على الأغذية الجافة) والتي تتطلب بيئات نمو خاصة ذات قيم a_w أقل من ٠,٩٨ . البيئات الخاصة المناسبة لمثل هذه الميكروبات تتراوح فيها a_w من ٠,٩ إلى ٠,٧ .

من المعروف أن تركيز أيونات الأيدروجين التي يعبر عنها بمقياس pH يؤثر على حياة وموت الميكروبات ، حدود النمو للميكروبات يختلف فى نطاق واسع من pH (١ - ١١) . وكقاعدة فإن قيم pH القصوى للنمو متماثلة للبكتريا ، الخمائر والفطريات ولكن الخمائر والفطريات تنمو عند pH أقل بكثير عن البكتريا . وبالرغم من النمو الأمثل للبكتريا عادة يكون عند قيم pH قريبة من ٧ ، فإن بكتريا حمض اللاكتيك وغيرها من البكتريا تنمو بدرجة مثلى بين pH ٥,٥ أو أقل و ٦ .

أهمية جهد الأكسدة والأختزال (E_h) بالنسبة للميكروبات غير واضحة تماماً . نطاق E_h للتفاعلات الكيماوية الكهربية electrochemical يكون فى حدود حوالى ± 3 فولت ولكن نمو البكتريا يكون فى نطاق $E_h \pm 0,5$ فولت . بينما بعض الميكروبات التى تحتوى على نظام واحد لإنتاج الطاقة تكون نشطة فى نطاق ضيق نسبياً من E_h ، البعض الآخر يحتوى على أنظمة بديلة التى يمكن تنشيطها أو إيقافها بواسطة E_h أو وجود أو غياب الأكسجين ، والميكروبات الهوائية إجبارياً تستخدم الأكسجين كمستقبل طرفى terminal acceptor للألكترون فى التنفس بينما اللاهوائية إجبارياً يمكن أن تنمو فقط عند قيم E_h منخفضة (سالبة) والبعض ينمو فى غياب الأكسجين الجزئى . ومن ناحية أخرى فإن البكتريا اللاهوائية اختيارياً (مثل *Lactobacillaceae*) يمكن أن تستخدم الأكسجين كمستقبل طرفى terminal acceptor للألكترون ولكن فى غياب الأكسجين يمكن أن تستخدم أيضاً أنواع مختلفة من مستقبلات الألكترون . فى المزارع الميكروبية المختلفة قد تتراوح E_h من حوالى + ٣٠٠ mV للميكروبات الهوائية إلى أقل من - ٤٠٠ mV للميكروبات اللاهوائية .

وبالرغم من ان كل عامل قد يؤثر بمفرده على النشاط الميكروبي وقد يكون قاتل عند مستويات غير عادية ، إلا أن جميع هذه العوامل عادة تتفاعل مع بعضها أو بالتبادل فى التأثير على حياة وموت الميكروبات .

٥-٢- التفاعل بين العوامل الطبيعية

نظرياً فإن كل عامل من العوامل الطبيعية الأربعة (E_h , pH , T , a_w) يمكن أن تستخدم تكنولوجيا لأيقاف التفاعلات الكيماوية والأنزيمية إذا وصل واحد منهم إلى الحد المثبط حتى إذا بقيت العوامل الثلاثة الأخرى عند حدودها المثلى . ومع ذلك فإن هذه العوامل بالرغم من وجودها على حالة نشطة إلا أنه يمكن الحصول على نفس التأثير المثبط باستخدام قيم أقل من الحدود المثلى لعاملين أو أكثر .

يعتبر الجبن والمنتجات المتخمرة مثل السجق النصف جاف تطبيق نموذجي للاستفادة

من التأثير الفعال لـ a_w مع pH في حفظ الأغذية . التأثير المثبط المشترك لهذين العاملين على مقاومة الميكروبات يكون additive (أى عند أى قيم a_w معينة ينخفض نشاط الميكروبات ياخفض pH والعكس صحيح) أو أكثر تعاونى synergistic (أى أن تأثير انخفاض a_w , pH على مقاومة الميكروبات المسببة للفساد أو المرضية يتحسن بالتبادل) . تتكاثر السالمونيلا *Salmonella* عند $a_w = 0,971$ ، $pH = 5,8$ ومع ذلك فإذا أنخفض pH إلى 5,0 فإن قيم a_w الدنيا ترتفع إلى 0,986 أو أعلا كما لوحظ سلوك مماثل لهذا التأثير بالنسبة *Staphylococcus aureus* . وعموماً فإن أنواع الجبن المرتفعة فى a_w و pH تكون أقل ثباتاً عن الأنواع المنخفضة فى هذين العاملين . عادة يكون تأثير pH أكثر فاعلية فى الجبن الطازجة والمعرقه بالفطر بينما تأثير a_w يكون عادة أكثر فاعلية فى الجبن الجافة والشديدة الجفاف وهناك كثير من الاحتمالات المعروفة التأثيرات الثنائية المشتركة والتي سوف يذكر بعض أمثلة لها . حدود درجة الحرارة و pH لمقاومة ونمو البكتريا المرضية الرئيسية فى الجبن قد تم تقديرها (جدول 3-10) ، فإذا كان أى من العاملين عند قيمته المثلى بالرغم من أن العامل الآخر يكون أقل من قيمته المثلى فإن معدل نمو الميكروب المعنى يكون أعلا عما إذا كان كل من العاملين أقل من قيمتهما المثلى . بعض التأثيرات الثنائية مع a_w يكون مرتبط مع درجة الحرارة وإزالة الأكسجين أو انخفاض E_h (مثل الحد الأدنى a_w لنمو *S.aureus* يكون 0,86 تحت ظروف هوائية ، 0,9 تحت ظروف لا هوائية) بينما *C.botulinum* عند الحد الأمثل a_w ، والذي يكون مرتفعاً جداً ، ينمو جيداً فى نطاق +60 إلى -400 mV ولكن عند E_h أقل (-400 mV) فإن انخفاض بسيط فى a_w (0,98) عند إضافة NaCl يقلل بدرجة كبيرة احتمال نمو الجراثيم .

ومثال للتأثير المشترك لثلاثة عوامل طبيعية على إمكانية حدوث فساد ميكروبي للأغذية أو تسمم غذائى موضح فى الجدول (4-10) وفيه القيم الدنيا للثلاثة عوامل (T ، a_w ، pH) والتي تسمح بنمو الميكروبات المسببة للأمراض المنقولة عن طريق الغذاء موضح أيضاً فى هذا الجدول، فإذا كان عاملين من هذه العوامل عند قيمتهما المثلى فإن النمو يحدث عند قيم غير عادية للعامل الثالث ولكن نطاق النمو يكون محدود عندما يكون العاملين الآخرين عند قيمتها الأقل من المثلى . عند 37°م فإن نمو *C.botulinum* نوع A يحدث عند $a_w = 0,94$ ، pH 7,0 بينما عند pH 5,3 فإن الحد الأدنى للـ a_w يرتفع إلى 0,99 .

جدول ٣-١٠ : نطاق درجة الحرارة و pH لمقاومة ونمو بعض البكتريا المرضية في الجبن

مستوى المخاطرة في الجبن	البكتريا المرضية	درجة حرارة (م°)		pH	
		أقصى	أدنى	أقصى	أدنى
مرتفع (High)	<i>Salmonella paratyphi</i>	٥٧	٦,٥	٤,٦	١٠,٠
	<i>S.senftenberg</i>	٤٧	٧,٠	٤,٧	١٠,٠
	<i>Listeria monocytogenes</i>	٤٥	١٠,٠	٤,٨	٩,٦
	<i>Escherichia coil (EEC)</i>	٤٥	٢,٥	٤,٦	٩,٥
متوسط (Medium)	<i>Yersinia enterocolitica</i>	٤٤	١٠,٠	٤,٤	٩,٠
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	٣٨	٣٠,٠	٦,٣	٧,٨
منخفض (Low)	<i>Staphylococcus aureus</i>	٤٨	٧,٠	٤,٠	٩,٨
	<i>Clostridium botulinum (A,B)</i>	٥٠	١٠,٠	٤,٧	٩,٠

٥-٣-٣- انتفاعلات الطبيعية ، الكيماوية والميكروبيولوجية في الجبن

بالإضافة إلى العوامل الطبيعية فإن المواد الكيماوية (المواد الحافظة preservatives) والميكروبيولوجية (الميكروبات المنافسة competitive flora) يجب أيضاً أن تؤخذ في الاعتبار بالنسبة لقوة حفظ وسلامة الأغذية بصفة عامة وفي الجبن بصفة خاصة .

الأضافات الكيماوية المختلفة الشائعة الاستخدام في صناعة الجبن (مثل H_2O_2 ، $NaCl$ ، $CaCl_2$ ، حمض السوربيك ، حمض البروبيونيك وغيرها من الأحماض ، النترات nitrate والنيتريت nitrite ...) قد تغير من العوامل الطبيعية (E_h ، pH ، a_w) من خلال التفاعلات ، بالرغم من أن بعضها أيضاً يحدث تأثيرات معينة على بعض الميكروبات. لهذا فإن H_2O_2 يزيد E_h ويحفظ اللبن الخام ، أضافة CO_2 إلى اللبن الخام والذي يخفض pH اللبن ويحد من نمو البكتريا المقاومة للبرودة psychrotroph كما يؤثر على مزارع البادئات وتكوين العيون في الجبن بواسطة البكتريا المنتجة للنكهة ، $CaCl_2$ يحسن من قابلية اللبن للتجبن بالمنفحة وأنكماش الخثرة وطرده الشرش منها syneresis ويخفض من a_w ويؤثر أيضاً على نمو بكتريا البادئ وبكتريا من غير البادئ ، ونشاط أنزيمات اللبن الطبيعية ، والأنزيمات المجبنة والميكروبية ، وجميع هذه الأنزيمات بدورها تؤثر على تسوية الجبن والتركيب الكيماوي ، وجوده وقوة حفظ وسلامة الجبن . حمض السوربيك وأملاحه من الكالسيوم ، الصوديوم والبوتاسيوم تكون فعالة جدا في منع نمو الخمائر والفطريات السطحية وإنتاج التوكسينات الفطرية mycotoxin . السوربات والبروبيونات والمواد الحامضية acidulants (أحماض السوربيك ، الخليك ، اللاكتيك ، الستريك) بالأضافة إلى

خفض pH فأنها تؤثر على مقاومة *Listeria monocytogenes* فى الجبن ، النتزات والنيترت (الذى يعتمد نشاطه المثبط للميكروبات على pH ، E_h ، a_w مثل تأثير NaCl) يبط نمو *Clostridium spp.* وبالتالي يمنع إنتاج الغاز المتأخر فى الجبن late bloating of cheese وهذه بعض أمثلة لتفاعلات العوامل الكيماوية والطبيعية والبيولوجية .

جدول ٤-١٠ : القيم الدنيا لثلاثة عوامل طبيعية التى تسمح بنمو بعض البكتريا المرضية فى الجبن.

مستوى المخاطرة فى الجبن	البكتريا المرضية	درجة الحرارة (م°)	a_w	pH
مرتفع (High)	<i>Salmonella spp.</i>	٥,٣	٠,٩٤	٤,٠
متوسط (Medium)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	٥,٠	٠,٩٤	٤,٨
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	صفر	-	٤,٤
منخفض (Low)	<i>Staphylococcus aureus</i>	٦,٧	٠,٨٦	٤,٥
	(toxin production) <i>Clostridium botulinum</i>	(١٠,٠)	(٠,٩٠)	-
	(A,B)	١٠,٠	٠,٩٤	٤,٧
	(E)	٣,٠	٠,٩٧	-
	<i>Clostridium perfringens</i>	١٢,٠	٠,٩٣	٥,٠
	<i>Bacillus cereus</i>	٧,٠	٠,٩٥	٤,٣

العوامل البيئية الطبيعية والكيماوية والميكروبية التى تشجع نمو أنواع أو سلالات معينة من البكتريا المختلفة المتواجدة فى الغذاء قد تسبب تأثيرات خاصة من خلال التنافس والتفاعلات المشتركة بين الأنواع المختلفة من البكتريا محدثاً تغيرات فى العلاقات الميكروبية السائدة التى يكون لها تأثير واضح على تنابع نمو الميكروبات فى الغذاء . تعتمد صناعة الجبن على التأثير الناتج من تفاعل بعض العوامل الطبيعية (a_w ، E_h ، pH ، T) الكيماوية (المواد الحافظة) والميكروبيولوجية (الميكروبات المتنافسة) تحت ظروف معتدلة أقل من المثلى لذلك فإن a_w فى صناعة وتسوية الجبن تلعب دوراً على جانب كبير من الأهمية فى البداية ودوراً أساسياً فى النهاية . المادة الخام سريعة الفساد (اللبن يحتوى على ميكروبات طبيعية ، a_w مرتفع ، pH قريب من التعادل ، E_h مرتفع نسبياً) عادة يحفظ عند درجة حرارة منخفضة ، يسخن إلى درجة حرارة البسترة للقضاء على الميكروبات غير المرغوبة الموجودة فى اللبن وخاصة المرضية ثم يحضن بميكروبات تنافسية (بكتريا حمض اللاكتيك) لتحداث تغيرات خاصة من خلال التنافس ، انخفاض فى pH و E_h للسيطرة على نمو الميكروبات المتبقية غير المرغوبة (المسببة للفساد) ثم تنخفض بعد ذلك a_w نتيجة

طرد الشرش من خلال أنكماش وكبس الخثرة ، تملح الخثرة وتجهيف وتسوية الجبن عند درجات حرارة منخفضة إلى أن يصبح النشاط المائي منخفضاً بدرجة كافية تزيد من حفظ الجبن تحت الظروف العادية (غير المبردة) . أثناء صناعة بعض أنواع من الجبن عادة يضاف مواد حافظة بخلاف الملح ، بعض أنواع الجبن يجرى لها عملية تدخين بعد الصناعة والتي تضيف مواد حافظة من الدخان smoke preservatives على سطح الجبن بينما الهواء الساخن يخفض من النشاط المائي .

تعتبر a_w العامل الرئيسي المحدد لقوة حفظ وسلامة الجبن لفترة طويلة ، معظم الجبن الجافة المسواه تكون لها قوة حفظ جيدة عند درجة الحرارة العادية وكثير من الجبن تتميز بقوة حفظ ذاتية self-stable products جيدة نظراً لانخفاض a_w فيها . الجبن المرتفعة في قيم a_w فقط تكون سريعة الفساد بدرجة ملحوظة وقد تسبب بعض حالات التسمم الغذائي ومن الضروري حفظها تحت التبريد حين أستهلاكها .

قد تتواجد البكتريا المرضية في الجبن المرتفعة a_w (مثل الجبن الطرية المسواه سطحياً مثل البراي والكمبير) ، الجبن الطازجة أو المسواه لمدة أقل من شهرين ، وتسبب بعض الأمراض مثل brucellosis (*Brucella abortus, B. melitensis*) ، listeriosis (*L. monocytogenes*) والشيجلا (*Shigella spp.*) أساساً كنتيجة لاستخدام اللبن الحام أو اللبن غير المبستر بكفاءة في صناعة الجبن ، لـ salmonellosis (*Salmonella*) ، botulism (*C. botulinum*) ، تسمم غذائي بالبكتريا العنقودية (*S. aureus*) وبعض الاضطرابات المعوية (*E. coli-EEC* المرضية ، *Y. enterocolitica*) نتيجة لتلوث الجبن بصفة أساسية بعد البسترة أو عدم كفاءة عملية بسترة لبن الجبن . وجود *Salmonella* ، *L. monocytogenes* ، *E. coli* (EEC) في الجبن تعطي أهمية خاصة لما تسببه من مخاطر صحية شديدة عند تناولها بينما *S. aureus* . يعتقد أنها تسبب خطورة أقل حيث يمكن بسهولة السيطرة عليها في صناعة الجبن . تعتبر المعاملة الحرارية المعتدلة (٦٥-٦٦م / ١٦-١٨ ثانية) كافية للقضاء على جميع الميكروبات المرضية الموجودة في اللبن والتي تعرض ثبات وسلامة الجبن لمخاطر كبيرة ، ومع ذلك فإنه يعتقد أنه لا يمكن للبسترة (نتيجة للتلوث بعد البسترة) أو أي عامل آخر بمفرده أن يؤكد السلامة الكاملة في الجبن وقوة حفظ جيدة للجبن الناتج .

بعض الجبن الجافة والنصف جافة وخاصة الأنواع الأيطالية (مثل الرومانو والبرمسان والريفلونو) التي تتميز بقيم a_w منخفضة نسبياً نادراً ما تسبب تسمم غذائي ولكن تكوين النيرامين والهستامين من خلال نزع مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الأمينية التيروسين

والمستدين على التوالي بواسطة أنزيم decarboxylase البكتيري قد تسبب بعض المخاطر الصحية ، من ناحية أخرى ، هذه الأمينات يمكن أن تتحلل بواسطة بعض مزارع البادئات المحتوية على نشاط mono-, diamine oxidase .