الفصل الرابع

تجـبن اللـبن
Coagulation of milk

١. مقدمة

صناعة الجبن يعتبر مثالاً تطبيقياً لعلوم الكيمياء الحيويـة والبيولوجيـة حيـث تستخدم الكائنات الحية الدقيقة فى إنتاج الحموضة فى صناعة الجبن بالأضافة إلى دورها فى تسـوية الجبن وأكساب الناتج النهائى الصفات المميزة لـه مـن حيـث الطعـم والنكهـة والـتركيب والقوام .

تحويل اللبن من الحالة السائلة إلى جل (خثرة) يعتبر خطوة اساسـية فـى جميـع أنـواع الجبن . تكوين الجل يكون نتيجة إلى أضعاف ثبات البروتين والذى يمكن إحداثـه بواسـطة بروتينيز حامضى مثل الكيموسـين (المكـون النشـط فـى المنفحـة) أو بـالتحميض إلى pH قريب من نقطة التعادل الكهربى للبروتينات أو بواسطة التحميض والتسخين .

تجبن اللبن فى صناعة الجبن يحتاج دائماً إلى إنزيمات ذائبة ويعتـبر الأنزيـم المجبن للـبن من المعدة الرابعة للعجول الرضيعة مـن أول الأنزيمـات التـى تمـت تنقيتهـا ويعـرف بـالرنين " rennin " ويطلق عليه حالياً " الكيموسـين chymosin" (المشـتقة مـن الكلمـة اليونانيـة "chyme" التى تعنى العصير المعوى) وذلك لتمييز هـذا الأنزيـم عـن أنزيـم renin الـذى يمكن أستخلاصه من الكلى . كان الكيموسين ، حتى فترة قريبة ، يسـتخدم علـى نطـاق واسع فى صناعة الجبن فـى صـورة مسـتخلص خـام crude extract أو عجينـة paste أو مسحوق powder معظم أنواع مستخلصات المنفحة الحيوانية المتوفرة تجاريـاً تحتـوى علـى البيسين pepsin .

زيادة الأتجاه فى كثير من الدول فى ذبح العجول عند عمر أكبر من المفـروض ، مـع التوسع فى صناعة الجبن على مستوى العالم أدى إلى نقـص واضـح فـى المنفحـة الحيوانيـة والأتجاه إلى استخدام بدائل المنفحة rennet substitutes من مصادر مختلفة ، حيـث لجـأت صناعة الجبن إلى تغطية أحتياجاتها بإستخدام عديد من الأنزيمات المحللـة للـبروتين التـى لهـا

صناعة الجبن عديد من هذه الأنزيمات بنجاح مرضى فى كثير من دول العالم ومن هذه المستحضرات البيسين من البقر والخنزير والدجاج وكذلك البروتينيز الحامضى من *Mucor miehei* وبدرجة أقل من *M.psuillus* أو *Endothia parasitica* ، وقد تم نقل جين كيموسين العجول calf chymosin gene إلى *A.niger* ، *E.coli* ، *K.lactis* وأصبح الكيموسين الناتج من هذه المصادر متوفر حالياً بالأسواق .

٢- المواد المجبنة

٢-١ المنفحة الحيوانية

تم دراسة عدة أنزيمات بروتينيز من أصل حيوانى من حيث مقدرتها على تجبن اللبن وقد وجد أن الكيموسين والبيسين من الأنزيمات التى لها أهمية كبيرة فى صناعة الجبن .

يتم تحضير المنفحة الحيوانية animal rennet بالطريقة التقليدية بأستخلاص معدات العجول الرضيعة التى سبق تجفيفها وتقطيعها إلى قطع صغيرة بواسطة محلول ملحى (١٠-١٢٪) . يتكون المستخلص الخام للمنفحة من الكيموسين النشط active chymosin والصورة غير النشطة من الكيموسين prochymosin أضافة حامض إلى هذا المستخلص لخفض pH إلى ٢- ٤,٦ يساعد على تحويل prochymosin إلى كيموسين وبذلك يصل المستخلص إلى أقصى نشاط له . يعدل pH المستخلص بعد ذلك إلى ٥,٥ - ٥,٧ مع رفع تركيز الملح إلى حوالى ٢٠٪ وإضافة مواد حافظة مثل بنزوات الصوديوم أو بروبيونات الصوديوم ثم يرشح المستخلص وتعدل قوته حتى يكون جاهزاً للإستخدام .

بالرغم من أن تنشيط الأنزيم يكون أسرع عند pH الأقل إلا أن عدم ثبات الكيموسين عند pH أقل من ٥,٠ فى وجود كلوريد الصوديوم يسبب إنخفاض المحصول . يتضمن تنشيط prochymosin أنفصال الببتيدات من نهاية N-terminal لـ prochymosin مع أنخفاض فى الوزن الجزئي من حوالى ٣٦,٠٠٠ إلى ٣١,٠٠٠. يزداد معدل التحويل بدرجة واضحة بأنخفاض pH إلى أقل من ٥,- . عند pH ٥,٠ فإن تركيز كلوريد الصوديوم حتى ٢ مول يزيد من معدل التنشيط activation . وقد وجد أن درجة pH المثلى لثبات الكيموسين يكون بين ٥,٣ - ٦,٣ كما أن الأنزيم يكون ثابتا بدرجة معتدلة عند pH ٢,٠ لكن كلما أرتفع pH من ٦,٣ إلى نقطة التعادل فإن نشاط الأنزيم يتلف بمعدل متزايد .

وعلى النطاق التجارى يستخدم اللبن الفرز أو اللبن الفرز المسترجع (١٢ جرام / ١٠٠ جرام فى محلول كلوريد الكالسيوم ١, مول) فى تقدير قوة المنفحة فى وحدات

RU التى تعرف بعدد المليمترات من اللبن التى يمكن أن تتجبن فى مدة ٤٠ دقيقة عند درجة ٣٥°م فى انجلترا تستخدم المواصفات القياسية البريطانية (BSI) منفحة نقية مجففة كمنفحة قياسية عند تقدير قوة المنفحة .

هذه الطرق يقدر قوة المنفحة أو مستخلص الرنين ولكن لا يقدر قدرة المنفحة على تحلل البروتين . النسبة بين القدرة على التجبن ونشاط تحلل البروتين تعتبر على درجة كبيرة من الأهمية فى تقييم المنفحة لأستخدامها فى صناعة الجبن .

مستخلص المنفحة من العجول الرضيعة تحتوى على ٨٨ - ٩٤٪ كيموسين ٦ - ١٢٪ ببسين بينما مستخلص المنفحة من العجول الكبيرة تحتوى على ٩٠ - ٩٤٪ ببسين ٦ - ١٠٪ فقط كيموسين. مستخلص المنفحة من الغنم والماعز تستخدم على نطاق واسع فى صناعة الجبن حيث تعطى منفحة الغنم طعم أكثر حرافية للجبن عن منفحة العجول . وفى الدول التى تفضل الطعم الحريف فى الجبن (إيطاليا ، اليونان) تستخدم عجينة paste (الناتجة من الأغشية المخاطية للغنم أو الماعز) مع المنفحة . تحتوى هذه العجينة على أنزيمات ليبيز تنتج أطعمة متميزة فى الجبن ، لكن إذا أستخدمت مستخلص المنفحة بمفردها فإنه من الضرورى إضافة أنزيم ليبيز إلى اللبن قبل عملية التجبن. تحتوى منفحة الخنزير على ببسين (porcin pepsin) الذى يستخدم مع منفحة العجول فى تجبن اللبن (بنسبة ١ : ١) فى بعض الدول الأجنبيه.

أنزيم رنين العجول يكون أكثر نشطاً عند pH ٦,٢ - ٦,٤ بينما الببسين يكون أكثر نشطاً عند pH حامضى (١,٧ - ٢,٣) لذلك فإن نشاط كل من هذين الأنزيمين يكمل الآخر . بدء فى أستخدام المنفحة الخليط فى صناعة الجبن نتيجة أرتفاع إنتاج اللبن مع النقص المستمر فى المنافح الحيوانية وأهم أنواع المنفحة المستخدمة :

منفحة العجول calf rennet

المنفحة البقرى bovine rennet

الببسين البقرى bovine pepsin

الببسين الخنزيرى porcine pepsin

منفحة عجول / ببسين بقرى (٥٠/٥٠) calf rennet / bovine pepsin

منفحة عجول / ببسين خنزيرى (٥٠/٥٠) calf rennet / porcine pepsin

وقد وجد أن الببسين البقرى يمثل ٦٪ أو أقل من قدرة المنفحة الحيوانية التجارية على تجبن اللبن كما أن ٨٥ - ٩٥٪ من نشاط تحلل البروتين لمنفحة العجول تعزى إلى الكيموسين والباقى للببسين البقرى . المنفحة الخليط من منفحة العجول وببسين الخنزير قد

تحتوى على ٤٠ - ٤٥٪ كيموسين ، ٥ - ١٠٪ ببسين بقرى ، ٥٠٪ ببسين خنزير .

وقد وجد البعض أن جبن التشدر المصنوعة بمنفحة البيسين البقرى كانت رديئة الجودة بالمقارنة بالجبن المصنوع من منفحة العجول بينما أشار البعض أنه لا يوجد فروق محسوسة بين جبن التشدر الناتج بالببسين البقرى والمنفحة .

فى عام ١٩٧٠ تم إنتاج أنزيم مجبن لبن من الدجاج بنجاح ويستخدم فى إسرائيل على نطاق واسع فى صناعة الجبن . وجد أن الجبن المصنوع بهذا الأنزيم أفضل من الناتج بالمنفحة الميكروبية . ببسين الدجاج أكثر نشاطاً فى تحليل البروتين وأقل مقاومة للحرارة عن الكيموسين . وقد وجد أن جبن التشدر المصنوع بالببسين الداجن كانت تنقصه الصلابة وشديد المرارة عند عمر ٣ شهور وبالتالى فإن هذا الأنزيم غير مناسب لصناعة جبن التشدر .

تعتبر نسبة أحتجاز المواد المجبنة فى الخثرة بعد الكبس من العوامل الهامة فى تسوية الجبن . يحتجز حوالى ٣٠٪ من كمية المنفحة المضافة إلى الخثرة قبل الكبس تنخفض إلى ٥ - ٨٪ بعد الكبس وذلك بالنسبة للمنفحة الحيوانية بينما تصل إلى ٣ - ٥٪ للمنفحة الميكروبية ، ٣ - ٨٪ للببسين لذلك فإن الشرش الناتج من الجبن يحتوى على نسبة مرتفعة من المواد المجبنة .

تختلف كمية المنفحة المضافة إلى لبن الجبن طبقاً لنوع الجبن . درجة الحرارة عامل هام فى تحديد الوقت الذى يتكون فيه الخثرة . عند ٢١ - ٢٧°م فإن الخثرة تكون طرية soft وتشبه الجل ، عند ٣٠°م تكون الخثرة أكثر صلابة firm ولا تتفتت عند التقطيع بينما عند ٣٣ - ٣٦°م تكون الخثرة جافة tough ومطاطية وتطرد الشرش بصعوبة . عند درجة حرارة أقل من ٢٠°م وأعلامن ٥٠°م يكون نشاط المنفحة ضعيف جداً . كمية المنفحة المضافة تختلف من ١٠ - ٤٥ مل / ١٠٠ لتر لبن ولكن فى بعض أنواع من الجبن التى تصنع بالتجبن الحامضى (مثل Cottage) تضاف كمية صغيرة من المنفحة (٢-٣ مل/ ١٠٠ لتر لبن) لكى يزيد من صلابة الخثرة وفى جميع أنواع الجبن يجب أن تخفف المنفحة (٦-١٠ أمثال بالماء) لضمان تجانس توزيعها فى اللبن. فى حالة إستخدام الشرش الناتج فى أعداد أغذية للأستهلاك الآدمى فيجب التأكد من نوعية المواد الحافظة المستخدمة فى حفظ المنفحة . وفى هذه الحالة يجب أن يستبدل حمض البوريك بالجليسرين . كما يمكن استخدام الكحول ، الجليسرول واليود فى إنتاج منفحة معقمة . عموماً فإن مستخلص منفحة تحتوى على ١٧ - ٢٤٪ ملح يكون كافياً لتثبيط الميكروبات ويمنع تلف أنزيم المنفحة بواسطة البكتريا المحللة للبروتين التى قد تكون موجودة

فى المستخلص . لذلك فإن خلط انظمة أنزيمية أخرى مع المنفحة يعنى إضافة أنزيمات محللة للبروتين قد تسبب تحلل أنزيم المنفحة نظراً لأنه بروتين . تفقد المنفحة الحيوانية ١ - ١,٥٪ من قوتها شهرياً ولكن فى الأسابيع الأولى القليلة بعد التحضير يكون الفقد مرتفع ، بعد ذلك يمكن حفظ المنفحة عادة لفترة دون حدوث تغير كبير فى درجة ثباتها .

٢-٢- المنفحة الميكروبية

يستخدم حالياً بدائل للمنفحة تحتوى على أنزيمات مماثلة من الميكروبات والنباتات لأسباب أقتصادية ودينية وثقافية بدرجة واسعة فى صناعة الجبن ويجب أن يتوفر الأعتبارات التالية فى إنتاج بدائل المنفحة :

١. يجب أن إنتاجها من مواد خام متوفرة بكميات كافية لأنتاجها بتكاليف مقبولة أقتصادياً .
٢. أن لا تكون سامة أو لا تحتوى على مواد سامة .
٣. أن تناسب أنواع الجبن المختلفة دون حدوث تغييرات فى طريقة الصناعة .
٤. يجب الا تؤثر بشدة على المحصول وجودة الناتج .
٥. يجب أن تكون مماثلة للمنفحة الحيوانية calf rennet وخاصته فيما يتعلق بالتركيب الكيماوى .
٦. الأستخلاص والصناعة على المستوى الصناعى يجب أن يتم على مستوى ميكروبيولوجى مرتفع .

والجدول (١-٤) يبين المصادر المختلفة لبدائل المواد المجبنة .

جدول ١-٤ : مصادر بدائل المواد المجبنة

النوع	مصدر الأنزيم	النوع	مصدر الأنزيم
نبات	Papaya (papian)	بكتريا	*Bacillus polymyxa*
	Pineapple (bromelain)		*Bacillus subtilis*
حيوان	Calf (chymosin)		*Bacillus mesentericus*
	Ox (pepsin)	فطر	*Mucor miehei*
	Pig (pepsin)		*Mucor pusillus*
	Chicken (pepsin)		*Endothia pasasitica*

وقد وجد أن الأنزيمات من البكتريا والنبات لهما قدرة زائدة على تحلل البروتين مما يجعلها غير مناسبة لصناعة الجبن بالرغم من أنها ما زالت تستخدم فى بعض مناطق من العالم . زيادة الطلب على المنفحة أدى إلى إنتاج منفحة ميكروبية microbial rennet ناتجة

من بعض الفطريات . معظم المنافح الميكروبية المتوفرة فى الأسواق ناتجة من فطر *M.miehei* ، *M.pusillus* وتسوق تحت أسماء تجارية مختلفة مثل Emporase, Marzyme, Hannilase, Rennilase كأمثلة ، فى عام ١٩٧٤ وجد أن حوالى ٦٠٪ من الجبن فى الولايات المتحدة مصنعة بأستخدام المنفحة الميكروبية بينما فى أروبا كانت المنفحة الميكروبية أقل أنتشاراً . وقد ذكر البعض أن أكثر من ثلث الجبن الناتجة فى عام ١٩٨١ فى جميع أنحاء العالم تستخدم المنفحة الميكروبية فى صناعتها . ومن الأمور الهامة التى تم التركيز عليها فى هذا المجال هو بقايا المواد المتجبنة فى الشرش حيث يستخدم هذا الشرش فى تحضير بعض منتجات الألبان وأغذية الأطفال والأغذية الخاصة . بقايا المواد التجبنة تسبب تحلل للبروتين أثناء تصنيع الشرش مما يؤدى إلى ظهور أطعمة مرغوبة أو حتى فى الأغذية المحتوية على لبن متجبن .

عدة مئات من مزارع البكتريا والفطر تم دراستها من حيث قدرة أنزيماتها على تجبن اللبن وتحليل البروتين وقليل من هذه الأنواع قد تم الأستفادة منها على نطاق تجارى (جدول ٢-٤) .

جدول ٢-٤ : بعض أنواع من المنفحة الميكروبية المتوفرة تجارياً

الأسم التجارى للمنفحة	مصدر الأنزيم
Hannilase	*Mucor miehei*
Rennilase	*Mucor miehei*
Formase	*Mucor miehei*
Miki	*Mucor miehei*
Marzyme	*Mucor miehei*
Novadel	*Mucor pusillus*
Noury	*Mucor pusillus* (Lindt)
Meito	*Mucor pusillus* (Lindt)
Emporase	*Mucor pusillus* (Lindt)
Suparen	*Endothia parasitica*
Sure curd	*Endothia parasitica*
Mikrozyme	*Bacillus subtilis*

ويختلف معدل إضافة هذه المستحضرات إلى اللبن إختلافاً طفيفاً من ١٨,٧٥ - ٢٥ مل لكل ١٠٠ لتر لبن . بعض هذه المستحضرات تكون فى صورة مسحوق أو حبيبات صغيرة وتذاب فى الماء قبل إستخدامها (حيث يذاب ١,٢ جرام Noury / ١٠ لتر ماء لكل ١٠٠ لتر لبن) .

بعض السلالات الميكروبية تنتج منفحة للجبن الطرية التى تستهلك طازجة تسبب طعم مر عندما تستخدم فى الجبن المسواه لذلك فإنه من الضرورى معرفة نشاط مختلف

المستحضرات الميكروبية التى تختلف طبقاً للـpH ونظام الأنزيم . بروتينيز منفحة *M.miehei* تحلل الروابط الببتدية المشتركة فيها الأحماض الأمينية العطرية أى روابط عند فينيل ألانين - فالين ، ليوسين - تيروسين ، فينيل - ألانين أو عند روابط فينيل ألانين - تيروسين . يحلل الأنزيم الكازين بدرجة سريعة فى نطاق pH ٥,٥ إلى ٧,٠ وبالرغم من ذلك فإن إحتمال وجود الطعم المر فى الجبن ضعيف ، تستخدم هذه المنفحة بنجاح فى صناعة عديد من أنواع الجبن . إضافة الملح إلى اللبن ، كما فى صناعة بعض أنواع من الجبن مثل الدمياطى ، يبطء من تجبن اللبن بواسطة هذه المنفحة ولكن إضافة كلوريد الكالسيوم يقلل من وقت التجبن بدرجة ملحوظة . ومع ذلك فإن هذا الأنزيم حساس جداً للحرارة فى نطاق ٣٧ - ٤٥°م ، درجة الحرارة المثلى له ٤٢°م ويتلف عند درجة ٧٠°م . لسوء الحظ فإن بروتينات الشرش يحدث لها دنتره عند هذه الدرجة والتى يجعل من الصعب الأستفادة من الشرش.

الأنزيم نشط فى نطاق pH من ٥,٥ إلى ٧,٥ ويهاجم كل من α-and β- caseins فى هذا النطاق ، وجود الطعم المر فى خثرة الجبن ضعيف . بالرغم من أن منفحة *M.miehei* غالباً ما تستخدام بمفردها إلا أن صانعى الجبن يستخدم خليط من *M.miehei* والببسين بنجاح .

مستخلص *M. pusillus* (Lindt) من أول المنافح الميكروبية التى أستخدمت لكن قدرته على تحلل البروتين أعلا منها فى المنفحة الحيوانية للعجول أو *M.miehei* . قدرة هذا المستخلص على تجبن اللبن ثلاث أضعاف قدرة المنفحة الحيوانية . الزيادة فى تركيز أيونات الكالسيوم فى اللبن يقلل من مدة التجبن لذلك فإن إضافة كلوريد الكالسيوم يعتبر ضرورياً .

الأنزيم من *M.pusillus* يحلل الروابط الببتيدية عند الأحماض الأمينية العطرية ولكن ليس بدرجة تخصص مستخلص *M.miehei* . ينتج الأنزيم ببتيدات كبيرة بينما المنفحة الحيوانية تنتج عدد من الببتيدات الصغيرة لذلك فإن مستخلص *M.pusillus* يستخدم أحياناً مع المنفحة الحيوانية .

يعطى أنزيم *M.pusillus* خثرة ضعيفة نظراً لأرتفاع نشاطه فى تحلل البروتين وتميل الخثرة إلى فقد الدهن فى الشرش .حيث تصل نسبة الدهن فى الشرش الناتج ٤,. - ٥,٠٪. ويكون محصول الجبن أقل عن المواد المجبنة الأخرى . يعطى هذا الأنزيم طعم مر فى الجبن المسواه لذلك يفضل إستخدامه فى الجبن التى تسوى لفترات قصيرة . مستخلص *M.pusillus* يكون أفضل نشاطاً عند pH ٥,٥ الذى يكون حامضى جداً لتجبن اللبن

الطبيعي ويستمر نشاطه في الشرش مما يؤدى إلى عدم الأستفادة من الشرش الناتج .

الأنزيم المستخلص من *Endothia parasitica* عبارة عن بروتينيز حامضى لكن فى بعض المستخلصات قد يوجد عدد من أنزيمات البروتينيز والليبيز إذا لم يتم تنقية المستخلص بكفاءة . هذا الأنزيم أكثر نشاطاً فى تحلل β-caseins ,α_s- وأقل نشاطاً فى تحلل κ-casein عن المنفحة الحيوانية وبدائل المنفحة الأخرى ، نتيجة لذلك فقد يسبب إنخفاضاً ملحوظاً فى محصول الجبن الناتج بالمقارنة بالمحصول الناتج بالمنفحة الحيوانية مع ظهور مرارة فى طعم الجبن المرتفعة فى الرطوبة ، لذلك قد يلجأ البعض إلى استخدام هذا المستخلص مع المنفحة الحيوانية لتحسين محصول الجبن الناتج . يتلف مستخلص *E.parasitica* عند ٦٠°م لمدة ٥ دقائق ويمكن الأستفادة من الشرش إذا تم معاملته حرارياً (٦٠°م /٥ دقائق) .

وقد أجريت محاولات عديدة للحصول على أنزيمات مجبنة للبن من مصادر بكتيرية حيث أوضحت الدراسات إلى أن *Bacillus cereus* ، *B.polymyxa* ، *B.mesentericus* ، *B.subtilis* ، *B.licheniforms* ، *B.megaterium* قد تكون مصادر يعتمد عليها فى الحصول على الأنزيمات المجبنة . وقد أشار البعض إلى الحصول على جبن مقبولة الجودة باستخدام مواد مجبنة من مصادر بكتيرية ومع ذلك فإن هذه المستحضرات لا تستخدم فى صناعة الجبن على نطاق واسع كما ان هذه المستحضرات غير متوفرة على نطاق تجارى مقارنة ببدائل المنفحة الأخرى .

ومن الأمور الجديرة بالذكر أن نجاح صناعة الجبن يؤكد على توفر أنزيمات مجبنة مناسبة كجزء من المخاليط الخامة crude mixtures المحتوية على أنزيمات أخرى لها قدرة عالية على تحلل للبروتين فقد تمكن Berridge فى عام ١٩٤٢ إنتاج رنين فى صورة بللورات عالية النقاوة وعندما أضيفت الشوائب التى أستخلصت أثناء عملية التنقية للرنين ثانية إلى محلول الرنين أدى ذلك إلى الحصول على جبن يحتوى على الطعم المرغوب مما يدل على أن الأمر يتطلب أكثر من الرنين النقى وأن الشوائب المستخلصة تحتوى على بعض المواد (قد تكون أنزيمات غير معروفة) ضرورية لإنتاج الطعم .

٢-٣ - المنفحة النباتية

عديد من الأنزيمات المستخلصة من النباتات vegetable rennets تم تجربتها فى تجبن اللبن فى صناعة الجبن وكانت المحاولات غير ناجحة . معظم أنزيمات بروتينيز النبات لها قدرة عالية على تحلل البروتين وتسبب تحلل الخثرة بدرجة كبيرة مما يؤدى إلى إنخفاض محصول الجبن وظهور مرارة فى الطعم مع قوام عجينى pasty - body وقد تم التعرف على

قدرة بعض العصارات النباتية على تجبن اللبن منذ فترة طويلة وخاصة عصارات أوراق التين (*Ficus carica*) حيث أستخدمت هذه العصائر فى مناطق زراعة هذه الأشجار . كثير من المستخلصات من مصادر نباتية يجبن اللبن ولكن بعض منها يحلل البروتين بدرجة شاملة مثل البابين papain من نبات الباباظ (*Carica papaya*) والبروملين bromelin من الأناناس (*Ananas saliva*) والريسين ricin من بذور زيت الخروع (*Ricinus communis*) كما أن بعض النباتات تعطى عصائر سامة poisonous مثل بذور زيت الخروع ونبات الشوكران hemlock (*Conium maculatum*)

٣- التجبن الأنزيمى للبن

عملية التجبن الأنزيمى للبن enzymic coagulation of milk عملية معقدة تحدث على مرحلتين أحدهما أنزيمية رئيسية primary enzymatic phase والثانية غير أنزيمية ثانوية secondary nonenzymatic phase تنتهى هذه العملية بتجميع جسيمات الكازين casein micelles لتكون بناء جل متماسك (خثرة curd) .

١- المرحلة الأولى (الأنزيمية)

$$\kappa\text{- casein} \xrightarrow{\text{chymosin}} \text{para - }\kappa\text{- casein + GMP}$$

٢- المرحلة الثانية (غير أنزيمية)

$$\text{para }\kappa\text{- casein} \xrightarrow[\text{PH 6.0-6.4}]{Ca^{2+}} \text{dicalcium para }\kappa\text{- casein}$$

تعتمد عملية تجبن اللبن بالمنفحة على أتلاف قدرة الكابا كازين κ-casein على حماية جسيمات الكازين micelles بواسطة الكيموسين حيث يوجد κ-casein على جسيمات الكازين وغالباً مع α_s-caseins ويقوم بحماية الكازينات من التجبن . يقوم الكيموسين بتحلل κ-casein ، وهو بروتين اللبن الوحيد (١٦٩ حامض أمينى) الذى يتحلل خلال هذه المرحلة من التجبن ، إلى شقين متميزين أحدهما غير محب للماء وهو hydrophobic para κ-casein (يحتوى على أحماض أمينية من ١-١٠٥ من السلسلة الببتيدية) وشق محب للماء وهو hydrophilic glycomacropeptide (GMP) (يحتوى على الأحماض الأمينية من ١٠٦ - ١٦٩ من السلسلة الببتيدية) حيث يتم تحلل الرابطة الببتيدية Phe_{106} - Met_{106} لتكوين هذين الشقين مكوناً باراكابا كازين و GMP .

الأنزيمات المجبنة للبن الأخرى تكون أقل تخصصية من الكيموسين تحدث نفس التأثير بصفة عامة. هذا التفاعل يضعف من ثبات الجزيئات الناتجة (باركابا كازين) التى تتجبن فى وجود تركيز حرج من Ca^{2+} عند درجة حرارة ٢٠°م أو أعلا .

تتأثر المرحلة الأنزيمية بنفس العوامل التى تؤثر على جميع التفاعلات الأنزيمية . التباين فى كمية الأنزيم يكون له التأثير الأكبر . يؤثر كل من درجة الحرارة وpH التفاعل الأنزيمى بطريقتين مختلفتين . كلما أرتفعت درجة الحرارة فإن معدل تحلل k-casein يزداد إلى أن ترتفع درجة الحرارة بدرجة كافية لتحدث تغيير (دنترة denaturation) فى طبيعة الأنزيم، عند هذه النقطة فإن معدل التفاعل ينخفض بسرعة ويفقد الأنزيم نشاطه الذى لا يمكن استعادته أى أن التغير فى هذه الحالة غير رجعى irreversible .

يكون لكل أنزيم مجبن للبن درجة pH مثلى عندها يكون الأنزيم فى أفضل درجات نشاطه . أرتفاع أو أنخفاض pH عن هذه الدرجة يخفض من نشاط الأنزيم كما أن الحموضة أو القلوية الزائدة تسبب تغيير فى طبيعة (دنترة) الأنزيم ويكون هذا التغيير رجعى reversible . فى صناعة الجبن فإن إضافة مزارع البادىء يؤدى إلى زيادة الحموضة وخفض pH إلى الدرجة المثلى للأنزيم المجبن للبن.

معامل درجة الحرارة (Q_{10}) temperature coefficient للمرحلة الأولى (الأنزيمية) من التجبن ١,٨ - ٢ وللمرحلة الثانية (غير أنزيمية) ١٢ - ١٦ عند pH ٦,٧ . تتم المرحلة الأولى من التجبن عند درجة حرارة أقل قد تصل إلى الصفر المئوى بينما المرحلة الثانية من التجبن تتم ببطء شديد أو لا تحدث عند درجة حرارة أقل من ١٥°م ، إذا سخن اللبن المبرد المحتوى على المنفحة فإن التجبن يحدث بسرعة كبيرة . لذلك فإن إضافة المنفحة إلى اللبن المبرد ثم تدفئة سريعة للبن هو الأساس فى طريقة التجبن المستمر للبن continuous coagulation of milk .

تحدث المرحلة الثانية من التجبن عند درجة حرارة ٢٠°م أو أعلا فى وجود Ca^{2+} . أنخفاض محتوى جسيمات الكازين من فوسفات الكالسيوم الغروية (CCP) يؤدى إلى عدم حدوث التجبن إلا إذا أرتفع تركيز Ca^{2+} حيث أن التغيير فى التركيب البنائى لجسيمات الكازين نتيجة فقد CPP يضعف من قدرتها على تكوين شبكة جل بروتين (خثرة) . هناك مرحلة ثالثة حيث يستمر تحلل الكازين عند مستوى منخفض خلال عملية التسوية وتساهم فى تكوين صفات وطعم الجبن الناتج .

هناك قليل من أنواع الجبن يكون التجبن فيه حامضياً حيث يتم هذا النوع من التجبن بإضافة حامض أو نتيجة نشاط بكتريا حامض اللاكتيك (بادىء) ويتم ذلك على

درجات حرارة ٢١-٢٢°م كما فى صناعة جبن Cottage والقريش واليوجهورت . عادة تكون الخثرة الحامضية مفككة وغير متماسكة إذا جفت نوعا أو انخفضت نسبة الرطوبة بها حيث يصبح تركيبها حبيبى بدرجة واضحة ، طرية وقدرتها على الأنكماش وطرد الشرش ضعيفة وتحتوى على كمية أقل من الأملاح نظراً لذوبانها بواسطة الحامض وفقدها فى الشرش . كما أن الخثرة تعتبر وسطاً غير ملاءما لنمو معظم الميكروبات حيث يتم التجبن عند pH ٤,٦ .

يتضمن تصنيع بعض أنواع من الجبن تكوين خثرة بفعل الحموضة والمنفحة ويعتبر pH على درجة كبيرة من الأهمية فى سلوك هذه الخثرة ، عند pH أقل من ٥,١٥ فإن صفات الخثرة تكون قريبة جداً لصفات الخثرة الحامضية بينما عند pH أعلا من ٥,١٥ فإن صفات الخثرة تكون مشابه لصفات خثرة المنفحة . ومع ذلك فإنه قد يحدث تعديل فى صفات الخثرة الحامضية فى وجود المنفحة والنشاط المستمر لتحلل البروتين (عند درجات حرارة أعلا من ١٥°م) يعنى أن صلابة الجل النهائية تكون أقل (يرجع إلى الفصل الخامس)

٤- معاملات اللبن والتجبن الأنزيمى

تسخين اللبن قبل إضافة المنفحة يجعل من الصعب تجبن اللبن بالمنفحة وهذه التأثيرات تكون رجعية بصفة أساسية إلا إذا سخن اللبن لدرجة حرارة تسبب حدوث دنترة لـβ-lactoglobulin (حوالى ٧٢°م لبضع دقائق أو ٩٠°م لمدة دقيقة) حيث يتفاعل مع κ-casein عن طريق تكوين روابط

disulphide لذلك يمكن أن يرتبط β-lactoglobulin فقط بشق para-κ-casein مما يجعل κ-casein أقل حساسية لفعل المنفحة وأيضاً يزيد من صعوبة وصول المنفحة إلى مواقع التأثير فى κ-casein .

تسخين اللبن قد يسبب أيضاً تغيير فى توزيع فوسفات الكالسيوم فى جزيئات الكازين والسيرم مما يجعل حتى جزيئات الكازين التى تأثرت بالمنفحة أقل قابلية على التجمع وتكوين الخثرة . يمكن معالجة هذا التأثير بخفض pH اللبن إلى أقل من ٦,٠ ثم أعادة ضبطه إلى ٦,٣ أو أعلا قبل إضافة المنفحة كما يمكن معالجة تأثير التسخين بإضافة كلوريد كالسيوم إلى اللبن .

تبريد اللبن قبل إضافة المنفحة يزيد من مدة التجبن نتيجة إنخفاض معدل التفاعل الأنزيمى فى التجبن . يحدث أيضاً تغيير فى جزيئات الكازين أثناء التبريد مثل تحلل بعض

β-, k-caseins وإذابة بعض فوسفات الكالسيوم المرتبطة بجزيئات الكازين . هذا الأنخفاض يمكن أن يكون عكسياً بدرجة كاملة تقريباً بواسطة البسترة أو حفظ اللبن على درجات حرارة مرتفعة ولكن الأستعادة لا تكون كاملة .

تخزين اللبن تحت درجات التبريد يسمح بحوث تحلل الدهن والبروتين بفعل البكتريا المقاومة للبرودة psychrotrophic bacteria وأنزيمات اللبن الطبيعية وكذلك الخلايا السومينية somatic cells. تخزين اللبن عند درجة ٤°م أو ٧°م عدة تصل إلى ٤٨ ساعة يسبب أيضاً تحلل الكازينات وخاصة Pi , Ca , β-casein من جسيمات الكازين .هذه العملية قد تكون عكسية بدرجة جزئية بواسطة التبريد لفترة طويلة وتكون عكسية بدرجة كاملة بالمعاملة الحرارية (٦٠°م / ٣٠ دقيقة أو ٧٢°م / دقيقة) . هناك أيضاً تغيير فى توزيع جسيمات الكازين طبقاً لحجمها بعد حفظ اللبن عند ٤°م لمدة ٤٨ ساعة مع أنخفاض فى نسبة الجسيمات الصغيرة .

يتأثر تجبن اللبن بالمنفحة بحجم جسيمات الكازين كما ترتبط صلابة الخثرة بحجم جسيمات الكازين ، زيادة عدد جسيمات الكازين صغيرة الحجم تزيد من صلابة الخثرة الناتجة عند نفس التركيز من الكازين .

المعاملات الحرارية أعلا من البسترة فى نطاق ٩٠°م /١٥ ثانية إلى ١٤٠°م لمدة ٤ ثوان يمكن أستخدامها فى صناعة الجبن . هذه المعاملات قد تسبب دنترة جزئية لمعظم بروتينات الشرش التى تترسب فى صورة تجمعات أو ترتبط بالـk-casein على السطح الخارجى لجسيمات الكازين . كما أن هذه المعاملات الحرارية تقلل من تركيزات الكالسيوم والفوسفور الذائب والذى يمكن إستعادته على الأقل جزئياً بالتخزين تحت ظروف التبريد .

فى اللبن الناتج من مواشى مصابة بمرض ألتهاب الضرع تكون بروتينات الشرش أعلا مع أنخفاض الكازين وأختلال الأتزان الملحى مما يؤدى إلى صعوبة عملية التجبن وتكوين خثرة ضعيفة مرتفعة فى الرطوبة وزيادة فقد الدهن فى الخثرة وأنخفاض محصول الجبن الناتج .

تجنيس اللبن يؤثر على تجبن اللبن بالمنفحة . حيث يلتصق بعد عملية التجنيس ، جزيئات الكازين بسطح حبيبات الدهن ، كما أن بعض جزيئات الكازين قد تتحلل قبل الألتصاق .مما يؤثر على تجبن اللبن بالمنفحة نظراً لأحتمال أرتباط الروابط الحساسة لفعل المنفحة بسطح حبيبات الدهن وبالتالى تتكون الخثرة فى اللبن المجنس بمعدل أبطأ وتكوين خثرة أكثر طراوة وأعلا فى نسبة الرطوبة .

تركيز اللبن بواسطة الترشيح الفائق UF يعتبر عامل هـام يؤثـر علـى تجـبن اللـبن بالمنفحـة حيث يقلل من معدل التجبن بالمنفحة نتيجة بطء إنتشار الأنزيم نظراً لزيادة الحجـم الـذى يشغله جزيئات الكازين فى الألبان المركزة . (يرجع إلى الفصل الثامن) .