الفصل السادس

تســوية الجـبن
Cheese ripening

١- مقدمة

صناعة الجبن اساسا عبارة عن تركيز الدهن والكازين إلى ٦-١٢ ضعف طبقا لنوع الجبن نتيجة تجبن الكازين أنزيميا أو حامضيا وتشمل انكماش الخثرة وطرد الشرش عن طريق تنظيم وتداخل بعض العوامل مثل الوقت ، درجة الحرارة ، التقليب والكبس . عند نهاية مرحلة التصنيع فإن جميع جبن التجبن الأنزيمى متشابهه بدرجة كبيرة فى شبكه كازينات الكالسيوم والتى ينتشر فيها الدهن مع محتوى من الرطوبه يتراوح بين ٣٥ - ٥٠٪ وطبقا لدرجة حرارة السمط المستخدمة فى صناعة الجبن ومحتوى الرطوبة فإن الجبن الطازج green cheese تكون خاليا من الطعم المرغوب المميز لها حيث يكون الطعم خليطا من المذاق الحامضى والملحى ويحسن كل من الدهن والبروتين من هذا المذاق . كما أن كل من القوام body والتركيب البنائى texture تنقصه كثير من الصفات المرغوبة والمميزة لهذا النوع فيكون القوام صلب يشبه المطاط لايذوب فى الفم بسهولة نظرا لوجود غالبية البروتين فى صورة غير ذائبة بينما يكون التركيب البنائى texture خشن وجزيئات الخثرة يمكن تمييزها عن بعضها حيث لم تبدأ جزئيات الخثرة فى الأندماج مع بعضها لتكون خثرة بلاستيكية ناعمة.

ولأحداث التغيرات المطلوبة فى صفات الطعم والقوام والتركيب البنائى للخثرة حتى تكتسب الجبن الناتج الطعم المرغوب والمميز لها والقوام الطرى المرن اللين والتركيب الناعم الملمس فإن ذلك يحتاج إلى تخزين الجبن الطازج تحت درجات حرارة ورطوبة نسبية معينة لفترات مختلفة . جميع أنواع الجبن الجافة اساسا ومعظم أنواع الجبن النصف جافه وعديد من الجبن الطرية تسوى لفترة قد تصل لعامين أو أكثر حسب نوع

طرق العناية والمعاملات من الصناعة حتى التسوية بمعالجة الجبن cheese curing بينما يطلق على التغيرات البيوكيماوية والطبيعية التى تحدث فى الجبن تحت هذه الظروف بالتسوية cheese ripening .

وخلال عملية التسوية تظهر الصفات المميزة لكل نوع من الجبن والتى تتأثر بتركيب الخثرة وغيرها من العوامل (الميكروبات التى تسود خلال عمليات التصنيع) كما يحدث نمو ونشاط بعض أنواع من البكتريا أثناء التسوية وخاصة بكتريا حمض اللاكتيك بخلاف بكتريا البادىء non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) والفطريات فى حالة الأنواع التى تسوى بالفطر . وبالرغم من أن نمو هذه الميكروبات تساهم فى تسوية الجبن ، وقد يكون بدرجة كبيرة فى بعض الأنواع ، فإن عملية تسوية الجبن ، تعتبر أساسا عملية أنزيمية .

ميكانيكية تحويل خثرة الجبن الخالية من الطعم المميز إلى جبن مقبول للأستهلاك تحكمها عدة عوامل مختلفة وتشمل pH ، محتوى الرطوبة ، نسبة الملح وطريقة التمليح ، درجة حرارة التسوية وطبيعة الميكروبات الثانوية الأخرى (البادئات المساعدة) والتى تنمو فى الجبن أو على سطح الجبن .

٢ - عوامل التسوية

عوامل التسوية ripening agents فى الجبن أربعة ويحتمل أن تكون خمس عوامل:

١ - المنفحة وبدائل المنفحة rennet and rennet substitutes (الكيموسين ، البيسين ، البروتينيز الميكروبى).

٢ - أنزيمات اللبن الطبيعيه indigenous milk enzymes التى تكون على درجة كبيرة من الأهمية فى جبن اللبن الخام.

٣ - بكتريا البادىء starter bacteria and their enzymes التى تفرز فى الجبن بعد ان تموت الخلايا وتتحلل .

٤ - الأنزيمات من البادىء المساعد (الثانوى) enzyme from secondary starters مثل بكتريا حمض البروبيونيك propionic acid bacteria *Brevibacterium linens* ، الخمائر والفطريات مثل *P.candidum Penicillium roqueforti*, حيث تكون على جانب كبير من الأهمية فى بعض الأنواع .

٥ - بكتريا بخلاف بكتريا البادىء non - starter bacteria (NSP) وتشمل البكتريا المقاومة للبسترة فى لبن الجبن أو التى تصل إلى اللبن المبستر أو الخثرة أثناء التصنيع، تتحلل هذه الخلايا بعد موتها وينطلق منها الأنزيمات .

مساهمة الأنزيمات من (NSB) فى جودة الجبن تتعرض لبعض الأختلافات ففى حالة جبن التشدر Cheddar والجبن الهولندية فإن أنواع *Lactobacillus* ، *Micrococcus* ، *Pediococcus* يحتمل أن يكون لها تأثيرات سلبية على جودة الجبن وبالرغم من أنها تساهم بالتأكيد فى شدة طعم الجبن flavor intensity.

وهناك أهتمام لفترة امتدت إلى ٣٠ سنه بشأن تكوين نماذج أنظمة تسمح بتقدير مساهمة كل من عوامل التسوية الخمس السابقة كميا فى تسوية الجبن وفى التفاعلات الثانوية. وقد ظهرت هذه التقنيات لأستبعاد واحد أو أكثر من عوامل التسوية السابقة وبذلك يمكن تقدير دور كل من هذه العوامل بطريقة مباشرة أو غير مباشرة . فمثلا ممكن أستبعاد بكتريا NSB وذلك بأستخدام نظام للحلب تحت ظروف معقمة حيث يعقم ضرع الحيوان وأجهزة الحلب وأوعية أستقبال الحليب بأستخدام مواد كيماوية مطهرة chemical sanitizer والبخار طبقا لطبيعة الجزء المراد تعقيمه. وتحت هذه الظروف يمكن الحصول على لبن يحتوى على أعداد قليله من البكتريا تصل إلى أقل من ١٠٠ ميكروب / مل .

كما يمكن الحصول على لبن يحتوى على أعداد قليله من البكتريا وذلك بتعريض اللبن لمعاملة حرارية ، فقد أستخدمت البسترة لدرجة حرارة مرتفعة ولوقت قصير HTST لإنتاج لبن منخفض فى حمولته البكتيريه حيث وجد أن خفض عدد البكتريا من حوالى 10^{8} إلى 10^{3} / مل يؤدى إلى الحصول على جبن به أعداد من بكتريا (NSB) أقل من ١٠٠ لكل ١٠ كجم جبن. وقد وجد أن المعاملة الحرارية ٨٣°م / ١٥ ثانية أو ٧٢°م / ٥٨ ثانية تضمن القضاء على البكتريا بهذا المعدل ولكن المعاملة الحرارية ٧٢°م / ١٥ ثانية قد تكون كافية للبن يحتوى على ١٠ بكتريا NSB / مل .

إذا كانت خثرة الجبن تتكون بواسطة التجبن الحامضى كيماويا فإنه يمكن أضافة المضادات الحيوية للبن الجبن لتثبيط نمو أى بكتريا متبقية أو ملوثة وقد أستخدم النيسين nisin ، البنسلين penicillin والأستربتوميسين streptomycin فى هذا المجال . أضافة المضادات الحيوية يعتبر ضروريا للحصول على جبن معقم خال من بكتريا البادىء

. aseptic starter-free cheese

الجبن المحتوية على أنواع محددة من الميكروبات يجب أن تصنع تحت ظروف معقمة حيث تستخدم أحواض تصنيع مغلقه مجهزة بقفازات مطاطية طويلة يمكن من خلال التعامل مع اللبن أو الخثرة داخل هذه الأحواض بالأضافة إلى تزويدها بإمكانيات دخول هواء مبستر أو معقم . وقد أمكن أنتاج جبن فى غرفة معقمة (٢x٥م) مزودة بمصدر للهواء المرشح ويرتدى صانعى الجبن ملابس معقمة .

تحميض خثرة الجبن إلى pH حوالى ٥,٠ الذى يعتبر عامل أساسى فى صناعة الجبن عادة يتم عن طريق أنتاج حامض اللاكتيك بواسطة البادىء . فإن كان المطلوب تقييم دور البادىء فى تسوية الجبن فإنه يجب تجنب أستخدام البادىء ويستخدم التحميض المباشر أو مواد كيماوية منتجة للحامض.

وقد كانت هناك بعض الصعوبات ظهرت عند تعديل pH بأستخدام حامض مخفف فى التحميض المباشر وأمكن التغلب على ذلك بأستخدام مواد منتجة للحموضة مثل(glucono-δ-lactone (GDL والذى يتحلل إلى حمض جلوكونيك gluconic acid بالمعدل المطلوب فى محلول مائى وقد وجد البعض أن استخدام GDL يؤدى إلى أنتاج حموضة بمعدل سريع وزائد والذى ينتج عنه فقد للأملاح المعدنية بدرجة كبيرة من جزيئات الكازين ويعتبر هذا الفقد مسئول عن سرعة تحلل البروتين بدرجة كبيرة فى الجبن المحمضة كيماويا ولكن قد يعزى ذلك إلى زيادة أحتجاز المنفحة فى الخثرة الزائدة الحموضة .

تصنيع جبن بدون منفحة rennet-free cheese يعتبر أمرا ضروريا فى حالة تقييم مساهمة المنفحة فى تسوية الجبن فعادة تستخدم المنفحة لتكوين خثرة باراكازين وعليه فأن الهدف هو تغيير طبيعة (دنتره denaturation) المنفحة بعد أن تكون قد أتمت المرحلة الأولى من التجبن بالمنفحة (التفاعل الأنزيمى) . ويوجد ٣ طرق لتنفيذ ذلك :

أ - استخدام لبن فى صناعة الجبن يكون قد أنتزع منه الكالسيوم Ca والماغنسيوم Mg بتعريض اللبن إلى عملية تبادل أيونات ion-exchange resin . عند تركيز منخفض من الكالسيوم فإن مرحلة التجبن الأنزيمى يمكن أ تتم بدون تقليب ويتم أتلاف المنفحة بعد ذلك بالمعاملة الحرارية عند درجة ٧٢°م/ ١٥ثانية ويبرد اللبن ليسخن كهربائيا لتجنب التقليب . وتستكمل صناعة الجبن فى أحواض معقمة .

ب - استخدام ببسين خنزيرى porcine pepsin كمنفحة لتجبن اللبن وبعد أن تتكون الخثرة تقطع ثم يرفع pH مخلوط الخثرة والشرش إلى حوالى ٧,٠ وقد أعطت هذه الطريقة نتائج جيدة.

جـ - استخدام بروتينيز معوى من خنزير صغير piglet فى صناعة جبن خال من المنفحة rennet-free cheese وهذا الانزيم يحلل κ-casein البقرى ولكن لايؤثر على α_{s1} - or β - casein كما يمكن اتلافه بسرعة فى المراحل الأولى فى صناعة الجبن وقد أستخدم فى صناعة الجبن على نطاق تجريبى فقط .

ومن الصعب أستبعاد تأثير البلازمين plasmin فى تحليل البروتين ولكن أمكن تقييم دوره فى تحليل البروتين فى الجبن بطريقة غير مباشرة فى معظم الحالات أى فى الجبن والتى أستبعد منها جميع عوامل التسوية الأخرى . يثبط البلازمين بواسطة مثبط تربسين فول الصويا soy-bean trypsin inhibitors الذى يجب أن يكون مناسبا لتثبيط نشاط البلازمين ولكن لاتوجد دراسات لتقييم هذه الطريقة . وقد ادى ثبات البلازمين للحرارة العالية وزيادة نشاطه بواسطة درجات حرارة السمط المرتفعة الى الوصول الى نموذج نظام لأنتاج خثرة معقمة aseptic curd حيث امكن تغيير طبيعة المنفحة بأستخدام درجات حرارة سمط مناسبة وتحميض الخثرة بأستخدام GDL . مثل هذا النظام يسمح للبلازمين للعمل بمفرده أى بمعزل عن العوامل الأخرى .

حامض (AHA) 6 - aminohexanoic acid مثبط للبلازمين plasmin ولكن لايثبط الكيموسين chymosin أو البروتينيز البكتيرى bacterial peptidase. عادة يستخدم هذا الحامض لتقييم دور البلازمين فى جبن التشدر الناتجة تحت ظروف غير معقمة وبأستخدام بادىء عادى من بكتريا حمض اللاكتيك . من الضرورى أستخدام تركيزات مرتفعة من حامض AHA لتثبيط البلازمين فى خثرة الجبن الذى قد يسبب زيادة فى انكماش الخثرة وطرد الشرش وبالتالى أنخفاض محتوى الرطوبة فى الجبن الناتج . ومن الأمور الجديرة بالذكر أن AHA يحتوى على نتروجين N لذلك فإن مستوى النتروجين الذائب يرتفع فى الجبن بدرجة كبيرة .

٣- طرق التسوية

توجد طريقتان مختلفتان لتسوية الجبن . تخزن الجبن شديدة الجفاف (مثل البرمسان) والجبن الجافة (مثل التشدر) وبعض الجبن النصف جافة (مثل الايدام) تحت

ظروف تمنع نمو الميكروبات سطحيا مما يخلق نشاط ايضى محدود للميكروبات والأنزيمات فى الجبن حيث تتقدم التسوية ببطء وبصورة متجانسة خلال كتلة الجبن (أى التسوية الداخلية) . جميع الجبن الطرية وبعض الجبن نصف طرية (اللامبرجروالبراى والبريك) تخزن تحت ظروف تشجع نمو الميكروبات على سطح الجبن (أى التسوية السطحية) ، من بين هذه الميكروبات قد تكون فطريات مثل *P.camemberti* كما هو الحال فى الجبن الطرية المسواة سطحيا بالفطر (كممبير وبراى) او بكتريا مثل *B.linens* فى الجبن المسواه سطحيا بالبكتريا مثل اللمبرجر والبريك . تنتشر الأنزيمات الناتجة من الميكروبات الى داخل الجبن وتحدث التغيرات المصاحبة للتسوية والتى تتقدم من السطح الى المركز لذا فأن حجم هذه الأنواع من الجبن يجب أن يكون صغيرا نسبيا وشكلها مسطحا.

قد تسوى الجبن المعرقة بالفطر (مثل ستليتون والركفور) بأستخدام كلا الطريقتين ، حيث تحجز الجبن تحت ظروف تسوية من رطوبة ودرجة حرارة تسمح بعوامل التسوية الداخلية (الفطر) والخارجية (طبقة الميكروبات السطحية smear) بالنمو والنشاط وبالتالى احداث التغيرات المطلوبة فى هذه الجبن .

يمكن القول بصورة عامة ان حجم وشكل الجبن يكون مرتبطا بنوع التسوية المطلوبة ، وبظروف التسوية من حيث درجات الحرارة والرطوبة التى يخزن عندها الجبن ليتم تسويته . تسوى الجبن الجافة ببطء وتستغرق فترة من الزمن قد تصل لعدة شهور أو عدة سنين وتستمر التسوية بصورة متجانسة خلال الجبن مهما كان حجم او شكل الجبن. تحفظ الجبن على درجات حرارة تتراوح من ٤-١٢°م ، ويجب مراقبة الرطوبة النسبية وحفظها عند مستوى منخفض (٨٦ - ٨٨٪) لتمنع نمو الفطريات وفى نفس الوقت تكون كافية لتقليل فقد الرطوبة بالتبخير ،تغطى بعض الأصناف بشمع البارافين ، ومستحلبات بلاستيكية لتقليل الفقد فى الرطوبة ،ويمكن تغليف أنواع كثيرة من الجبن الجاف فى اغلفة خاصة يمكن لحامها بالحرارة ، او تحت تفريغ او تعبأ تحت تفريغ فى اغشية قابلة للأنكماش (مثل كريوفاك cryovac). تؤدى كل هذه الطرق الى طرد الهواء وبالتالى الى منع نمو الفطر على سطح الجبن كما تؤدى الى عدم فقد الرطوبة بالتبخير . تعبئة الجبن بهذه الطرق لاتعرضها للظروف الجوية فى المخزن ، لذا فأن مراقبة نسبة الرطوبة فى المخزن ليس ضروريا ، ويمكن رص الجبن على بعضها لزيادة الأستفادة من ارضية المخزن ولكن من الضرورى حفظ هذه الجبن على درجات حرارة منخفضة (٦°م)

لمنع تكوين الغاز واستخدام درجة الحرارة المنخفضة يبطىء من عملية التسوية ، لذا فان هذه الجبن تتطلب وقتا اطول لانضاجها ، وعليه فأن جبن التشدر المسوى على ٦°م قد يتطلب ٩ شهور ليصل الى درجة التسوية التى يصل اليها نفس الجبن المصنع تحت نفس الظروف وذلك بعد ٦ شهور من تسويته على درجة ١٣°م .

عندما يتطلب الامر النمو السطحى للميكروبات فى التسوية كما هو الحال فى أنواع الجبن الطرية والنصف طرية فأن مساحة السطح الى كتلة الجبن يعتبر مهما حيث يؤثر على معدل التسوية . تملح الجبن المسواه سطحيا بطريقة التمليح الجاف على السطح او بدعك سطحها بقماش مغمور فى محلول ملحى وذلك لعدة ايام متتالية والذى يساعد على الوقاية من الميكروبات التى قد تنمو على السطح ، ثم تحفظ تحت ظروف معينة من درجة الحرارة (١٥-٢٠°م) ورطوبة نسبية مرتفعة (٩٠ - ٩٥٪) لتشجيع نمو الميكروبات المرغوبة . تسمح التسوية بهذه الطريقة بالتتابع المرغوب لنمو الميكروبات . فى المراحل الأولى من التسوية المبكرة تنمو انواع معينة فقط من الخمائر المقاومة للملح والفطريات مثل *Geotrichum candidum* على اسطح هذه الجبن والتى تتميز بأرتفاع محتوها من الحامض والملح . تستخدم هذه الفطريات اللاكتات الموجود والذى يؤدى الى ارتفاع pH وبالتالى يسمح للبكتريا المقاومة للملح مثل *B.linens* او الفطريات الأخرى مثل *P.camemberti* .

تنمو *B.linens* طبيعيا فى المخزن الموجود به الجبن المسواه سطحيا بالبكتريا . يتميز نموها على سطح الجبن باللون البرتقالى المحمر ، وعادة يمسح سطح هذه الجبن يوميا بقطعة قماش مغموسة فى محلول ملحى معتدل التركيز ودافىء بعناية لتوزيع نمو البكتريا على كل السطح ، ثم تمسح الجبن بقطعة جافة بعد ٤-١٢ يوم وتخزن على ارفف حتى تعبأ للأستهلاك .

ترش الجبن المسواة سطحيا بالفطر (معلق من جراثيم فطر *P.camemberti*) ويظهر نموه المميز على شكل طبقة بيضاء ناعمة الملمس خلال ٢ -١٤ يوم ، ثم يتحول الى لون رمادى شفاف مع تقدم تحلل البروتين كما تظهر بقع بنية محمره فى أماكن نمو *B. linens* مع الفطر وبعد ١٤يوم تغلف الجبن فى رقائق من الالمونيوم ويخزن فى غرفة مبردة (١٠°م) لمدة ٧ أيام ثم تعد للتوزيع.

٤- العوامل التى تؤثر على معدل التسوية

يختلف معدل التسوية باختلاف نوع الجبن ويرجع ذلك إلى التباين الكبير فى محتوى هذه الجبن من رطوبة ، ملح ، حموضه ونوع البادىء والميكروبات الثانوية بخلاف بكتريا البادىء والمستحضرات الأنزيمية المستخدمة فى الجبن والمعاملات التكنولوجية التى تتعرض لها الخثرة اثناء التصنيع والتسوية . تلعب هذه العوامل دورا هاما فى تنشيط وتشجيع عوامل التسوية المختلفة والتى يتوقف عليها التغيرات الطبيعية والكيماوية التى تحدث فى الجبن اثناء التسوية والتى تؤدى الى ظهور الطعم المميز فى الجبن بالاضافة الى التغيرات المرغوبه فى القوام والتركيب البنائى للجبن . وفيما يلى مناقشة موجزه لأهم هذه العوامل :

٤-١- رطوبة الخثرة

يتحكم صانع الجبن من خلال عمليات التصنيع المختلفة المستخدمة فى تحويل اللبن الى خثرة مختلفه فى محتوى الرطوبة . كما أن نسبة الرطوبة فى غرف التسوية يساعد على التحكم فى الفاقد من الرطوبة من الخثرة اثناء التسوية الا اذا كانت الخثرة معبأه فى غلاف غير منفذ للرطوبة او فى عبوات محكمة القفل مما يمنع من فقد الرطوبة من الجبن . توجد الرطوبة فى الجبن فى ثلاث صور هى:

١- رطوبة مرتبطة bounded moisture وهو الماء المرتبط بالتركيب البنائى لمكون الخثرة (البروتين).

٢- رطوبة ممتصة hygroscopic moisture وهو الماء الممتص او المحجوز بفعل قوى الجذب المتصلة بجزيئات الخثرة والتى تشمل الدهن .

٣- رطوبة حره free moisture وهو الماء الحر الذى ينتشر داخل الجبن والذى يحمل المواد الذائبه داخل الخثرة ويسمح بحدوث التفاعلات الحيوية المختلفة .

وقد يحدث تحول لهذه الصور فيما بينها نتيجة التفاعلات فى الخثرة والتى ينطلق منها بعض الماء المرتبط او تحتاج الى جزيئات ماء لأتمام التفاعل . وتحمل الرطوبة الحرة المواد الذائبة وتنتشر فى الخثرة والتى تلعب دورا هاما فى نمو الميكروبات حيث يتحكم فى نموها ونشاطها نتيجة التأثير الاسموزى osmotic effect على جدار خلايا الميكروبات . لذلك فأن نمو الميكروبات يكون أسرع فى الخثرة المرتفعة الرطوبة عن الخثرة المنخفضة الرطوبة وبالتالى فأن معدل التسوية فى الجبن المرتفعة الرطوبة (الطرية والنصف طرية) تكون

أسرع عما فى الجبن المنخفضة فى نسبة الرطوبة (الجبن الجافة والشديدة الجفاف).

وبصفة عامة يمكن القول أن مقدار ما يتحلل من مكونات الخثرة فى الجبن الطرية والنصف طرية اثناء التسوية اعلا منه فى الجبن الجاف والشديدة الجفاف ويرجع ذلك لوجود كمية اكبر من الماء الحر free - moisture تزيد من سرعة نمو ونشاط الميكروبات وكذا التفاعلات الحيوية فى الخثرة اثناء التسوية . تقل كمية الماء الحر بتراكم نواتج التحلل وبالتالى ينخفض معدل التسوية بصفة منتظمة حتى يصل المصل فى الخثرة الى درجة من التشبع لاتسمح باستمرارالتحلل .

فقد الرطوبة بالتبخير من قشرة الجبن يؤدى الى تراكم المكونات الذائبة عند القشرة rind وتشمل املاح الكالسيوم ، الأملاح وحيدة التكافوء مثل كلوريد الصوديوم تكون اكثر انتشارا فى الخثرة وتساعد فى بعض التغيرات التى تحدث فى الخثرة .

٤-٢- نسبة الملح فى الخثرة

يضاف الملح عادة الى الجبن ليساهم فى تحسين الطعم وتنظيم عملية التسوية كما ان له تأثير مجفف dehydrating effet يزيد من صلابة الخثرة مع تكوين قشرة صلبة تحمى الجبن من التلف او الضرر اثناء التداول .

تختلف كمية الملح المضافة بأختلاف نوع الجبن فمثلا فى الجبن التشدر تكون نسبة الملح ١-٢ ٪ بينما فى الجبن المعرقة بالفطر يكون تركيز الملح اعلا فقد يصل الى ٣-٤٪ . عادة يكون تأثير تركيز الملح مرتبط بنسبة الرطوبة فى الجبن حيث ان تأثير تركيز الملح على نمو ونشاط الميكروبات والأنزيمات التى تفرزها اثناء التسوية يرجع الى تركيز الملح فى الوسط المائى فى الجبن salt- in- moisture (S / M) فمثلا فى جبن التشدر التى تحتوى على ٤٠٪ رطوبة ، ١,٥٪ ملح يكون تركيز المحلول الملحى فيها ٣,٧٥٪ وفى الجبن المعرقة بالفطر يكون تركيز المحلول الملحى فيها ٨٪ . تختلف بكتريا حمض اللاكتيك فى درجة مقاومتها للملح فيتوقف نمو معظم سلالات *S.lactis* subsp *cremoris* عند تركيز ٢٪ ملح ولكن *L.lactis* subsp *lactis* تتحمل تركيز يصل الى ٤٪ بينما بكتيريا حمض اللاكتيك العصوية تتحمل الملح بتركيزات اعلا تصل الى ٦٪ كما ان الملح يوقف نمو البكتريا غير المرغوبة فبكتريا *E.coli* تتحمل تركيز الملح حتى ١٢٪ بينما تركيز ملح حتى ٣٪ ينشط من نموها .

انخفاض الملح فى الجبن التشدر يؤدى الى قوام ضعيف عجينى pasty وتسوية غير

طبيعية ويزداد انكماش الخثرة اثناء التسوية ، بينما ارتفاع نسبة الملح يجعل القوام اكثر جفافا وقابل للتفتيت وتكوين شقوق فى القشرة مع احتمال نمو الفطريات وظهور الوان مختلفة داخل الجبن وعلى سطح الجبن . وجود نسبة من الملح تصل الى ١,٧٪ أو اكثر فى الجبن التشدر يجعل القوام اقل قابلية للتفتت والكسر عن الجبن المحتوية على ملح اقل ، والجبن المحتوية على ملح منخفض يكون لها pH منخفض .

ويستخدم تركيزات مرتفعة من الملح على سطح جبن Limburger لتثبيط الميكروبات غير المرغوبة ويسمح بنمو الخمائر السطحية ، *B.linens* والذى يساهم فى التسوية السطحية .

وفى الجبن المسواة بالفطر فأن التمليح يحد من نمو ونشاط الفطريات غير المرغوبة بينما يشجع من نمو *P.camemberti* على سطح الجبن الكمبير، *P.roqueforti* فى جبن الركفور وهما من عوامل التسوية الأساسية فى هذه الجبن . ونتيجة للتأثير المثبط للملح للبكتريا فأنه يقلل من معدل تحلل البروتين كما ان وجود الملح يؤثر على ذوبان المركبات النتروجينية المتكونة فى الجبن وبالتالى يعدل من قوام الجبن . والتمليح للجبن السيوسريه والأنواع المشابة له يقلل من تكوين العيون بدرجة كبيرة وانخفاض نسبة الملح يكون احد الأسباب فى ظهور عيب "oversetting" (تكوين عيون صغير ة الحجم وبأعداد زائدة). يحتوى الجزء الخارجى من الجبن المملح سطحيا على الملح بدرجة اعلا من داخل الجبن ولذلك تتكون عيون صغيرة وبأعداد كبيرة قريبة من السطح ويقل نشاط بكتريا حمض البروبيونيك والتى تخمر اللاكتات مع انتاج CO_2 لتكوين العيون فى وجود ٠,٥٪ ملح ويقف نشاطه تماما فى وجود ٢,٥٪ ملح .

وفى حالة جبن Brick والتى تملح سطحيا فأن التمليح الزائد (اكثر من ٢٪) يبطء من تخمر اللاكتوز ومعدل التسوية ويزيد من صلابة قوام الجبن مع اكسابه لون ابيض غير طبيعى كما يقلل من محصول الجبن . بينما انخفاض الملح يسبب تخمر غير طبيعى مع قوام ضعيف وتركيب مفتوح . التمليح يساعد الجبن على فقد الرطوبة ويكون معدل فقد الرطوبة اكبر خلال التسوية عنه قبل اوبعد التمليح . وعموما فأن ارتفاع نسبة الرطوبة فى الجبن مع انخفاض تركيز الملح يسرع من معدل تحلل كل من البروتين والدهن واللاكتوز فى الجبن اثناء التسوية .

٤-٣- pH الخثرة

من المعروف ان حموضة (pH) الجبن من اهم العوامل التى تؤثر على قوام وتركيب الجبن فعندما يكون pH مرتفعا فأن الجبن تكون ذات قوام طويل long body مرن يمكن تقطيعه بسهولة الى شرائح رقيقة وتكون ذات ملمس ناعم بعكس الجبن التى يكون pH فيها منخفضا حيث يكون القوام قصيرا short body قابل للكسر والتفتت واقل نعومة ، الحموضة الزائدة تؤدى الى قوام هش قابل للكسر وأحيانا حبيبى grainy . كما هو الحال فى درجة الحرارة يتحكم pH الخثرة فى نمو الميكروبات والتغيرات البيوكيماوية التى تحدث فى الخثرة . وتختلف pH من ٤,٧ الى ٥,٥ فى الجبن الحامضية المضاف اليها بادىء اما فى الجبن المسواة بالفطر فيختلف pH من ٤,٩ الى ٧,٠ أو اكثر وتتحكم عمليات تصنيع الخثرة فى معدل تكوين الحموضة حتى خطوة اضافة الملح . وجود الملح مع فقد اللاكتوز يخفض من pH حيث يصل إلى اقل درجة له فى الجبن الناتج وبعد ذلك فأن نشاط البكتريا والفطريات تحلل مكونات الخثرة منتجة مكونات متعادلة او قلوية تسبب ارتفاع pH . وعندما يكون تحليل البروتين فى الخثرة شامل فأن pH الخثرة قد يصل الى ٧,٨ أو اكثر والأمونيا التى تنفرد تحت هذه الظروف فى غرف تسوية الجبن المعرقة بالفطر او الجبن التى تسوى سطحيا بالبكتريا " smear " تكون واضحة فى هواء هذه الغرف.

التغير التدريجى فى pH من مرحلة الى اخرى تجعل عملية التسوية تتم فى خطوات متتابعة وعليه فأنه عند اى وقت من التسوية فأن مكونات الطعم والنكهه تصل الى مستوى معين من التركيز وبتقدم عملية التسوية فأن بعض مركبات الطعم والنكهة فى المراحل الاولى قد تستخدم ويختفى الطعم غير المرغوب ويحل محله اطعمة اكثر قابلية .

والقوة التنظيمية للخثرة التى تقاوم التغيرات فى pH فى الخثرة تكون مرتفعة فى المراحل الأولى ولكن تحليل البروتين يضعف من قوتها التنظيمية فى الجبن الجافة مثل الأمينتال. يتم تحلcasein-∝ بدرجة اكبر نسبيا فى الجبن الطرية مثل الكممبير أما β-casein يتحلل فى المراحل الأولى من التسوية.

والأنزيمات تساعد على اتمام التفاعلات تحت ظروف مختلفة للبيئة ولكن pH ودرجة الحرارة تعتبران من اهم العوامل فى خثرة الجبن وكل انزيم له درجة pH مثلى وبعض الأنزيمات لها نطاقين من pH يكون عندها الأنزيم نشط احداهما حامضى والاخر

قلوى ولكن النواتج النهائية قد تختلف فى كل نطاق من النشاط . فى معظم الجبن الجافة تكون الأنزيمات نشطة في نطاق من pH يتراوح بين ٤,٩ - ٥,٥ واقل نشاطا عند pH اعلا من ذلك . وفى الجبن الطرية تكون الأنزيمات أكثر نشاطا عند pH يتراوح من ٥,٣ الى ٦,٠ ، ارتفاع pH الخثرة يساعد على تحلل البروتين وزيادة نواتج التحلل من النتروجين الذائب ونتروجين الأحماض الأمينية والأمونيا بينما أنخفاض pH يساعد على تحلل الدهن وأنفراد كميات أكبر من الأحماض الدهنية الحرة .

كما يلاحظ ان مذاق المرق brothy taste والذى يرجع الى نواتج تحلل البروتين من احماض امنية وخاصة حامض الجلوتاميك يكون اكثر وضوحا فى الجبن المرتفعة فى pH بينما يكون الطعم حاد (حريف) والذى يرجع لأنفراد الأحماض الدهنية الطيارة ويكون أكثر وضوحا فى الجبن المنخفضة فى pH .

ويلاحظ الطعم المر وغيره من الأطعمة غير المرغوبه وكذلك التخمرات غير الطبيعية مثل تخمر حمض البيوتريك butyric acid fermentation بدرجة اكبر فى الجبن المرتفعة فى pH عنه فى الجبن المنخفضة فى pH . وفى الجبن السويسريه والأنواع المشابه له يعتبر pH الخثرة عاملا هاما جدا فى التسوية وتكوين العيون بالحجم والعدد المناسب وكذلك الطعم الحلو المرغوب حيث انه يؤثر على نمو ونشاط حمض البربيونيك propionic acid bacteria فأذا كان pH اقل من ٥,٠ خلال المراحل الأولى من التسوية (مرحلة تكوين العيون الغازية) فأنه يحدث تثبيط لهذه البكتريا بدرجة كبيرة وبالتالى لاتتكون العيون بطريقة طبيعية مقبولة . كما ان انخفاض pH يجعل القوام هشا قابلا للكسر والتفتت وخال من المرونة والمطاطية المرغوبه وينشأ عن ذلك تكوين شقوق اكثر منها عيون دائرية و pH المرتفع نوعا (اعلا من ٥,٣٥) يسبب عيب " oversetting " مع تكوين غاز وانتفاخ الجبن .

٤-٤- درجة الحرارة اثناء التسوية

يتحكم صانع الجبن فى درجة الحرارة اثناء تصنيع الخثرة وتسوية الجبن حيث تؤثر درجة الحرارة على معدل نمو ونشاط الميكروبات الموجودة فى الخثرة وكذلك معدل التفاعلات البيوكيماوية فى الخثرة . درجة الحرارة المنخفضة تقلل من نمو ونشاط الميكروبات وكذلك التغيرات البيوكيماوية بينما ارتفاع درجة الحرارة تزيد من معدل كل منهما بدرجة تؤدى الى عدم تراكم المكونات الوسيطه التى تختفى بسرعة وتتكون نواتج

نهائية مختلفة لذلك فأن الجبن التى تسوى ببطء عند درجات حرارة منخفضة (٤°م) قد لايتكون بها نفس الطعم والنكهه التى قد تظهر فى الجبن المسواة عند درجة حرارة مرتفعة (١٥°م) . وعادة تظهر عيوب فى الطعم off- flavors عند درجات الحرارة المرتفعة . وتتراوح درجة حرارة التسوية عادة لمعظم أنواع الجبن من ٤-١٣°م بأستثناء بعض الاصناف التى تتعرض لفترات فى غرف دافئة لأحداث تغيرات معينة (مثل تكوين العيون الغازية فى جبن الأمنيثال) فالجبن الطرية المرتفعة الرطوبة تسوى عند درجات حرارة اقل عن الجبن الجافة حيث ان استخدام درجات حرارة مرتفعة مع ارتفاع نسبة الرطوبة فى الجبن يشجع على ظهور كثير من العيوب نتيجة نشاط كثير من الميكروبات غير المرغوبة التى قد توجد فى الجبن.

وقد قام كثير من الباحثين بدراسة تأثير درجة حرارة التسوية على جودة الجبن الناتج حيث وجد ان جبن التشدر المسوى لمدة ٣-٤ شهور عند ١٠°م قبل تخزينه على درجة حرارة منخفضة يتميز بجودة افضل عن الجبن المخزن لمدة ٦ شهور عند درجة ١°م . الجبن المصنع من لبن مرتفع الجودة يمكن تسويته على درجة حرارة مرتفعة تصل الى ١٠°م ودون حدوث تأثير على جودة الجبن الناتج مع ظهور طعم جيد به . الجبن المصنع من لبن منخفض الجودة يحتاج الى تسويته على درجة حرارة منخفضة . وقد وجد ان جودة الجبن المصنع من لبن منخفض الجودة وتم تسويته عند درجة ١٥,٥°م تكون اقل من الجبن المسوى عند درجة ١٠°م والعيوب الموجودة فى الجبن المسوى عند درجة الحرارة المرتفعة وخاصة المصنوعة من لبن خام تشمل الطعم الحامضى ، المر غير نظيف ، تكوين غازات مع قوام هش قابل للفرولة والكسر . وقد وجد أن معدل تحليل البروتين عند درجات الحرارة المرتفعة اعلا بما يعادل ٤٠-١٠٠٪ وعموما فأن درجة حرارة التسوية تؤثر بدرجة واضحة على التوازن المطلوب بين مكونات الطعم لأظهار الطعم المميز المطلوب فى الجبن فمثلا عند درجة حرارة مرتفعة (١٦°م) يكون تحلل البروتين اسرع من تحلل الدهن والذى يؤدى الى ظهور طعم مر bitter فى الجبن كما قد يحدث بعض العيوب فى الطعم والتركيب البنائى للجبن عند درجات الحرارة المرتفعة نتيجة لنشاط *C.tyrobutyricum* ، بكتريا حمض البروبيونيك ، Lactobacilli المختلطة التخمر .

كما أشار البعض ان جبن التشدر المصنوع من لبن مبستر يمكن تسويته عند درجة حرارة تصل الى ١٠°م او اعلا من ذلك بنجاح دون ظهور عيوب فى الجبن الناتج ودرجة

حرارة منخفضة تصل الى ١°م تكون عادة منخفضة جدا لتسوية الجبن ولكنها مناسبة لتخزين الجبن المسوى وذلك لتأخير ظهور الأطعمة غير المرغوبة . كما اشار البعض ان جبن التشدر المصنوع من لبن مبستر مرتفع الجودة كان تام التسوية فى خلال ٣-٤ شهور عند درجة ١٥,٥°م ومماثل للجبن المسوى لمدة ٦شهور عند ١٠°م وان طعم وجودة الجبن لم تتأثر بأرتفاع درجة الحرارة خلال هذه الفترة وعليه فأنه يمكن استخدام لبن مبستر مرتفع الجودة مع التسوية على درجة حرارة مرتفعة نسبيا وذلك لتعويض تأثير البسترة فى ابطاء معدل التسوية مقارنة بالجبن المصنع من لبن خام . وهناك بعض انواع من الجبن تتم فيها التسوية على درجات حرارة مرتفعة فمثلا فى الجبن الأمينتال Emmental تجرى المراحل الأولى من التسوية عند درجات حرارة منخفضة حيث تنمو بكتريا حمض اللاكتيك وتحدث بعض التفاعلات الوسيطه فى الخثرة ثم ترفع درجة حرارة التسوية بعد ذلك لكى تنمو بكتريا حمض البروبيونيك وتكون الطعم المرغوب والعيون الغازية فى الخثرة. استمرار التسوية على درجات حرارة منخفضة يؤدى الى انتاج جبن خال من العيون الغازية "blind cheese " وخالية من الطعم الحلو المميز لها حيث يتكون حامض اللاكتيك ، السكسنيك ، الخليك بالأضافة الى حمض البروبيونيك خلال عملية التخمر والتى تساهم فى تكوين طعم جبن الأمينتال .

عادة تحفظ الجبن السويسريه Swiss cheese والأنواع المشابهه له لمدة ١٠-١٤يوم فى غرفة مبردة عند درجة حرارة من ١٢-١٥°م حيث تجرى تمليح الجبن بغمرها فى محلول ملحى وخلال هذه الفترة تزداد صلابة الجبن ثم تنقل بعد ذلك الى غرفة دافئة على درجة حرارة ٢٠-٢٣°م حيث تملح تمليح جاف يرش الملح على السطح مع وجود رطوبة نسبية فى غرف التسوية (٨٠ الى ٨٥ ٪) تكون مرتفعة بدرجة تسمح للملح ان يصبح رطبا ويمتص تدريجيا داخل الجبن . وفى نفس الوقت تصبح الجبن مرنه elastic بدرجة مرغوبة . خلال هذه الفترة الأولية والاساسية من التسوية يحدث تخمر حمض البروبيونيك propionic acid fermentation وفيه تقوم بكتريا *P.shermanii* والميكروبات المماثلة بتكوين حمض البروبيونيك والخليك CO_2 من اللاكتات . يساهم حمض البربيونيك فى الطعم الحلو sweet المميز لهذه الجبن ويتجمع CO_2 ليكون العيون الغازية فى الجبن وتصبح الجبن اكثر صلابة واقل ليونة نتيجة فقد الرطوبة واذا كانت الصلابة اكثر من اللازم خلال تكوين العيون فأنه يحدث تشققات فى الجبن .

تسوى الجبن المعرفة بالفطر Blue cheese عند درجة حرارة منخفضة وذلك بعد فترة تسوية قصيرة فى البداية فى غرف دافئة . وفى هذه الجبن تتكون احماض اللاكتيك والماليك ، الفورميك ، الخليك ، ايسوبروبيونيك، الكابرويك ، الكابريليك ، الكابريك ، البيروفيك والكيتوجلوتاريك . وتسود احماض اللاكتيك ، والماليك ، ايسوبروبيونيك ، الكابرويك ، الكابريك وتساهم فى الطعم . وتشارك هذه الاحماض ايضا فى التغيرات التى تحدث فى pH بالرغم من ارتباطها مع مكونات اخرى فى الخثرة كأصول حامضية .

٤-٥- المواد المثبطة والأكسجين

أختيار لبن مرتفع الجودة والمعاملة الحرارية للبن للقضاء على الميكروبات غير المرغوبة فى اللبن مع بادىء نشط وخال من الملوثات يساعد صانعى الجبن على تجنب وجود المواد المثبطة فى خثرة الجبن . فى وجود المضادات الحيوية فى اللبن نتيجة علاج الحيوانات المصابة وكذلك النيسين nisin من بكتريا حمض اللاكتيك الكروية والمواد المثبطة الناتجة من ميكروبات اخرى نامية فى لبن الجبن قد تثبط من نمو البكتريا وأحيانا تحدث تثبيط للتفاعلات الأنزيمية .

أضافة املاح النيترات وكلوريد الصوديوم الى اللبن او الخثرة عبارة عن وقاية كيماوية chemical control لتثبيط الميكروبات المكونة للغازات او المنتجة للحموضة على التوالى. أستخدام اتزان النترات / النيتريت فى الجبن المنخفضة الحموضة لتثبيط الميكروبات المنتجة للغازات تؤثر على جهد الأكسدة والأختزال (E_h) فى الخثرة . ويرجع جهد الأكسدة والأختزال فى اللبن الى انتقال الأكسجين (الأكسدة oxidation) او الأيدروجين (اختزال reduction) من مكون الى اخر . وبعض الأنظمة قادرة على الأكسدة وليس على الأختزال بينما انظمة اخرى قادرة على احداث الاكسدة والأختزال.

المكونات الرئيسية فى اللبن من بروتين ، دهن ،ولاكتوز لايؤثر بصورتها الطبيعية الموجودة فى اللبن على جهد الأكسدة والأختزال ولكن الأسكوربات واللاكتات والريبوفلافين تساعد على المحافظة فى حالة الثبات .

عندما تنمو البكتريا تستهلك الأكسجين وبالتالى تغير من جهد الأكسدة والأختزال. وهذا التغير والذى يعتبر دليل على النشاط البيوكيماوى والذى يمكن قياسه بالتغيرات فى لون محلول ازرق الميثلين ، 2, 3, 5, triphenylteterazolum chloride فى اللبن او فى الجبن والتغير فى الجهد (E_h) عندما يحدث تفاعل يدل على الأتجاه الذى يسير

فيه التفاعل من ناحية الأكسدة او الاختزال وعليه فأن تفاعل oxidation deamination للالنين تعطى بيروفات وأمونيا . واختزال البيروفات بواسطة الأيدروجين يعطى حامض لاكتيك .

عادة يعتبر *L.lactis* subsp *lactis* منتج لحامض اللاكتيك ولكن ينتج ايضا حامض خليك بعد ان يتحلل اللاكتوز الى جلاكتوز وجلوكوز ، وقد ينطلق CO_2 خلال هذا التخمر إذا تم تنمية *L. lactis* subsp *lactis* تحت ظروف لاهوائية تقريبا فأنه يتكون احماض الخليك والفورميك بالاضافة الى الأيثانول ، وثنائى الأستيل والأسيتون 2, 3, - butanediol والبكتريا اللاهوائية تحتاج جهد سالب للأكسدة والأختزال (E_h) للنمو بنشاط . ويصل تنفس خثرة الجبن اقصاه فى خلال ٦ - ٩ يوم ثم ينخفض بشدة وبدرجة سريعة ولا يحدث نزع مجاميع الكربوكسيل تحت هذه الظروف الهوائية فى الجبن .

٥- تفاعلات التسوية

تحدث فى الجبن ثلاث تفاعلات اساسية أثناء التسوية : تحلل السكريات الكربوهيدريت (اللاكتوز) glycolysis ، تحلل البروتين proteolysis ، تحلل الدهن lipolysis وهذه التفاعلات مسئولة بدرجة رئيسية عن التغيرات الأساسية فى القوام والتركيب البنائى للجبن texture والتى تحدث فى خثرة الجبن أثناء التسوية كما انها مسئولة بدرجة كبيرة عن الطعم الأساسى basic flavor فى الجبن ومع ذلك فإن عديد من التغيرات الثانوية مسئولة اساسا عن ظهور الطعم والتركيب المميزين لنوع الجبن .

٥-١- تحلل الكربو هيدريت (اللاكتوز)

خلال مرحلة تصنيع الجبن يتحول اللاكتوز إلى حامض لاكتيك (L-lactate بصفة أساسية) بواسطة بكتريا البادىء (مسارات تحلل اللاكتوز - الفصل الثالث - شكل ٢-٣) . فى حالة أنواع الجبن التشدر فإن معظم حامض اللاكتيك يتكون فى حوض الجبن وقبل التمليح والتشكيل حيث أنه فى معظم الأنواع الأخرى يحدث التحميض أساسا بعد أن توضع الخثرة فى القوالب . ويصل pH الخثرة لمعظم انواع الجبن أو جميعها إلى حوالى ٥,٠ فى خلال ١٢ ساعة من بداية تصنيع الجبن .

معدل ودرجة التحميض لها تأثير رئيسى على التركيب البنائى texture للجبن عن طريق فقد الأملاح المعدنية من جزيئات الكازين وعلى تحلل البروتين نتيجة لزيادة حساسية

جزيئات الكازين المتزوع منها الأملاح المعدنيـة للتحلـل وكذلـك الى أرتفـاع الكيموسين chymosin المحتجزة عند pH منخفض .

نظرا لأن حـوالى ٩٨٪ مـن اللاكتـوز يفقـد فـى الشـرش فـى صـورة لاكتـوز أو لاكتات فإن خثرة الجبن ما زالت تحتوى على ٠,٨ - ١,٥٪ لاكتوز عند نهاية خطـوات صناعة الجبن . تحت الظروف الطبيعية يتخمر بقايا اللاكتوز بمعدل سريع ويتحـول اساسا الى L-lactate بواسطة نشاط البادىء بصفة اساسية . سرعة تمثيل بقايا اللاكتوز وكذلـك مكوناته من سكريات أحادية (إلى مكوناتها النهائية) يكون ضروريا لأنتاج جـبن مرتفـع الجودة . تخمر بقايا اللاكتـوز بدرجـة سريعـة نسـبيا تعتـمد على تركـيز الملـح فـى رطوبـة الخـثرة (S/M) . *L.lactis* subsp *cremoris* أكـثر حساسية للملـح عـن *L.lactis* subsp *lactis* والذى بدوره يكون أكثر حساسية عن بكتريا حمض اللاكتيك التى لاتنتمى الى البادىء (NSLAB) . بناء على ذلك فإن نسبة الملح فى رطوبـة الخـثرة S/M تحـدد صفـات النـاتج بعـد حـدوث تخمـر اللاكتـوز فعنـد تركـيز منخفـض مـن S/Mوأعداد منخفضة مـن NSLAB فـإن بقايا اللاكتوز يتحـول اساسا إلى L- lactate بواسطة البادئ . وفى حالة وجود أعداد كبيرة من NSLAB مثل التخزين عنـد درجـات حرارة مرتفعة فـإن كميـات ملحوظـة مـن D- lactate تتكـون جزئيـا نتيجـة تخمـر بقايـا اللاكتوز وجزئيا نتيجة تحويل L-lactate إلـى D-lactate. عند تركيز مرتفـع مـن S/M (حـوالى ٦٪) فإن تركيز اللاكتوز ينخفض بمعدل بطىء جدا عند وجود أعداد قليلة من بكتريا NSLAB والتحول إلى لاكتات يكون ضعيف .

وفى الجبن الطرية المخلله (تخزن فى شرش مملح) والمحتوية على نسـبة مرتفعـة مـن الملح مثل الجبن الدمياطى حيـث تتميز هـذه الجبن بأرتفـاع pH نسـبيا (٦,٠- ٦,٥) ومحتوى الرطوبة (حوالى ٦٠ - ٦٥٪ أو أقل) ومحتوى كلوريد الصوديوم (٥ - ٨٪) وجد أن الكربوهيدريت تظل موجودة فى الجبن الدمياطى حتى بعد ٦شهور مـن التخزيـن حيث لوحظ وجود اللاكتوز والجلاكتوز ولا يوجد جلوكوز فى الجبن عمر ٦ شهور وقد يبدو أن تخمر اللاكتوز فى الجبن الدمياطى والأنواع المشابه يستمر حتى تثبـط الحموضـة المتكونة نمو الميكروفلورا فى الجبن . هذا فإن اللاكتوز (فى الجبن وفى محلول التخليـل) اكثر من احتياجات الميكروفلورا فى الجبن وهذا يوضح سبب أرتفـاع بقايـا اللاكتـوز فـى الجبن طوال فترة التخزين .

يبدأ تخمر اللاكتوز فى هذه الجبن بتحلل اللاكتوز إلى جلوكوز وجلاكتوز ولكن ميكروفلورا الجبن يستخدم الجلوكوز مع تراكم الجلاكتوز بطريقة مماثلة لما يحدث فى اليوجهورت والجبن السويسريه . الميكروفلورا الموجودة فى هذه الجبن اساسا متجانسة التخمر مما يدل على أن تخمر اللاكتوز ينتج حمض اللاكتيك بصفه اساسية .

وفى الجبن الطرية المخلله (تخزن فى شرش مملح) التى تستخدم فى صناعتها بادىء مثل Brinza, Teleme فعند تركيزات مرتفعة من S/M (أعلا من ٥٪) فإن نشاط معظم بكتريا البادىء ينخفض بدرجة كبيرة أو يقف تماما وتخمر بقايا اللاكتوز بواسطة الفلورا الثانوية وتشمل Lactobacilli, Pediococci, Micrococci وهذة الميكروبات تخمر اللاكتوز تخمرا مختلطا مع انتاج مكونات مختلفة من بينها حمض الخليك الذى يكون الحامض الطيار الرئيسى فى هذه المجموعة من الجبن .

تتأثر جودة الجبن بدرجة كبيرة بتخمر بقايا اللاكتوز . يعزى الأنخفاض فى pH بعد التمليح أساسا إلى النشاط المستمر للبادىء عند تركيز ات من S/M أقل من ٥٪ ولكن عند مستويات مرتفعة من S/M ينخفض نشاط البادىء بدرجة شديدة حيث يتضح ذلك من أرتفاع مستويات بقايا اللاكتوز وأرتفاع pH كما أن جودة الجبن تنخفض بشدة عند تركيزات S/M أعلا من ٥٪ . تحتوى أنواع الجبن الهولندية على اللاكتوز بتركيز يصل إلى حوالى ١,٤٪ عند الكبس ولكن ينخفض إلى أقل من ٠,١٪ بعد الكبس وإلى نسبة ضئيلة يصعب تقديرها بعد عملية التمليح وتتخمر اللاكتوز بواسطة البادىء إلى L-lactate .

تخمير اللاكتوز فى أنواع الجبن السويسرية تعتبر عملية معقدة إلى حد ما . تحتوى الأمينتال Emmental على حوالى ١,٧٪ لاكتوز بعد ٣٠دقيقة من تشكيل الخثرة والذى يتخمر بسرعة بواسطة . *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ليصل إلى مستويات منخفضة جدا فى خلال ١٢ ساعة مع أنتاج L-lactate يصل إلى حوالى ٠,٨٪ . يتم تمثيل شق الجلوكوز فقط الموجود فى اللاكتوز بواسطة *S.salivarius* subsp *thermophilus* وبالتالى يتراكم الجلاكتوز ويصل الى أقصى حد له حوالى ٠,٧٪ بعد حوالى ١٠ ساعات . ثم تبدأ بكتريا حمض اللاكتيك العصوية Lactobacilli فى التكاثر (بعد أن تبرد الخثرة نسبيا) وتخمر الجلاكتوز إلى خليط من L-lactate و D- حيث يصل تركيزهما إلى ٠,٣٥٪ ، ١,٢٪ . على الترتيب بعد١٤ يوم

حيث يكون عادة جميع السكريات قد تم استهلاكها تماما . بعد ذلك يحدث تغيير ضئيل فى تركيزات L-lactate و - D إلى أن تنقل الجبن إلى الغرف الدافئة حيث تبدأ بكتريا حمض البربيونيك فى النمو .

٥-١-١ - التغيرات فى اللاكتات أثناء التسوية

أ- تكوين المشابهات Racemization

يبلغ تركيز اللاكتات فى الجبن الكمبير ، السويسريه والتشدر ١,٠ ، ١,٤ ، ١,٥٪ على التوالى . أختفاء اللاكتات من الجبن أثناء التسوية قد جذب أهتمام كثير من الباحثين فقد وجد أن جبن التشدر على المستوى المعملى والتجارى تحتوى على تركيزات محسوسة من D- lactate ، التى قد تتكون من بقايا اللاكتوز بواسطة Lactobacilli او بواسطة عملية تحويل صور المشابهات racemization حيث يتحول إلى D-lactate فى هذه الحالة يتأكسد L-lactate بواسطة أنزيم (L-LDH) L-lactate dehydrogenase إلى بيروفات والذى يختزل بعد ذلك إلى D-lactate بواسطة انزيم (D-LDH) .

وقد أشار البعض إلى أنه من المحتمل أن يكون Pediococci مسئولا عن هذا التحول وقد وجد أن جميع Pediococci التى تم عزلها من الجبن التشدر وعددها ٢٧ كانت قادرة على تحويل L-lactate إلى D-lactate والذى ينتهى إلى تكوين مخلوط راسيمى racemic mixture (أى مخلوط من D- و L-)بينما فقط ٥ من ١٦ عزلة Lactobacilli كانت قادرة على تحويل اللاكتات من الصورة L- إلى الصورة D- بمعدل بطىء جدا وبدرجة أقل من Pediococci وتحويل L- lactate بواسطة كل من Pediococci ، Lactobacilli تعتمد على pH (درجة pH المثلى ٤ - ٥) . وتكون هذه العملية بطيئة فى وجود الملح بتركيزات أعلا من ٢٪ أو أعلا من ٦٪ لـ Lactobacilli , Pediococci على التوالى . وتتم عملية تحويل اللاكتات إلى الصور المشابه racemization فى الجبن التشدر المحقونة بالـ Pediococci فى حوالى ١٩ يوم بينما تحتاج إلى حوالى ٣شهور فى جبن المقارنة والتى تحتوى على مستويات أقل من بكتريا NSLAB وخاصة Pediococci .

تحويل صور اللاكتات إلى مشابهات تحدث فى عدة أنواع من الجبن . تحتوى جبن الجودة ، على النطاق التجارى ، على نسبة منخفضة نسبيا من D-lactate وقد يعزى ذلك إلى قصر فترة التسوية . مستوى L- or D-lactate فى جبن الكمبير

منخفض جدا ويعزى ذلك إلى تمثيل اللاكتات بواسطة الفطر ، كما يتوقع أن يحدث هذا التأثير فيالجبن المعرفة بالفطر Blue cheese إلا أنه لم يثبت حدوثه فى الجبن .

ويبدو أن عملية تحويل المشابهات قد لايكون لها تأثير معنوى على طعم الجبن ولكن D-lactate قد لايكون لها تأثيرات تغذوية غير مرغوبة فى الأطفال الرضع infants حيث أن calcium D-lactate أقل ذوبانا عن calcium L-lactate ، وقد يكون بللورات فى الجبن مسببا تكوين بقع بيضاء غير مرغوبة عند الأسطح المقطوعة .

ب - تمثيل اللاكتات

يمكن أن يحدث أكسدة للاكتات فى الجبن . ينتج Pediococci مول واحد من الخلات ، مول واحد من CO_2 ويستهلك مول واحد من O_2 لكل مول لاكتات تم استهلاكه . تختلف درجة pH المثلى من ٥ إلى ٦ ويتوقف ذلك على تركيز اللاكتات . يزداد تركيز اللاكتات فى الجبن عن الحد المطلوب لحدوث الأكسدة المثلى ، ولايحدث أكسدة للاكتات إلا إذا أستهلك جميع السكريات. ويستمر نظام أكسدة اللاكتات فى حالة نشطه فى الجبن التى عمرها سته شهور .

وتشير نتائج البحوث فى هذا المجال إلى أن أكسدة اللاكتات إلى خلات فى الجبن يتوقف على أعداد بكتريا NSLAB وعلى تركيز O_2 المتوفر الذى يتحدد بواسطة حجم قرص الجبن ودرجة نفاذية مواد التغليف للأكسجين . الخلات ، التى قد تنتج أيضا بواسطة بكتريا البادىء من اللاكتوز أو السترات ، أو من الأحماض الأمينيه بواسطة بكتريا البادىء Lactobacilli ، عادة توجد فى تركيزات مرتفعة نسبيا فى جبن التشدر وتساهم فى طعم الجبن بالرغم من أن التركيزات المرتفعة قد تسبب أطعمة غير مرغوبة. لذلك فإن أكسدة اللاكتات إلى خلات قد تساهم لحد ما فى تكوين طعم الجبن . وتحدث أكسدة L-lactate إلى خلات فى جميع أنواع الجبن الجافه والنصف جافة .

يتم تمثيل اللاكتات بدرجة كبيرة فى أنواع الجبن التى تسوى سطحيا بالفطر مثل جبن الكممبير والذى يبلغ تركيز اللاكتات فيها عند عمر يوم واحد حوالى ١,٠٪ والتى تتكون نتيجة نشاط البادئات المحبة للحرارة المعتدلة بصفة أساسية وتكون موجودة فى صور L-lactate . تنمو الميكروبات الثانوية بدرجة سريعة وتسود على سطح هذه الجبن حيث تنمو أولا *Geotrichum candidum* والخمائر يليها *P.caseicolum* ثم *B.linens* الذى لاينمو ويسيطر على سطح الجبن إلا عندما يرتفع pH إلى أعلا من

٥,٨.

يمثل *G.candidum* ، *P.caseicolum* اللاكتات بسرعة إلى CO_2 وماء مسببا أرتفاع فى pH . يحدث فى البداية أنخفاض فى الحموضة على سطح الجبن ويؤدى ذلك الى تغير فى pH تدريجيا من السطح متجها إلى مركز الجبن وينشأعن ذلك أنتشار اللاكتات متجهه إلى السطح الخارجى للجبن . وعندما تستهلك جميع اللاكتات فإن *P.caseicolum* يقوم بتحليل البروتينات منتجا أمونيا (NH_3) التى تنتشر متجهة إلى داخل الجبن مسببا أرتفاع pH بدرجة أكبر . تركيز فوسفات الكالسيوم على سطح الجبن تتجاوز درجة ذوبانها عند pH المرتفع وتترسب مكونة طبقة من فوسفات الكالسيوم $Ca_3(PO_4)_2$ على السطح ، أنخفاض تركيز فوسفات الكالسيوم فى داخل الجبن يساعد فى زيادة طراوة قوام الجبن . ينشط pH المرتفع من فعل البلازمين الذى يكون مسئولا مع بقايا المواد المجبنه عن تحلل البروتين فى هذه الجبن أكثر من البروتينيز proteinases الذى تفرزه الميكروبات التى تنمو على سطح الجبن والذى بالرغم من قدرته المرتفعة على تحلل البروتين إلا أنه ينتشر إلى داخل الجبن فقط إلى درجة محدودة جدا بالرغم من أن البثبدات الناتجة بواسطتها على سطح الجبن قد تتخلل إلى داخل الجبن .

التأثير لـ pH المرتفع وفقد الكالسيوم وتحليل البروتين يعتبر ضروريا لإحداث جزء كبير من الطراوة softening لقوام جبن الكمبير والبراى . فى الأنواع الأخرى كما فى الجبن الرومانو Romano ، تسود L-lactate فى البداية حيث تصل الى أقصى حد لها حوالى ١,٩٪ عند عمر يوم واحد . يبدأ التركيز فى الإنخفاض بعد ١٠ أيام وتصل الى ٠,٢-٠,٦٪ عند ١٥٠-٢٤٠ يوم . وقد يعزى بعض من هذا الإنخفاض الى تحويل L-lactate الى D-lactate الذى يصل الى أقصى تركيز له عند حوالى ٩٠ يوم ثم ينخفض بعض الشيء . تركيز الخلات قد يصل الى مستويات مرتفعة جدا (حوالى ١,٢٪) بعد ٣٠ يوم ولكن الى ٠,٢٪ على الأقل عند الأقل عند ٩٠ يوم. العوامل المسئولة عن تمثيل الخلات لم تحدد بعد ولكن يعتقد أن الخمائر من بين هذه العوامل .

فى أنواع الجبن السويسرية Swiss-type cheese فإن بكتيريا حمض البربيونيك تحول اللاكتات الى بربيونات وخلات و CO_2 :

$$CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH \longrightarrow CH_3\text{-}CH_2\text{-}COOH + CH_3\text{-}COOH + CO_2$$

lactic acid propionic acid acetic acid

غاز CO_2 الناتج يكون مسئولا عن تكوين العيون eyes وهى مميزة لهذة الأنواع من الجبن. تفضل بكتيريا حمض البربيونيك L-lactate عن D-lactate لتصل الى ٠,٢٪ بعد ٢٠ يوم فى الغرفة الدافئة الخاصة بالتسوية وفى الحقيقة يستمر تركيز D-lactate فى الزيادة ليصل الى حوالى ٠,٤٪ خلال الأيام الأولى فى هذة الغرفة الدافئة قبل أن تستخدم بواسطة بكتيريا حمض البروبيونيك propionibacteria. زيادة أعداد Lactobacilli يسرع من عملية تمثيل السكر مكونا تركيزات مرتفعة من كل من D-and L-lactate ولكن يحد من نمو بكتيريا حمض البربيونيك ويؤخر من انتاج البربيونات والخلات وفى غياب Lactobacilli أو gal⁻ Lactobacilli . يتراكم الجلاكتوز ولا يتكون D-lactate لذلك فأن نسبة Lactobacilli فى البادىء قد تؤثر على انتاج CO_2 والأحماض الطيارة.

٥-٢- تمثيل السترات

التركيزات المنخفضة نسبيا للسترات فى اللبن (حوالى ٩ ملليمول) لا يعطى صورة حقيقية عن أهمية تمثيل السترات فى عديد من أنواع الجبن التى تصنع بأستخدام بادئات الحرارة المعتدلة . بكتيريا *L.lactis* subsp. *lactis* or *cremoris* لا تخمر السترات بينما *Leuconostoc* spp., *L.lactis* subsp. *lactis* biov. *diacetylactis* تخمر السترات مع انتاج ثنائى الأستيل diacetyl ، CO_2 . كما أن *S.salivarius* subsp. *thermophilus* وكذلك thermopilic lactobacilli لا تخمر السترات ولكن عدة أنواع من mesophilic lactobacilli تخمر السترات مع أنتاج ثنائى الأستيل والفورمات ويؤثر وجود اللاكتوز على كمية الفورمات المتكونة.

لا تستخدم السترات كمصدر للطاقة بواسطة *L.lactis* subsp. *lactis* biov. *diacetylactis* أو *Leuconostoc* spp. ولكن يتم تخميرها بمعدل سريع فى وجود كربوهيدريت قابلة للتخمر (شكل ٤-٣ الفصل الثالث). نظرا لأنتاج CO_2 فإن السترات تعتبر مسئوله عن ظاهرة تكوين العيون فى جبن الأنواع الهولندية وعن القوام المفتوح غير المرغوب وطفو الخثرة على سطح حوض التجبن فى جبن التشدر وجبن Cottage على التوالى. كما أن تخمير السترات على جانب كبير من الأهمية فى تكوين الطعم والنكهة فى جبن Quarg, Cottage وعديد من الألبان المتخمرة نتيجة تكوين ثنائى الأستيل diacetyl. كما يساهم diacetyl فى طعم جبن الأنواع الهولندية وكذلك جبن التشدر كما أن الخلات الناتجة من تخمر السترات قد تساهم فى طعم الجبن .

حوالى ٩٠٪ من السترات فى اللبن توجد على حالة ذائبة ومعظمها يفقد فى الشرش ومع ذلك فإن تركيز السترات فى الوسط المائى للجبن يبلغ حوالى ٣ أضعاف وجوده فى الشرش وقد يعكس ذلك تركيز السترات الغروية colloidal citrate حيث تحتوى جبن التشدر على ٠,٢ الى ٠,٥٪ سترات ففى حالة تصنيع الجبن بأستخدام *L. lactis* subsp. *cremoris* فقط فإن السترات تبقى ثابته عند تركيز ٠,٢٪ حتى ٣ شهور ولكن تنخفض الى ٠,١٪ عن ٦ شهور. الجبن المصنعة بأستخدام *L.lactis* subsp. *cremoris* مع *L.lactis* subsp *lactis* biov. *diacetylactis* لا تحتوى على سترات عند ٣ شهور. بالرغم من *Lb.casei* يستطيع تخمير السترات فى اللبن فأن تركيزات السترات فى الجبن المصنعه بأستخدام *L.lactis* subsp. *cremoris* + *Lb.casei* ينخفض الى معدل مماثل للموجود فى الجبن المصنعه بأستخدام *L.lactis* subsp. *cremoris* بمفردها. وقد وجد أن السترات فى جبن التشدر تنخفض ببطء الى أن تختفى تماما عند ٦ شهور ويرجع ذلك الى تخمر السترات بواسطة Lactobacilli التى تصبح المكون الرئيسى لبكتريا NSLAB. تلقيح لبن الجبن ببكتريا *Lb.plantarum* تسرع من اختفاء السترات ويبدو أن Pediococci لا تستخدم السترات .

٥-٣- تحلل البروتين

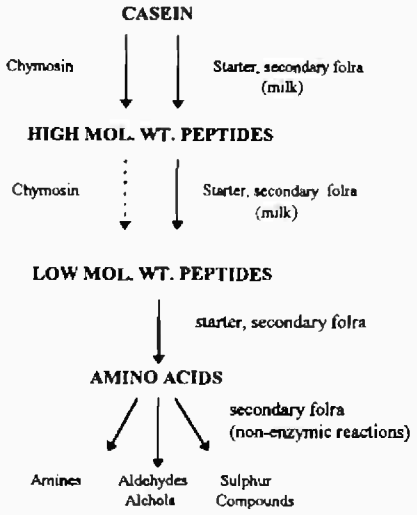
يعتبر تحلل البروتين proteolysis أكثر التفاعلات الأولية الثلاثة تعقيدا أثناء تسوية الجبن وقد تكون على جانب كبير من الأهمية فى تكوين الطعم والتركيب البنائى وخاصة فى الجبن التى تسوى داخليا بالبكتيريا. تختلف درجة تحلل البروتين فى الجبن تحلل محدود كما فى جبن الموزاريلا الى تحلل شامل كما فى الجبن المسواه بالفطر . تتراوح نواتج تحلل الكازين من ببتيدات عديدة كبيرة الحجم بالمقارنة بحجم الكازينات الكاملة الى ببتيدات متوسطة وصغيرة الحجم الى أحماض أمينية حرة (شكل ١-٦). ويساهم تحلل البروتين فى تسوية الجبن من خلال أربع طرق على الأقل :

أ- مساهمة مباشرة فى الطعم عن طريق الأحماض الأمينية والببتيدات التى قد يسبب بعضها أطعمه غير مرغوبة off-flavors خاصة المرارة bitterness أو بطريقة غير مباشرة عن طريق هدم الأحماض الأمينية الى أمينات amines ، أحماض ، , thioesters, thiols ..... الخ

ب- افراز كمية أكبر من المكونات ذات المذاق المرغوب أثناء المضغ mastication .

جـ- تغيرات فى الـ pH نتيجة تكوين الأمونيا NH_3 .

د- تغيرات فى التركيب البنائى texture نتيجة تحلل شبكة البروتين وأرتفاع فى pH وكمية أكبر من الماء المرتبط مع مجاميع الأمين والكربوكسيل المتكونة حديثا .



شكل ١-٦ : تحلل الكازين أثناء تسوية الجبن

بالرغم من أن تسوية بعض أنواع من الجبن (مثل الجبن المعرقة بالفطر Blue cheese وجبن الرومانو Romano) يعتمد أساسا على تحلل الدهن lipolysis الا أن تحلل البروتين له أهمية متماثلة فى جميع أنواع الجبن. يعتقد كثير من الباحثين أن تحلل البروتين فى جبن التشدر والأنواع الهولندية وبعض الأنواع الأخرى أهم التغيرات البيوكيماوية التى تحدث أثناء التسوية. ويوجد ارتباط قوى بين قوة طعم جبن التشدر وتركيز الأحماض الأمينية الحرة. هناك محاولات عديدة لتحديد دلائل تحلل البروتين لمعرفة درجة التسوية وبالرغم من أن مثل هذه الدلائل indices ترتبط بعمر ودرجة تسوية الجبن إلا أنها فشلت فى التعرف على وجود الأطعمة غير المرغوبة لذلك يمكن اعتبارها مكملة للتقييم الحسى للجودة.

وقد تعرض تحلل البروتين فى الجبن الى عديد من الأبحاث وأدى ذلك الى توفر كم كبير من المعلومات عن مستوى ونوع تحلل البروتين فى مجاميع الجبن الأساسية.

٥-٣-١- العوامل المحللة للبروتين فى الجبن

توجد أربعة وفى بعض الأنواع خمسة عوامل تساهم فى تحليل البروتين proteolytic agents فى الجبن :

١- المنفحه أو بدائل المنفحه

٢- أنزيمات اللبن الطبيعية المحللة للبروتين وخاصة البلازمين plasmin

٣- أنزيمات بروتينيز وببتيديز بكتريا البادئات والتى تنفرد عندما تتحلل الخلايا .

٤- أنزيمات من بكتريا بخلاف بكتريا البادىء non-starter bacteria (NSB)

٥- أنزيمات البروتينيز والببتيديز من الميكروبات الثانوية (البادئات المساعدة).

الأنزيمات من الأربع مصادر الأولى (١-٤) تكون نشطة تقريبا فى جميع أنواع الجبن المسواه بينما البادئات المساعدة adjunct starter (الميكروبات المضافة الى لبن جبن بهدف آخر غير زيادة الحموضة) يكون لها تأثير ملحوظ على تسوية هذه الأنواع من الجبن التى تضاف اليها مثل بكتريا حمض البروبيونيك فى أنواع الجبن السويسرية ، *B. linens* فى الجبن المسواه سطحيا بالبكتريا (جبن البريك) *P. roqueforti* فى الجبن المعرقة بالفطر *P.camemberti* فى جبن الكممبير. كما أن الأنزيمات الخارجية التى تضاف للإسراع من تسوية الجبن يمكن اضافتها الى عوامل التسوية السابق الإشارة اليها حيث يكون لها تأثير كبير فى هذا المجال عند استخدامها .

يمكن تقييم مساهمة هذه العوامل منفردة أو مشتركة فى تحليل البروتين فى ٣ محاور متكاملة :

(١) نموذج لأنظمة الجبن Model cheese systems .

(٢) نوعية نشاط أنزيمات البروتينيز والببتديز الرئيسية على الكازينات أو الببتيدات المشتقة من الكازين فى المحلول .

(٣) عزل الببتيدات من الجبن على أساس نوعية تأثير أنزيمات البروتينيز/الببتديز على الكازينات فى المحلول والتعرف على العوامل المكونة لها .

أستخدام نموذج أنظمة الجبن يساعد على تقدير مساهمة عوامل التسوية الرئيسية فى تحليل البروتين فى الجبن بدقة كبيرة وتتلخص هذه الأنظمة فيما يلى :

استخدام جبن مقارنة (كنترول) معقمة ، جبن معقمة خالية من المنفحة ، جبن معقمة خالية من البادىء وجبن معقمة خالية من كل من المنفحة والبادئ (يرجع إلى ٢ -

عوامل التسوية) .

وقد دلت النتائج على أن المواد المجبنة مسئولة عن تحلل الكازين فى المراحل الأولى بينما يكون دور أنزيمات اللبن الطبيعية وبروتينيز البادئات أقل أهمية عند هذا المستوى من تحلل البروتين ومع ذلك فإن أنتاج الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية ترجع أساسا الى فعل بكتريا البادىء وأنزيماتها (شكل ١-٦) .

٥-٣-٢- المواد المجبنة

حوالى ٣-٦٪ فقط من كمية المنفحه التى تضاف الى لبن الجبن تحتجز فى الخثرة ولكن تتأثر هذه الكمية بنوع المنفحة ودرجة الحرارة المستخدمة وعملية الطبخ . نسبة الكيموسين chymosin المحتجز فى الخثرة تتأثر بشدة بدرجة pH عند صرف الشرش حيث ترتفع الكمية المحتجزة بأنخفاض pH . وقد وجد أن كمية صغيرة من المنفحة الميكروبية تحتجز فى الخثرة بصرف النظر عن درجة pH الخثرة وأن كمية ضئيلة من المواد المجبنة (اذا وجدت) تقاوم عملية الطبخ فى الجبن السويسرى بالرغم من أن بعض منها قد تقاوم فى جبن الموزاريلا حيث يؤكد ذلك تكوين α_{s1}- I casein .

جميع المنافح التجارية الأساسية عبارة عن بروتينيز حامضى acid proteinases ومن الأمور المستقرة أن المنفحة الحيوانية وبدائل المنفحة الرئيسية تؤثر على α_{s1}-casein وكذلك β-casein ويمكن أن يلاحظ هذا التأثير بدرجة كبيرة فى الجبن. يحلل الكيموسين β-casein فى محلول منظم ٠,٠٥ مول خلات الصوديوم عند pH ٥,٤ فى ٧ مواقع عند الروابط، Leu_{192}-Tyr_{193} ، Leu_{139}-Leu_{140}, Leu_{163}-Ser_{164}, Ala_{189}-Phe_{190} ليكون ببتيدات β-I ، β-II ، β-III على التوالى ، (شكل ٢-٦) وقد تحلل الروابط Leu_{165}-Ser_{166} Ser_{167}-Gln_{168} لتكون ببتيدات يمكن تمييزها بواسطة الهجرة الكهربية عن β-II وعند pH منخفض (٢-٣) ، تتحلل أيضا الرابطة Leu_{127}-Thr_{128} ليكون β-IV . يمكن تثبيط تحلل β-casein بالكيموسين بدرجة كبيرة بواسطة ٥٪ NaCl وتثبيطه تماما بواسطة ١٠٪ NaCl .

عندما تستخدم المنافح الحيوانية فإن β-casein يكون مقاوم لحد ما للتحلل فى الجبن المسواه بالبكتيريا أثناء التسوية وفى الجبن المسواه بالفطر حتى يسود البروتينيز الفطرى fungal proteinases بعد نمو الفطر (فمثلا حوالى ٥٠٪ من β-casein يقاوم حتى ٦ شهور). البيتابتيدات β-peptides التى تتكون عادة بواسطة المنفحة ، β-I ، β-II

، لا تظهر مما يدل على أن البلازمين أو البروتينيز البكتيرى مسئول عن تحلل β-casein فى هذه الجبن. وبدون شك فإن NaCl فى الجبن يكون عامل مثبط ولكن حتى فى غياب NaCl فإنه قد يحدث تحلل طفيف للبيتاكازين بواسطة المنفحة الحيوانية وعلى العكس من ذلك فإن المنفحة الميكروبية تحلل α_{s1}-casein والبيتاكازين بمعدلات متماثله تقريبا فى الجبن وبالرغم من تأثير البروتينيز الفطرى (*M.miehei*) على البيتاكازين قد يبدو مختلف عن تأثير الكيموسين فإن نشاطه أقل حساسية NaCl.

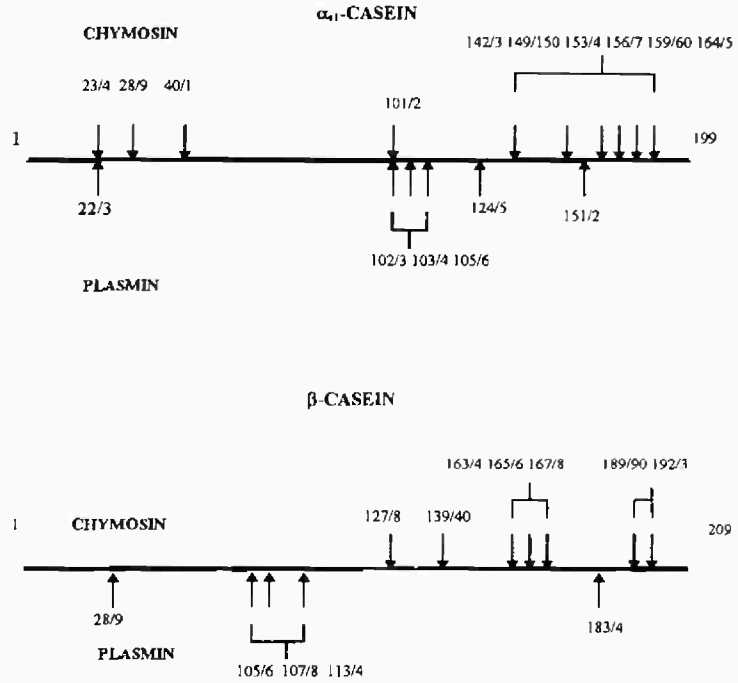
يوجد فى α_{s1}-casein فى المحلول عدة روابط حساسة للكيموسين والذى يعتمد تحللها على درجة pH وتركيز NaCl . وعلى عكس البيتاكازين فإن NaCl بتركيزات تصل الى ٥٪ ينشط تحلل α_{s1}-casein ويحدث تحلل بدرجة كبيرة فى وجود ٢٠٪ NaCl. ويحلل الكيموسين α_{s1}-casein عند الرابطة Phe_{23}-Phe_{24} مع أنتاج ببتيدات صغيرة (α_{s1}-CNf1-23) والذى يتحلل بواسطة أنزيمات بروتينيز البادىء مما يزيد من طراوة الجبن. فى محلول منظم فوسفات (٠,١ مول) عند pH ٦,٥ يتم تحليل α_{s1}-casein بالكيموسين عند المواقع التالية (شكل ٢-٦) :

Phe_{23}-Phe_{24} ، Phe_{28}-Phe_{29} ، Leu_{40}-Ser_{41} ، Phe_{153}-Tyr_{154} ، Leu_{149}-Phe_{150} ، Leu_{156}-Asp_{157} ، Tyr_{159}-Pro_{160} ، Trp_{164}-Tyr_{165} . عند pH ٥,٢ وفى وجود ٥٪ NaCl يتحلل α_{s1}-casein عند هذه المواقع بالإضافة الى Leu_{11}-Pro_{12} ، Phe_{32}-Gly_{33} ، Leu_{101}-Lys_{102} ، Leu_{142}-Ala_{143} ، Phe_{189}-Ser_{190} .

فى جبن التشدر والأنواع الهولندية يتحلل α_{s1}-casein تماما الى α_{s1}-I وبعض نواتج أقل من ذلك عند نهاية التسوية . فى الجبن المسواه بالفطر فإن α_{s1}-casein يتحلل تماما الى α_{s1}-I على الأقل قبل مرحلة التسوية بالفطر (أى قبل نمو الفطر بدرجة كافية) ويحدث تحلل شامل بعد ذلك نتيجة لفعل البروتينيز والببتيز الفطرى fungal proteinases and peptidases .

المنفحة الحيوانية تحتوى على حوالى ١٠٪ ببسين بقرى bovine pepsin الذى يساهم فى تحليل البروتين فى جبن التشدر حيث يقوم بتحليل الرابطة Leu_{109}-Glu_{110} فى α_{s1}-casein البيتيدات الناتجة من كازينات الصوديوم أو β-casein بواسطة الببسين البقرى تبدو مماثلة للبيتيدات الناتجة بواسطة الكيموسين كما أن تأثير بروتينيز فطر *M.miechei* على α_{s1}-casein بصفة عامة مماثل لتأثير الكيموسين ولكن معدلات تحلل

بعض الروابط الحساسة المختلفة لهذين الأنزيمين مختلفة وبالتالى فإن α_{s1}-I casein لا يتراكم فى الجبن المصنوعة بأستخدام المنفحة الميكروبية . ويتضح أيضا أن نشاط بروتينيز *M.miechei* على α_{s1}-casein المعزول ضعيف جدا فى غياب NaCl ولكن يحدث زيادة ملحوظة فى نشاطه فى وجود ٢٪ NaCl .



شكل ٢-٦ : التأثير المشترك للكيموسين والبلازمين فى الجبن

وقد وجد أن α_{s2}-casein مقاوم لفعل الكيموسين لحد ما . وعموما فإن مواقع تحلل هذا الشق من الكازين عند pH ٦,٥ تتركز فى المناطق الكارهة للماء فى الجزيىء وهى ٩٠-١٢٠ ، ١٦٠-٢٠٧ ، وهذه المواقع : Phe_{88}-Tyr_{89} ، Tyr_{95}-Leu_{96} ، Gln_{97}-Tyr_{98} ، Tyr_{98}-Leu_{99} ، Leu_{99}-Tyr_{100} ، Phe_{163}-Leu_{164} ، Phe_{174}-Ala_{175} ، Tyr_{179}-Leu_{180} ، ويبدو أن الموقع الرئيسى فى هذا التحلل Phe_{88}-Tyr_{89} . ويلاحظ أن الباراكابازين para-k-casein مقاوم لتأثير الكيموسين . وبالرغم من أن γ-casein يحتوى

على روابط حساسة للكيموسين مماثلة للـ β-casein الا ان γ-casein يتراكم فى الجبن أثناء التسوية حيث أن هذه الروابط يصعب التأثير عليها فى γ-casein كما فى β-casein نتيجة التفاعل الداخلى بين المجاميع الكاره للماء الطرفيه فى هذه الجزئيات.

فى الجبن الطرية المخللة المحتوية على NaCl مرتفع (٧-١٣٪) مثل الجبن الدمياطى وجد أن المنفحة تساهم بدرجة ملحوظة فى تحلل البروتين ويرجع ذلك الى استخدام تركيزات مرتفعة من المنفحة فى تجبن الجبن (مقارنة بمعظم الأنواع الأخرى من الجبن) واحتجازه جزء كبير من الأنزيمات المجبنة فى خثرة الجبن نظرا لأرتفاع محتواها من الرطوبة والى تخزين الجبن فى شرش مملح يحتوى على بقايا المنفحة المستخدمة فى تجبن اللبن . يتحلل α_s-casein فى الجبن الدمياطى بسرعة بينما β-casein يقاوم التحلل . ارتفاع محتوى الجبن من NaCl مع ارتفاع درجة حرارة التخزين المستخدمة عادة فى صناعة وتسوية الجبن الدمياطى يساعد على تجمع β-casein ويجعله أقل حساسية لفعل المنفحة وقد تم التعرف على ببتيد s-I α الذى يتكون من α_{s1}-casein بفعل المنفحة وكذلك γ-casein المتكون من β-casein بفعل البلازمين . كما أن نسبة β/α_{s1} تزداد تدريجيا فى الجبن الدمياطى خلال فترة التخزين .

تدل الدراسات على الخثرة والجبن المعقمه مع ميكروبات محددة أن المواد المجبنة مسئولة عن تحلل البروتين الى مستوى النتروجين الذائب فى الماء او عند pH ٤,٦ بالرغم من أن نسبة ضئيلة من النتروجين ذائبة فى PTA, TCA تتكون بواسطة المواد المجبنة . يعتقد أن تحلل البروتين بواسطة المنفحة مسئولة عن طراوة الجبن خلال المراحل الأولى من التسوية عن طريق تحلل α_{s1}-casein الى I-α_{s1} والذى يكون كافيا لتحلل شبكة البروتين المتصلة matrix . بدون شك فإن استمرار تحلل البروتين بالمواد المجبنة ، البلازمين والبروتينيز البكتيرى ينشأ عنه تغيير مقابل فى التركيب البنائى فى الجبن texture . وحتى فى الجبن التى تسوى سطحيا بالفطر وكذلك التى تسوى سطحيا بطبقة من الميكروبات smear فإن المواد المجبنة تعتبر ضرورية لتكوين التركيب البنائى texture المناسب كما فى جبن الكمبير بالرغم من أن الأرتفاع الكبير فى pH (حوالى ٧) نتيجة هدم الأحماض الأمينية بنزع مجموعة الأمين وتكوين الأحماض العضوية وأنتاج الأمونيا يكون ضروريا . أيضا تنتشر أنزيمات البروتينيز التى ينتجها الفطر الى داخل الجبن بدرجة محدودة وتساهم بدرجة طفيفه فى تحلل البروتين فى الجبن بالرغم من أن الببتيدات الناتجة بواسطة هذه

الأنزيمات فى الطبقة السطحية قد تتخلل الى داخل الجبن .

كميات ضئيلة من المواد المجبنة ، اذا وجدت ، تقاوم عملية الطبخ فى الجبن لدرجات حرارة مرتفعة والبلازمين، الذى يكون نشاطه مرتفع فى هذه الجبن، قد يلعب دورا هاما فى المراحل الأولى لتحليل البروتين .

يتم التأثير الثانوى فى تحلل البروتين بواسطة المواد المجبنة على الطعم بثلاث طرق :

١. بعض الببتيدات التى تتكون بواسطة المنفحة تكون قليلة بدرجة كافية للتأثير على الطعم. ولسؤ الحظ فإن بعض هذه الببتيدات تكون مرة bitter وتحلل البروتين بدرجة شاملة نتيجة للنشاط الزائد للمنفحة أو ظروف بيئية غير مناسبة مثل ارتفاع الرطوبة بدرجة كبيرة أو وجود NaCl بنسبة ضئيلة يؤدى الى حدوث المرارة .

٢. تعمل الببتيدات المتكونة بفعل المنفحة كبيئة لأنزيمات البروتينيز والببتيديز الميكروبية التى تنتج كميات قليلة من الببتيدات والأحماض الأمينية . وهذه المكونات تكون على الأقل خلفيه للطعم وربما تسبب مرارة bitterness إذا كان نشاط هذه الأنزيمات زائدا. يؤدى الأحماض الأمينية بواسطة الأنزيمات الميكروبية ، وربما التغيرات عن طريق تفاعلات كيماوية، يؤدى الى تكوين مكونات ذات طعم ومذاق مقبول (الأمينات ، الأحماض ، الأمونيا، thiol) التى تساهم بدرجة رئيسية فى صفات الطعم المميز للجبن.

التغيرات فى التركيب البنائى للجبن قد تؤثر على أنفراد مكونات الطعم والنكهة ، التى تنشأ من تحلل البروتين والدهن والكربوهيديت والتغيرات الثانوية secondary changes ، من الجبن خلال عملية المضغ ، mastication ، وقد يكون ذلك من المساهمات الهامة لتحلل البروتين فى طعم الجبن.

٥-٣-٣- البلازمين Plasmin

يحتوى اللبن على عدة أنزيمات طبيعية محللة للبروتين منها البلازمين والذى يعتبر الأنزيمى الرئيسى فى هذه المجموعة . البلازمين عبارة عن بروتينيز يشبه التربسين trypsin ودرجة pH المثلى حوالى ٧,٥ ومتخصص بدرجة عالية للروابط البتيدية التى تتضمن lysine. يحتوى اللبن فى الحقيقة على نظام بلازمين كامل : بلازمين plasmin ، بلازمينوجين plasminogen ، مثبطات البلازمين plasmin inhibitors ، ومنشطات بلازمينوجين plasminogen activators وكذلك مثبطات منشطات البلازمينوجين inhibitors of plasminogen activators . يرتبط البلازمين والبلازمينوجين مع جزئيات

الكازين ويحتجز مع جزئيات الكازين داخل خثرة الجبن ، حيث أن المكونات الأخرى لنظام البلازمين توجد فى السيرم (الشرش) ويفقد مع الشرش فى صناعة الجبن . ويحتوى اللبن على البلازمينوجين بنسبة تصل الى ٤ أضعاف البلازمين على الأقل وقد يحدث بعض النشاط خلال التخزين لبعض المنتجات . وفى اللبن يكون β-casein أكثر المكونات حساسية وتحلله يؤدى الى تكوين γ-caseins وبعض بروتيوز ببتون proteose peptones .

البلازمين يكون نشط على جميع شقوق الكازين وخاصة β-caseins, α_{s2} حيث يحلل β-casein فى المحلول عند ٥ مواقع رئيسية (شكل ٣-٦) :

Lys_{28}-Lys_{29}, Lys_{105}-His_{106}, Lys_{107}-Glu_{108}, Lys_{113}-Tyr_{114}, Arg_{183}-Asp_{184} مع تكوين ببتيدات عديدة polypeptides وبروتيوز ببتون proteose peptones.

يحلل البلازمين α_{s2}-casein فى المحلول عند ٨ مواقع :

Lys_{149}-Lys_{150}, Arg_{114}-Asn_{115}, ،Lys_{21}-Gln_{22}, Lys_{24}-Asn_{25}, Lys_{188}- Ala_{189}, Lys_{181}-Thr_{182}, Lys_{150}-Thr_{151}, Lys_{197}-Thr_{198} مع أنتاج حوالى ١٤ ببتيد ، ثلاثة منهم تسبب طعم مر .

بالرغم من أن البلازمين أقل نشاطاً على α_{s1}-casein عنه على β-casein أو α_{s2}- فإن تكوين λ-casein (مكون ثانوى للكازين) يعزى إلى فعل البلازمين على α_{s1}-casein. مواقع التحلل الرئيسية للبلازمين فى α_{s1}-casein (شكل ٢-٦):

Lys_{103}-Tyr_{104}, ، Lys_{105}-Val_{106}, ، Lys_{124}-Glu_{125}, ، Arg_{151}-Gln_{152}, ، Arg_{22}-Phe_{23}, ، Lys_{102}-Lys_{103}, . بالرغم من وجود عدد من الروابط التى يمكن أن تتحلل بفعل البلازمين فى κ-casein إلا أن البلازمين له نشاط ضعيف على هذا البروتين .

ومعظم البلازمين/ البلازمينوجين فى اللبن يحتجز فى الجبن وقد يساهم لحد ما على الأقل فى تسوية معظم أنواع الجبن . يبلغ نشاط البلازمين فى جبن الأنواع السويسرية ضعف نشاطه فى جبن التشدر الذى قد يعزى الى الأختلاف فى pH هذه الجبن عند صرف الشرش ، كما أن البلازمين يظل مرتبطا بجزئيات الكازين فى نطاق pH بين ٤,٦-٦,٦ مما يدل على أنه فى الجبن الناتجة بالمنفحة فإن نطاق pH الذى عنده يتم صرف الشرش لا يؤثر على احتجاز البلازمين فى الجبن كما أن pH عند صرف الشرش أو طريقة التمليح لا يؤثر على نشاط البلازمين فى الجبن. ومع ذلك فإن نشاط البلازمين فى معلق الكازين وفى خثرة المنفحة والجبن تزداد بزيادة درجة حرارة الطبخ ويعزى ذلك الى تنشيط

البلازمينوجين لذلك فإن نشاط البلازمين فى الجبن يتوقف على درجة حرارة الطبخ المستخدمة فى عمليات التصنيع وبالتالى يلاحظ أختلافات بين الجبن السويسرية والتشدر.

تزيد البسترة من نشاط البلازمين فى اللبن نتيجة اتلاف مثبطات البلازمين أو زيادة معدل تنشيط البلازمينوجين. ويعتقد حدوث مثل هذه التغيرات فى الجبن حيث يتحول نسبة أكبر من البلازمينوجين الى بلازمين فى الجبن التى تطبخ لدرجات حرارة عالية نتيجة اتلاف مثبطات منشطات البلازمينوجين . ونظرا لأن المثبطات المختلفة لنظام البلازمين توجد فى سيرم اللبن فإنه من المحتمل أن تفقد فى الشرش أثناء صناعة الجبن.

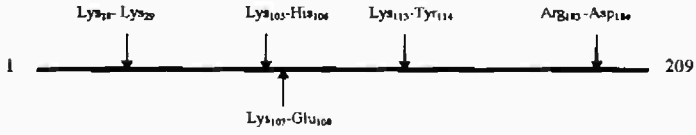
وبصفة عامة يمكن القول أن البلازمين يساهم فى تحليل البروتين فى الجبن . وفى الجبن المسواه داخليا بالبكتريا بالرغم من أن β-casein أكثر مقاومة للتحلل عن α_{s1}-casein إلا أنه يتعرض للتحلل . ونظرا لأن β-casein I (وهو الناتج الرئيس من تحلل β-casein بالكيموسين) لا يتكون فإن تحليل β-casein قد يعزى الى فعل البلازمين و / أو أنزيمات بروتينيز البادىء . يزداد تركيز γ-caseis أثناء تسوية عدة أنواع من الجبن مثل الجودا Gouda ، الأمينتال Emmental ، الرومانو Romano ، الجرويير Gruyere . إضافة حامض 6-amino hexanoic acid (AHA) الى خثرة الجبن لتثبيط البلازمين أدى الى حدوث فروق واضحة فى مستويات وأسلوب تحلل البروتين بين جبن التجارب وجبن المقارنة وهناك مثبطات أخرى مثل dichloro-isocoumarin يفضل أستخدامه عن AHA.

جزئيات الكازين فى اللبن لها القدرة على الأرتباط بالبلازمين / البلازمينوجين بدرجة تصل الى ١٠ أضعاف تركيزه الموجوده فى اللبن وعندما يصنع الجبن من لبن مدعم بالبلازمين بدرجة تصل الى حوالى ٦ أضعاف مستوى وجوده طبيعيا فى اللبن فإن الأنزيم المضاف يبقى فى خثرة الجبن ويسرع بدرجة ملحوظة من تحلل البروتين وكذلك التسوية بدون ظهور عيوب مصاحبة .

يحتوى اللبن أيضا على أنزيم بروتينيز حامضى (درجة pH المثلى ٤,٠) ويحتمل أن يكون Cathepsin D . هذا الأنزيم غير مقاوم للحرارة نسبيا ومن المحتمل أن يتم أتلافه بدرجة كبيرة بواسطة البسترة . تأثير هذا الأنزيم على الكازينات مماثل بدرجة كبيرة للكيموسين ولكن يختلف فى تحلل بعض الروابط الببتيدية . كما يبدو أن α_s-casein بيئة

فقيرة لهذا الأنزيم كما أن قدرته على تجبن اللبن ضعيفة .

وقد قام بعض الباحثين بدراسة التأثير المشترك للكيموسين والبلازمين نظريا على مواقع التحلل الرئيسية فى كل من β-caseins ,α_{s1}- (شكل ٣-٦) ووجد أن نواتج التحلل تكون عبارة عن ببتيدات صغيرة وأن تأثير كل من الكيموسين والبلازمين مكمل للآخر وخاصة على β-casein حيث أن الكيموسين يكون نشاطه أساسا فى أتجاه C-terminal بينما البلازمين يكون نشاطه بصفة رئيسية فى إتجاه N-terminal . وحتى الآن لم يتم دراسة الفعل المشترك لهذين الأنزيمين على الكازينات المعزولة و لم يعرف عما إذا كانت تعمل معا بطريقة متناسقة فى الجبن .



نواتج التحلل

Proteose Peptones	**γ-Caseins**
PP8f β-CN f1-28	γ^1-CN (β-CN f29-209)
PP8s β-CN f29-105	γ^2-CN (β-CN f106-209)
PP8s β-CN f29-107	γ^3-CN (β-CN f108-209)
PP-T β-CN f29-113	γ^4-CN (β-CN f114-209)
PP5 β-CN f1-105	γ^5-CN (β-CN f184-209)
PP5 β-CN f1-107	

شكل ٣-٦ : تأثير البلازمين على β-Casein

٥-٣-٤- نظام تحلل البروتين فى بكتريا حمض اللاكتيك

بكتريا حامض اللاكتيك على جانب كبير من الأهمية نظرا لأستخدامها فى أنتاج أنواع عديد من الأغذية المتخمرة وخاصة الجبن واليوجهورت وغيرها من منتجات الألبان المتخمرة . وتشمل مزارع بادئات الألبان :

Mesophilic *Lactococcus* and *Leuconostoc* spp., thermophilic *Lactobacillus* spp. and *S.salivaruis* subsp. *thermophilus*

وهذه المزارع يجب أن تنمو بدرجة جيدة لتنتج حامض لاكتيك بمعدلات مناسبة خلال عمليات التصنيع . الأنتاج السريع للحموضة المصحوب بأنخفاض فى pH يعتبر

العامل الرئيسى فى السيطرة على نمو البكتريا المسببة للفساد والمرضية .

أحتياجات بكتريا حمض اللاكتيك الغذائية معقدة ولها متطلبات معقدة من الأحماض الأمينية وتركيز الأحماض الأمينية الحرة فى اللبن غير كافية للوصول بنمو البادىء الى الحالة المثلى . وللتغلب على ذلك فإن الـ Lactococci يحتوى على نظام لتحلل البروتين يتضمن مجموعة من أنزيمات البروتينيز والببتيديز التى تحلل بروتينات اللبن الى أحماض أمينية حرة أساسية فى تغذية هذه الأنواع من البكتريا.

أ- أنزيمات البروتينيز Proteinases

أول خطوة فى سلسلة التفاعلات التى ينشأ عنها أنتاج أحماض أمينية من الكازين تتضمن أنزيمات البروتينيز. بصفة عامة فإن هذه الأنزيمات (Lactococcal proteinases) التى تنتجها Lactococci ترتبط بجدار الخلية cell-wall ما عدا فى حالة *L. lactis* subsp. *cremoris* MLI التى تفرز بروتينيز فى بيئة النمو . يمكن أن ينفرد أنزيم البروتينيز من غلاف الخلية وذلك بالتحضين فى محلول منظم خال من الكالسيوم وتعتبر ذلك أول خطوة فى عزل هذه الأنزيمات . تحضين الخلايا مع ليسوزيم lysozyme أو لايسين فاج phage lysin يؤدى أيضا الى أنفراد البروتينيز المرتبط بغلاف الخلية .

أنزيمات البروتينيز المرتبطة بجدار خلايا بكتريا حمض اللاكتيك من نوع serine proteinases . والبروتينيز الناتجة من Lactococci تتماثل بدرجة كبيرة مع subtilisins وهو أنزيمات بروتينيز تنتجها *Bacillus* sp. ، وهذه الأنزيمات تحتوى على أحماض الأسبارتيك aspartic acid ، الهستدين histidine والسرين serine عند مراكزها النشطة ، هذا بالإضافة الى أن subtillisins يفرز بواسطة الخلايا المنتجة بينما lactococcal proteinases مرتبطة بجدار الخلية . أنزيمات البروتينيز الرئيسية فى بكتريا حمض اللاكتيك المرتبطة بجدار الخلية يبلغ وزنها الجزيئى ١٤٥ kDa ودرجة pH المثلى ٥,٥-٦,٢ وتقسم هذه الأنزيمات الى ٣ مجاميع :

- **PI** : درجة pH المثلى حامضى ودرجة الحرارة المثلى ٣٠°م ويحلل β-caein مع تحلل بطىء جدا لـ α_{s1}-casein .
- **PIII** : درجة pH المثلى حامضى درجة الحرارة المثلى ٤٠°م ويحلل α_{s1}-casein بالإضافة الى تحلل β-casein و κ-casein .
- **PII (PI/PIII)** : درجة pH المثلى قريب من التعادل ودرجة الحرارة المثلى ٣٠°م

ونشاطه النوعى متوسط يقع بين النوعين السابقين ويعتقد أن نشاط PII قد يعزى الى التباين فى ثبات PI تحت ظروف التفاعل المستخدم لتمييز PI و PIII.

وقد وجد أن بروتينيز PI يتميز بمجال نشاط واسع على β-casein وتحتوى مواقع روابط التحلل على جلايسين أو سيرين ومن المحتمل أن تقع فى مناطق من الجزيىء تتميز بكارهيتها الشديدة للماء حيث يكون محتوى البرولين مرتفع والشحنة منخفضة . وعموما فإن بروتينيز PIII يكون مجاله تأثير على β-casein أوسع عن بروتينيز PI لذلك فإن سلالات PIII تنتج ببتيدات مرة bitter بدرجة أقل من السلالات PI .

الدور الرئيسى لأنزيمات البروتينيز فى Lactococci فى الجبن هو تحلل الببتيدات الكبيرة والمتوسطة الحجم الناتجة من تحلل شقوق الكازينات المختلفة بواسطة الكيموسين أو البلازمين . كما أتضح أن بروتينيز Lactococci ليس له أهمية فى المراحل الأولى لتحلل β- casein فى جبن التشدر .

ب – أنزيمات الببتديز Peptidases

الببتيدات التى تحتوى على ٦–٧ أحماض أمينية يمكن أن تنتقل خلال جدار الخلية حيث تتحلل الى ببتيدات ثنائية وثلاثية وأحماض أمينية حرة . معظم الببتيدات التى تنتج من α_{s1}- or β-casein بواسطة بروتينيز Lactococci تكون أكبر فى الحجم من هذه الببتيدات ومن الضرورى تحليل هذه الببتيدات لدرجة أكبر حت يمكن الأستفادة بها فى تغذية ونمو الخلايا .

توجد أنزيمات ببتديز داخل الخلية وكذا أنزيمات مرتبطة بغلاف وجدار الخلية تختلف فى الوزن الجزيئى وكذلك درجة الحرارة ودرجة pH المثلى لها. بعض هذه الأنزيمات فى Lactococci يمكن تنشيطها بعدة معادن مثل Mn, Zn, Co, Mg ويتم تثبيطها بالـ EDTA . تؤكد نتائج البحوث فى هذا المجال على أن جميع أنزيمات ببتديز Lactococci هى أنزيمات داخلية intracellular ولا يوجد أى نشاط لأنزيمات ببتيديز خارجية extracellular فى هذه البكتريا .

يوجد نطاق واسع من أنزيمات البتديز فى Lactococci منها exopeptidases التى تساعد على أنفراد واحد أو أثنين حامض أمينى من السلسلة البتدية N-terminal وتوجد عدة صور من exopeptidases : amino-, di-, tri-, and tetrapeptidases

وكذلك endopeptidases الذى يحلل الببتيدات الكبيرة عند بعض الروابط الداخلية فى السلسلة الببتيدية على مسافة من الطرف الكربوكسيل أو الأمينى وبناء على ذلك فأنه يمكن النظر الى أنزيم proteinase كأنزيم endopeptidase .

كما تحتوى Lactococci على أنزيمات ببتديز متخصصة للبرولين proline specific peptidases تقوم بتحليل الروابط بين البرولين وبقية سلسلة الببتيدات ولكن يبدو أنها لا تحتوى على أنزيم decarboxy peptidase .

جـ- أنزيمات أمينوببتديز Amino peptidases

تتميز هذه الأنزيمات بأتساع نطاق نشاطها حيث تعمل هذه الأنزيمات على عدة بيئات وتوجد عادة فى Lactococci مرتبطة بغشاء الخلية . كما أن هذه الأنزيمات يتم تثبيطها تماما بواسطة مواد مخلبيه chelating agents (ترتبط بالعناصر المعدنية) وكذلك بالعناصر ثنائية التكافؤ مثل Cu^{2+},Hg^{2+} ولذلك يطلق عليها metalloenzyme ويمكن استعادة نشاط الأنزيم بأستخدام Co^{2+} أو Zn^{2+} ويقوم هذا الأنزيم بتحليل الببتيدات الكبيرة الناتجة من تحلل Lactococcal proteinases وتتضمن هذه الببتيدات : ثنائى -di ، ثلاثى -tri ورباعى -tetra وخماسى الببتيدات pentopeptides وكذلك الببتيدات العديدة النشطة حيويا . وقد أمكن عزل أنواع من هذه الأنزيمات من Lactococci حيث تم تنقية أنزيم من *L. cremoris* HP يبلغ وزنه الجزيئى ١٣٠,٠٠٠ ، أنزيم آخر من *L.cremoris* ACI وزن الجزيئى ٣٦ kDa وآخر من *L.cremoris* Wg2 وزنه الجزيئى ٩٥ kDa درجة الحرارة ودرجة pH المثلى لهذه الأنزيمات ٤٠°م ، ٧,٠ على الترتيب .

كما تم عزل أنزيم آخر من *Lcremoris* AM2 وزنه الجزيئى ٥٠ kDa ولكنه يختلف عن الأنزيمات الأخرى حيث لا يكون من النوع metalloenzyme وتدل كثير من الأبحاث أن أنزيمات الببتيديز فى Lactococci تتميز بنطاق واسع من النشاط .

د- أنزيمات داى ببتديز Dipeptidases

تمكن البعض من عزل وتنقية أنزيم dipeptidase من *L. cremoris* H61 قادر على تحلل L-leu-Gly والوزن الجزيئى لهذا الأنزيم ١٠٠,٠٠٠ ودرجة pH المثلى ٨,٠ ويقاوم درجة ٥٠°م ويمكن تثبيطه بـ EDTA واعادة تنشيطه بواسطة Co^{2+} (ويتميز بنشاط واسع بالنسبة للبيئات التى يعمل عليها) ويؤثر على عدد كبير من البيئات ثنائية الببتيد dipeptide ما عدا التى تحتوى على جلايسين أو البرولين عند N-terminal . ومن

المتوقع أن يسرع هذا الأنزيم من أنتاج الأحماض الأمينية فى الجبن أثناء التسوية .

كما تمكن آخرون من تنقية أنزيم dipeptidase ذات وزن جزيئى ٤٩,٠٠٠ من *L.cremoris* Wg2 وهو من نوع metalloenzyme ذات درجة pH مثلى ٨,٠ ودرجة حرارة مثلى ٥٠°م ويشبه الأنزيم السابق (الناتج من H61) فى تأثيره على عدة بيئات من الببتيدات ولكن توجد بعض الأختلافات بينهما فمثلا يتحلل glutamate dipeptides بواسطة أنزيم H61 ولكن ليس بأنزيم Wg2 وكل من الأنزيمين يمكن تثبيطهما بمواد مختزلة ويحتاج نشاطهما الى أيونات معدنية ، ومع ذلك فإن ملليمول واحد من Co^{2+} يحدث تثبيط لنشاط أنزيم Wg2 بينما يزيد من نشاط أنزيم H61 .

هـ- أنزيمات تراى ببتديز Tripeptidases

جدار خلايا بعض سلالات Lactococci يحتوى على أن أنزيم tripeptidase نشط ضد ببتيد ثلاثى Leu-leu-leu ويحتوى على أنزيم آخر يحلل عدد كبير من الببتيدات الثنائية والثلاثية. وقد أمكن تنقية tripeptidase من *L.cremoris* Wg2 بصورة متجانسة ويعمل على عدد كبير من الببتيدات الثلاثية ويصل الوزن الجزيئى لهذا الأنزيم الى حوالى ١٠٤,٠٠٠ ويثبط بـ EDTA ومواد مختزلة وكذلك Cu^{2+} ويمكن استعادة نشاط الأنزيم بواسطة Zn^{2+} أو Mn^{2+} أو جزئيا بواسطة Co^{2+} .

ثم تنقية أنزيم a proline iminopeptidase من *L.cremoris* HP وهو أنزيم ببتديز يحلل رابطة ببتيدية عندما يكون البرولين فى نهاية السلسلة الببتيدية . يبلغ الوزن الجزيئى لهذا الأنزيم ١٣٠ Da وهو من النوع metallo enzyme ودرجة الحرارة المثلى له ٣٥°م و pH ٨,٠ وهذا الأنزيم لا يحلل الببتيدات الرباعية أو الخماسية أو ثنائى أو ثلاثى البرولين .

و- أنزيمات أندوببتديز Endopeptidases

يطلق لفظ endopeptidase على الأنزيمات التى تحلل الروابط الداخلية فى الببتيدات وليس فى البروتين وقد تم تنقية بعض هذه الأنزيمات من بعض سلالات *L.cremoris* وتختلف درجة الحرارة المثلى من ٣٧°م أو ٤٠°م أو ٥٠°م و pH المثلى ٦,٠ أو ٧,٠ ويتراوح الوزن الجزيئى لها من ٨٠-٩٨ kDa وهذه الأنزيمات من نوع metalloenzymes ويمكن تثبيطه بـ EDTA وتنشيطه بـ Mn^{2+} وهذه الأنزيمات تشارك فى تحليل الببتيدات الناتجة من تحلل α_{s1}-casein بواسطة الكيموسين وهذه الأنزيمات لا تؤثر عليها مثبطات أنزيم proteinase ولذلك فإنه يختلف عن proteinases الناتج من

البكتريا Lactococci .

ز- أنزيمات ببتديز متخصصة للبرولين Proline specific peptidases

نظرا لأن β-casein مرتفع فى محتواه من البرولين proline (١١,٧٪ فى ∝-casein ، ١٦,٧ ٪ فى β-casein) فإن تحلله بواسطة أنزيم بروتينيز جدار الخلية cell wall-proteinase يؤدى الى ببتيدات غنية فى البرولين التى يمكن تحللها فقط بأنزيمات ببتيديز متخصصة للبرولين proline specific peptidases ، يوجد خمس أنواع من أنزيمات exopeptidases التى يمكن أن تحلل الروابط الببتيدية المتضمنة برولين كما يتضح من الجدول التالى :

Substrate البيئة	Enzyme الأنزيم
X - Pro ↓ - Y....	Aminopeptidase P
Pro ↓ - X.....	Proline iminopeptidase
Pro ↓ - X	Proline iminopeptidase (prolinase)
X ↓ - Pro	Imidodipeptidase (prolidase)
X - Pro ↓ - Y.....	Dipeptidylaminopeptidase

وتختلف درجة الحرارة المثلى لنشاط هذه الأنزيمات بين ٤٥-٥٠°م ودرجة pH المثلى من ٧-٩ وتوجد فى سيتوبلازم الخلية .

٥-٣-٥- مساهمة بروتينيز البادىء فى تسوية الجبن

نظام تحلل البروتين فى البادىء على درجة كبيرة من الأهمية فى تسوية الجبن حيث أن الأنزيمات المحللة للبروتين فى خلايا بكتريا البادىء تفرز فى الجبن عندما تتحلل الخلايا بعد موتها.

يعتبر أنزيمات البروتينيز / الببتيديز proteinases/peptidases المسئول عن تكوين الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية الحرة . وقد وجد أن بروتينيز البادىء يشارك بدرجة محدودة فى تكوين ببتيدات كبيرة ذائبة فى الماء أو عند pH ٤,٦ ومع ذلك فإن بروتينيز

بكتريا Lactococci يستطيع أن يحلل الكازينات الكامله فى المحلول وخاصة β-casein وعدد قليل نسبيا من السلالات يستطيع أن يحلل α_{s1}-casein وخاصة من نوع P-III ولكن ذلك لا يمثل أهمية فى تسوية الجبن حيث أن البروتين يتحلل بواسطة الكيموسين وغيرها من أنزيمات المنافع الأخرى . كما أن البروتينيز المرتبط بجدار الخلية يمكن أن يحلل بسهولة α_{s1} f1-23 (هو أول ببتيد يتكون من α_{s1}-casein بفعل الكيموسين) عند روابط ببتيد مختلفة وقد أمكن التعرف على بعض الببتيدات الناتجة فى جبن الجودا Gouda . فى أنواع الجبن الهولندية والتشدر فإن تركيز β-casein ينخفض تدريجيا أثناء التسوية مع تكوين كمية ضئيلة من β-I (نتيجة لعدم وجود نشاط للكيموسين) ولكن مع تكوين γ-caseins (مما يدل على وجود نشاط للبلازمين). البروتينيز المرتبط بجدار الخلية فى *L. lactis* NCDO763 يحلل خمس روابط فى β-casein وهى :

Ser_{166}-Gln_{167}, Gly_{175}-Lys_{176}, Gln_{182}-Agr_{183}, Tyr_{193}-Gln_{194}, Ile_{207}- Ile_{208} وهى الروابط التى تقع فى المنطقة الكارهة للماء بشدة فى β-casein وهى المنطقة فى β-casein التى تتحلل فى المحلول بواسطة الكيموسين . لذلك فإن الكيموسين لا يحلل β-casein فى الجبن كما أن بروتينيز البادىء لا يستطيع تحلل هذه المنطقة من β-casein فى الجبن.

تصل أعداد بكتريا البادىء الى أقصاها فى الجبن التشدر وجبن الأنواع الهولندية عند نهاية عملية التصنيع أو بعدها بقليل وتنخفض الأعداد الحية لهذه البكتريا سريعا بعد ذلك وتتحلل الخلايا بعد موتها وينطلق منها الأنزيمات الداخلية والتى تنتشر فى البيئة المحيطة . وقد وجد أن خلايا البكتريا تبقى سليمة بدرجة كبيرة فى الجبن ويعزى ذلك الى التركيب البنائى للخثرة التى تسكن فيها هذه الخلايا وكذلك التركيز المرتفع للمواد الذائبة فى الوسط المائى مما يدل على أن الأنزيمات الداخلية فى الخلايا مثل peptidases قد لا تكون جاهزة للأتصال بالبيئة .

الجبن الناتجة بأستخدام بادىء لا يحلل البروتين (Prt^-) تحتوى على تركيزات أعلا بدرجة كبيرة من النتروجين الذائب عند pH ٤,٦ عما فى الجبن الناتجة بأستخدام بادىء عادى له القدرة على تحليل البروتين (Prt^+) وقد يرجع ذلك الى استخدام كمية أكبر من النتروجين الذائب من البيئة فى نمو وتنشيط بادىء (Prt^-) . ومع ذلك تزداد تركيزات النتروجين الذائب بمعدلات متماثلة أثناء التسوية مما يدل على أن بروتينيز البادىء ليس له دورا هاما فى تحليل البروتين. كما أشارت نتائج بعض البحوث الى تكوين تركيزات

منخفضة جدا من الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية الحرة فى الجبن المعقمة والخالية من البادىء مما يدل على أن الببتديز الداخلية فى البادىء intracellular starter peptidases تكون نشطة فى الجبن أثناء الصناعة.

٥-٣-٦- نظام تحلل البروتين فى البادئات المحبة للحرارة المرتفعة

بالإضافة الى استخدام بكتريا حمض اللاكتيك المحبة للحرارة المعتدلة كبادىء فى تخمرات الألبان وغيرها من الأغذية فإن بادئات الحرارة المرتفعة thermophilic starters مثل :

S.salivarius subsp. *thermophilus* وأحد أنواع *Lactobacillus* spp. والقادرة على مقاومة درجات حرارة تصل الى ٦٠°م تستخدم فى عدد من الجبن ومنتجات الألبان المتخمرة . يستخدم *Lb.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* و *S.thermophilus* فى صناعة جبن البرمسان Parmesan والرومانو Romano بينما تستخدم *Lb.bulgaricus* ، *Lb.lactis* أو *Lb.helveticus* و *S.thermophilus* فى انتاج أنواع الجبن السويسرية بالإضافة الى *Propionibacterium shermanii* التى تعتبر ضرورية فى تكوين العيون نتيجة أنتاج CO_2 . كما تستخدم thermophilic Lactobacilli فى صناعة جبن الموزاريلا Mozzarella ، البرفلونو Provolone و البريك Brick واللامبرجر Limburger .

تنمو *S.thermopilus* بدرجة أفضل عند ٤٤°م وتحلل اللاكتوز بواسطة β-galactosidase ومن الصفات الهامة لهذا الميكروب عدم قدرته على استخدام أنواع كثيرة من مصادر الكربون حيث أن معظم السلالات تخمر عدد قليل من السكريات أساسا اللاكتوز ، الجلوكوز والسكروز . و *S.thermophilus* يشبه Lactococci المحبة لدرجات الحرارة المعتدلة فى احتياجاتها الغذائية حيث تتطلب مجموعة من الأحماض الأمينية فى نموها وبالرغم من ذلك فأن *S.thermophilus* قدرتها ضعيفة على تحلل البروتين ونموها فى اللبن مماثل للسلالات *L.cremoris* غير القادرة على تحلل البروتين (Prt⁻) . لهذا تستخدم *S.thermophilus* بالأشتراك مع *Lactobacillus* تتميز بقدرتها العالية على تحلل البروتين كبادىء مختلط فى كثير من التخمرات اللبنية. تتكون بادئات اليوجهورت من *S.thermophilus* ، *Lb.bulgaricus* حيث تنشط *S.thermophilus* بواسطة الأحماض الأمينية الحرة التى تتكون فى اللبن نتيجة تحلل البروتين بواسطة *Lb. bulgaricus* بينما انتاج حمض الفورميك و CO_2 بواسطة *S.thermoptlus* ينشط

Lb.bulgaricus لأنتاج الحموضة . الأسيتالدهيد الذى يساهم فى تكون الطعم المميز لليوجهورت يشتق من الحمض الأمينى الثرونين threonine بواسطة أنزيم threonine aldolase الذى ينتجه *S. theromphilus* . نتيجة القدرة الضعيفة لهذا الميكروب على تحلل البروتين فأن إستخدام نواتج تحلل الكازين أنزيميا ينشط من نموه فى اللبن . نمو هذا الميكروب فى اللبن الناتج من مواشى مصابة بمرض التهاب الضرع mastitic milk يكون أكثر نشاطا ويعزى ذلك الى وجود مستويات مرتفعة من أنزيمات اللبن الطبيعية المحللة للبروتين فى هذا اللبن .

النتائج المتوفرة فى هذا الشأن تدل على أن البروتينيز والببتيديز المرتبط بجدار الخلية والببتيديز فى *S. thermophilus* يكون قادرا على تحلل البروتين الى أحماض أمينية أساسية فى تغذية هذه البكتريا وأنتاج الحموضة . وقد أشار بعض الباحثين الى وجود نشاط بروتينيز قوى عند جدار الخلية والغشاء السيتوبلازمى فى *S.thermophilus* ومع ذلك فقد وجد ٣ أنواع من نشاط الببتديز :

aminopeptidase ، dipeptidylpeptidase ، dipeptidase فى السيتوبلازم التى تصبح نشطة فى تسوية الجبن وذلك بعد موت وتحلل الخلايا .

فى معظم التخمرات اللبنية تستخدم نوع من *Lactobacillus* بالأشتراك مع *S.thermophilus* للأسباب السابق ذكرها ويعتبر *Lb.lactis, Lb.helveticus* البادئات الرئيسية فى صناعة أنواع الجبن السويسرية وذلك لمقدرتها على النمو عند درجات الحرارة المرتفعة المستخدمة أثناء التخمرات بينما *Lb.bulgaricus* يستخدم بصفة اساسية فى أنتاج اليوجهورت وكما فى *S.thermophilus* فأن أنزيم β-glactosidase هو الأنزيم السائد فى تحلل اللاكتوز بواسطة هذه السلالات .

وكما هو الحال فى mesophilic lactococci فإن *S.thermophilus* وLactobacilli لها أحتياجات غذائية معقدة وتحتوى على نظام دقيق لتحليل البروتين قادر على تحلل بروتينات اللبن الى أحماض أمينية ضرورية وأساسية للنمو بالإضافة الى أن هذه الأحماض الأمينية لها دور كمصدر لمكونات طعم الجبن .

تدل معظم التقارير أن بروتينيز *Lactobacillus* spp. مرتبط بجدار الخلية أو يوجد داخل الخلية Intracellular . وهذا الأنزيم يتميز بقدرات واسعة فى التأثير على كل من ∝- and β-caseins وهو من نوع serine proteinase. أنزيم البروتينيز من

Lb.acidophilus يبلغ وزنه الجزئى ١٤٥ kDa وهو مماثل لبروتينيز Lactococci ودرجة pH المثلى لأنزيم بروتينيز *Lb.acidophilus* حوالى ٥,٧ بينما تكون ٧,٥-٨,٠ لأنزيم البروتينيز *Lb.helveticus* وعموما فأن بروتينيز عدة أنواع من Lactobacilli يحلل α_{s1}-casein بالإضافة الى β-casein أو κ-casein لذلك فإن الببتيدات العديدة polypeptide الناتجة تتحلل بدرجة أكبر بواسطة peptidases . وقد ذكر البعض أنه يوجد فى غشاء سيتوبلازمى lactobacilli عدة peptidases بينما أشار البعض إلى وجود أنزيمات خلوية من aminopeptidase ، dipeptidase ، endopeptidase ، carboxypeptidase داخل خلايا *Lb.casein* .

وفضلا عن ذلك تحتوى *Lb.plantarum* على أنزيم aminopeptidase وكذلك نشاط و dipeptidase داخل الخلايا ولكن يخلو من نشاط أنزيم ,endopeptidase carboxypeptidase.

سلالات *Lb.helveticus* بها نشاط مرتفع لأنزيم aminopeptidase مقارنة بغيرها من سلالات *Lactobacillus* و قد أستخدم مستحضرات غير نقية لهذه الأنزيمات للأسراع فى تسوية جبن الجودا Gouda .

٥-٣-٧- مساهمة بادئات Lactobacilli فى تحلل البروتين

الدراسات على مساهمة البادئات المحبة للحرارة المرتفعة thermophilic starters فى تحليل البروتين ما زالت محدودة و لم تحظى بالأهتمام الذى أعطى للبادئات المحبة للحرارة المعتدلة ومع ذلك فإن تحلل للبروتين يتم بدرجة كبيرة فى جبن الأنواع السويسرية والأنواع الإيطالية الجافة مثل البرمسان والجرانا Grana حيث يسيطر نواتج تحلل البروتين على طعم هذه الجبن.

وكما سبق فأنه يحدث تغيير بدرجة كبيرة أو كاملة فى طبيعة المواد المجبنة (دنترة) denaturation بواسطة درجات الحرارة المرتفعة التى تستخدم فى طبخ خثرة هذه الجبن . ومع ذلك فإن البلازمين يكون نشطا جدا ويرجع ذلك الى تنشيط البلازمينوجين plasminogen الذى يعتبر عاملا رئيسيا فى تحلل البروتين فى الجبن التى تطبخ على درجة حرارة مرتفعة لذلك فإن نظام تحلل البروتين فى البادئات المحبة للحرارة المرتفعة يشارك بدرجة كبيرة فى تحلل البروتين مع تكوين الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية الحرة.

ترجع صعوبة إجراء البحوث فى الجبن التى تطبخ على درجات حرارة مرتفعة الى

طريقة الصناعة فمثلا فى جبن الأمينتال والجرويير ، يجب أن تصنع فى أقراص كبيرة (٤٠-٦٠ كجم) لتكوين العيون بدرجة جيدة وتصنع البرمسان والجرانا بالطرق التقليدية مما يجعل من الصعب تصنيع هذه الأنواع الأربعة وغيرها من الجبن المماثلة تحت ظروف تعطى جبن بميكروبات محددة . وفى بعض الأحوال فإن الجبن التى تطبخ على درجات حرارة مرتفعة تكون أسهل عن جبن البادئات المحبة للحرارة المعتدلة حيث أن المواد المجبنة يحدث لها تغيير فى طبيعتها (دنترة denaturation) كما أن درجات الحرارة المرتفعة فى عملية الطبخ تمنع نمو معظم الميكروبات الملوثة ويمكن أن يحدث تثبيط لنشاط البلازمين بواسطة بعض المثبطات المتخصصة مثل 6-amino-hexanoic acid (AHA) أو 3,4-dichloroisocoumarian .

٥-٣-٨- بكتريا حمض اللاكتيك بخلاف البادىء (NSLAS)

تصل أعداد NSLAB الى ١٠ ^{٧} - ١٠ ^{٨}/ جم أثناء تسوية كثير من الجبن . وعادة تسود Lactobacilli بكتريا NSLAB كما أن Pediococci وخاصة *P.pentosaceus* على جانب كبير من الأهمية . من المعروف أن جبن التشدر وغيرها من الأصناف الأخرى المصنوعة من اللبن الخام تسوى أسرع ويكون الطعم أكثر وضوحا عن الجبن المصنوعة من اللبن المبستر بالرغم من أن الجودة قد تكون مختلفة مما يدل على أن NSLAB تلعب دورا فى تسوية الجبن بالرغم من أنها قد تحدث بعض المشاكل وخاصة بكتريا حمض اللاكتيك العصوية المختلطة التخمر heteropermentative lactobacilli و Pediococci . معدل تبريد الخثرة بعد التعبئة فى القوالب يعتبر عاملا رئيسيا فى تحديد نمو بكتريا NSLAB وبالتالى جودة الجبن . وعموما يختلف معدل تبريد الخثرة بين المصانع وفى داخل المصنع الواحد أيضا طبقا لأمكانيات الأنتاج المتاحة فى كل مصنع .

تسبب البسترة عدد من التغيرات بالإضافة الى القضاء على الميكروبات الموجودة فى اللبن ، أتلاف الأنزيمات الطبيعية فى اللبن وتغيير فى طبيعة (دنترة) بروتينات الشرش والذى يتفاعل مع الكازينات ، كما قد يحدث تغيير فى الأتزان الملحى بالإضافة الى أتلاف الفيتامينات وغيرها من عوامل النمو. ولفترة قريبة كان من الصعب تقييم أهمية التغيرات التى تنشأ عن هذه المعاملات الحرارية فى تسوية الجبن . وفضلا عن ذلك فإن إستخدام الترشيح الدقيق microfiltration (MF) يساعد فى التخلص من الميكروبات فى اللبن (أكثر من ٩٩,٦٪) بدون حدوث تغيرات ناتجة عن المعاملات الحرارية . وقد أتضح من هذه

الدراسات أن الميكروبات الموجودة فى اللبن على درجة كبيرة من الأهمية فى التسوية حيث من الصعب تمييز الجبن الناتجة من اللبن مبستر ومن الترشيح الدقيق من حيث الجودة ودرجة واسلوب تحلل البروتين ودرجة تحلل الدهن . وعلى العكس من ذلك فإن جبن اللبن الخام يحدث بها تحلل للبروتين بدرجة سريعة وشاملة وتختلف نواتج تحلل البروتين بدرجة ملحوظة. طعم الجبن المصنوعة من اللبن الخام يكون أكثر شدة عن طعم الجبن المصنوعة من لبن مبستر أو من لبن تم معاملته بالترشيح الدقيق MF ولكن عند التحكيم على مستوى تجارى فإن جبن اللبن الخام رديئة الجودة وغير مقبولة .

اللبن المبستر وكذلك لبن MF يكون خاليا من بكتريا NSLAB عند بداية الصناعة بينما اللبن الخام يحتوى على حوالى ٢٠٠ NSLAB/مل وهذه البكتريا تنمو فى جميع أنواع الجبن أثناء التسوية وتصل الى أقصى عدد لها بعد حوالى ١١ أسبوع حيث تحتوى جبن اللبن المبستر وجبن لبن MF على حوالى ١٠ ^{٧} NSLAB/مل وجبن اللبن الخام على حوالى ١٠ ^{٨} NSLAB/مل .

الأختلاف الرئيسى بين جبن بادىء Lactobacilli والجبن التى لا تحتوى على بادىء Lactobacilli هو التباين الكبير فى الجبن الأخيرة حيث أن بادىء Lactobacilli عادة يتكون من سلالات محبة للحرارة المرتفعة ومتجانسة التخمر بينما الجبن الثانى تحتوى على مجموعة غير متجانسة من البكتريا تشمل المحبة للحرارة المعتدلة والمرتفعة وكذلك الأنواع المختلطة والمتجانسة التخمر . وفى جبن اللبن المبستر يكون مصدر Lactobacilli من غير البادىء non-starters Lactobacilli (NSL) هو تلوث ما بعد البسترة من بيئة المصنع ومن المحتمل أن تكون هذه المجموعة من البكتريا مختلفة أختلافا واضحا وقد تحتوى على أنواع ذات صفات خاصة وفريدة تختلف بإختلاف المصنع طبقا لمستوى النواحى الصحية السائدة فى المصنع ، فى جبن اللبن الخام فإن بكتريا NSL تنشأ من مصادر اللبن ومن بيئة المصنع . ومن المتوقع أن تختلف أنواع Lactobacilli فى جبن اللبن الخام واللبن المبستر بدرجة كبيرة . ويبدو أن بكتريا NSLAB يكون لها تأثير هام على جودة الجبن الناتج . التباين فى أعداد وأنواع NSLAB قد يعزى الى استخدام لبن خام أو لبن معامل حراريا ، التباين فى بيئة المصنع أو فى معدل التبريد، قد يسبب كثير من المشاكل وخاصة فى تسوية الجبن وجودة الجبن الناتج.

وتدل بعض الدراسات على أن بكتريا حمض اللاكتيك العصوية المحبة لدرجات

الحرارة المعتدلة mesophilic Lactobacilli وهى المجموعة التى تنتمى اليها معظم NSLAB حيث تحتوى على أنزيمات بروتينيز مرتبطة بجدار الخلية وكذلك أنزيمات بروتينيز داخلية (خلوية) وقد أمكن التعرف على نطاق واسع من الأنزيمات الخلوية : exopeptidase ، dipeptidases ، aminopeptidases، endopeptidase فى هذه البكتريا ولا يوجد نشاط لأنزيم carboxypeptidase فى Lactococci ولكنه يوجد فى *Lb. casei* .

أ- Micrococci

تعتبر *Micrococcus* من المكونات الرئيسية لميكروفلورا اللبن الخام والجبن الناتجة منه كما أنها توجد بأعداد كبيرة فى الجبن المصنوعة من لبن مبستر. تنمو *Micrococcus* خلال المراحل الأولى من التصنيع والتسوية وبالرغم من ذلك فإن Lactobacilli و Pediococci قد توجد فى أعداد أكبر فى الجبن عن *Micrococcus* . بعض أنواع من Micrococci تحلل البروتين بدرجة كبيرة وتنتج بروتينيز خارجى extracellular proteinases كما تحتوى أيضا على بروتينيز داخلى intacellular proteinases .

تم عزل وتوصيف أنزيمين من البروتينيز الخارجى من جبن معرقة بالفطر ناتجة من لبن خام ومصنعة فى المزارع farms ووجد أن درجة الحرارة المثلى لهما حوالى ٤٥°م ودرجة pH المثلى لأحدهما ٨,٥ للآخر بين ٩-١١. الوزن الجزيئى للبروتينيز الأول (I) يبلغ ٢٣,٥ kDa وللثانى (II) ٤٢,٥ kDa . وأنزيم I يفضل تحليل β-casein عن α_{s1}-casein بينما الأنزيم الآخر (II) يحلل كل من α_{s1}-casein و β-casein بمعدلات متساوية تقريبا .

وقد تم دراسة نشاط البروتينيز فى مستخلص خال من الخلايا cell-free extracts لعدة أنواع من Micrococci ووجد أن بروتينيز جميع الأنواع يفضل تحليل β-casein عن α_{s1}-casein كما أن البروتينيز الخلوى لأنواع Micrococi يفضل تحليل الـ β-casein كما يوجد أيضاً aminopeptidase ، iminopeptidase ، dipeptidase فى خلايا بعض السلالات .

ب- Pediococci

تنمو Pediococci فى جبن التشدر وفى بعض الحالات تكون سائدة فى بكتريا NSLAB بينما فى حالات أخرى تكون قليلة العدد فى بكتريا NSLAB . كما وجدت

أيضاً هذه البكتريا فى بعض أنواع من الجبن الإيطالية مثل الجرانا Grana وكذلك بعض أنواع من الجبن الطرية المرتفعة فى الملح مثل الدمياطى Domiati وعندما تكون هذه البكتريا أحد المكونات الهامة لبكتريا NSLAB فى الجبن فأنها تلعب دوراً مؤثراً فى تسوية وجودة الجبن الناتج كما قد تكون مفيدة فى الإسراع من تسوية جبن التشدر المنخفض فى نسبة الدهن . أشار البعض إلى أن *Pediococcus* spp. ضعيف فى تحليل البروتين والدهن وقد وجد أن خلايا بعض سلالات Pediococci تحتوى على proteinase , dipeptidase,aminopeptidase حيث أن الأنزيم الأخير يحلل كل β-caseins , α_{s_1} وقد أوضحت بعض الدراسات أن *Pediococcus* spp. قد يساهم فى تحلل البروتين فى جبن التشدر وغيرها من الجبن التى تسوى داخليا بالبكتريا .وبالرغم من أن هذه البكتريا ضعيفة فى تحلل الدهن لكنها على جانب كبير من الأهمية فى طعم الجبن ويرجع ذلك إلى مقدرتها على اكسدة اللاكتات إلى خلات ، وأختزال الأسيتالدهيد والبروبيونالدهيد propionaldelyde إلى الكحولات المقابلة ، كما يمكن أن تنتج كميات قليلة من ثنائى الأستيتيل .

٥-٣-٩-نظام تحلل البروتين فى ميكروبات البادئات المساعدة .

أ-بكتريا حمض البروبيونيك Propoinic acid bacteria : يعتبر *P.shermanii* مكون أساسى فى ميكروفلورا أنواع الجبن السويسرية ويقوم أساساً فى هذه الجبن بتمثيل اللاكتات إلى بروبيونات وخلات وCO_2 حيث يكون الأخير مسئول عن تكوين العيون المرغوبة فى الجبن ، ومع ذلك فإن بكتريا حمض البروبيونيك تساهم أيضاً فى تحليل البروتين . تحتوى جبن الأمينتال على تركيز مرتفع من البرولين proline عن غيرها من أنواع الجبن الأخرى ويساهم هذا الحمض الأمينى فى المذاق الحلو sweet taste لجبن الأمينتال وقد تم التوصل إلى أن بكتريا حمض البروبيونيك هى المسئول الرئيسى فى تكوين البرولين .

وقد أشارت بعض الدراسات إلى أن *P.shermanii* تستطيع أن تنتج كميات كبيرة من البرولين من الكازين المتحلل casein hydrolysates ولكن بكمية قليلة عن الكازين غير المتحلل كما أن هذا الميكروب يستطيع أن يخلق البرولين . تختلف قدرة بكتريا حمض البروبيونيك فى أنتاج البرولين أختلافاً كبيراً بين أنواع وكذلك بين سلالات النوع الواحد . عموماً فإن *P.shermanii* ينتج أعلا تركيزات من البرولين فى مرق لاكتات

الصوديوم sodium lactate broth يحتوى على trypticase ومستخلص الخميرة .

بكتريا حمض البروبيونيك لها قدرة ضعيفة جداً على تحليل البروتين وقد يحتوى جدار وغشاء الخلية وكذلك بعض شقوق الخلية على عدة أنزيمات peptidases التى تكون نشطة على نطاق واسع من البيتيدات .

ب. ***Brevibacterium linens*** : وهو مكون رئيسى لميكروفلورا السطح smear للجبن المسواه سطحياً بالبكتريا ويدرجه أقل فى الجبن التقليدية التى تسوى سطحياً بالفطر. دور *B.linens* فى تسوية الجبن غير معروف تماماً ولكن بالتأكيد يقوم بمساهمة رئيسية فى التسوية . هذا الميكروب يحتوى على نظام نشط لتحليل البروتين وخاصة بالنسبة لنشاط أنزيم peptidase . معظم نشاط هذا الميكروب فى تحليل البروتين غالباً ما يكون خارج الخلية ويكون عادة أفضل ما يمكن عند pH ٧,٢ ودرجة حرارة ٣٨°م ويكون بدرجة أكبر على الكازين عنه على بروتين الشرش . كما يمكنه تحليل α_s-casein بدرجة أسرع من β-casein ولا يتاثر نشاطه بأيونات المعادن أو المواد المختزلة . وقد تمكن بعض الباحثين من تنقية بروتينيز خارجى من *B.linens* ووجد أن درجة pH المثلى لنشاطه هو ٧,٠ درجة الحرارة المثلى ٢٥°م ويتم إيقاف نشاطه تماماً فى خلال ١٠ دقائق عند درجة حرارة ٥٠°م ويحلل الكازين بسهولة كما وجد أن نشاط البروتينيز الداخلى أقل بكثير عن البروتينيز الخارجى . *B. linens* يكون نشطا فى تحليل الأحماض الأمينية مع إنتاج امينات amines وأحماض طيارة volatile ، أمونيا NH_3 ، CO_2 . بعض هذه النواتج لها تأثير كبير على طعم ونكهة الجبن المسواه سطحياً .

جـ. ***Penicillium roqueforti & P.caseicolum*** : ويحتوى كل من هذين الفطرين على أنظمة قوية لتحليل البروتين وتفرز الفطريات أنزيمات metalloproteinases حامضى ومتعادل وكذلك عدة أنزيمات من carboxypiptidases,aminopeptidases. كما أن الميسليلوم يحتوى على بروتينيز وبيتديز داخلى الذى ينفرد عندما يموت الفطر ويتحلل .

تقوم المواد المجبنة بالمراحل الأولى من تحليل البروتين فى الجبن المعرقة بالفطر مع تحليل سريع لـ α_{s1}-casein إلى α_{s1}-I . كما يعتقد أن البلازمين وبروتينيز البادىء تساهم أيضاً . بعد نمو الفطر وتكوين الجراثيم ، تسيطر أنزيمات الفطر على تحلل البروتين فى هذه الجبن الذى يحدث فيها تحلل البروتين بدرجة كبيرة جداً .

كما يحدث تحلل البروتين بدرجة شاملة فى الجبن المسواه سطحياً بالفطر ومن المعتقد أن البروتينيز الخارجى الذى يفرز بواسطة *P.caseicolum* يكون مسئولاً عن هذا التحلل ولكن هذه الأنزيمات تتحلل إلى مسافات صغيرة فقط من السطح . يرجع معظم تحلل البروتين داخل الجبن إلى المواد المجبنة وغالباً ما يكون بمساهمة من البلازمين وخاصة عندما يرتفع pH خلال التسوية . ومع ذلك فإن الببتيدات الناتجة بفعل بروتينيز الفطر أمكن التعرف عليها فى مركز جبن الكممبير ويعتقد أنها تكونت عند السطح ومنها تخللت إلى داخل الجبن . ويلاحظ أرتفاع pH من السطح إلى مركز الجبن نتيجة تأثير الفطر .

قد يلعب تمثيل الأحماض الأمينية الحرة دوراً هاماً فى تسوية معظم أنواع الجبن وخاصة الجبن المسواه سطحياً بالفطر والبكتريا. النواتج الرئيسية التى قد تنشأ من تمثيل الأحماض الأمينية هى (يرجع إلى ٦-٣-١) :

١. الأمينات amines الناتجة من نزع مجموعة الكربوكسيل decarboxylation .
٢. الأمونيا والأحماض والأحماض الكيتونية keto-acids والكربونيل carbonyls والكحولات الناتجة من نزع مجموعة الأمين deamination .
٣. أحماض أمينية أخرى والناتجة من نقل مجموعة الأمين transamination .
٤. H_2S , $(CH_3)_2S$, methanethiol , thioesters وغيرها من مركبات الكبريت التى تنشأ من نزع الكبريت desulphurylation و demethiolation.

كثير من نواتج هذه التفاعلات تكون مهمة فى تغيرات pH ، NH_3 والطعم (خاصة الكربونيل والكحولات ومركبات الكبريت) والنواحى الغذائية والسمية toxicological nutritional aspects (مثل الأمينات المرضية biogenic amines)

٥-٤ تحلل الدهن

فى معظم أنواع الجبن يحدث تحلل محدود نسبياً للدهن lipolysis أثناء التسوية ويعتبر غير مرغوب فيه ، يعتبر معظم المستهلكين أن جبن التشدر والأنواع الهولندية والسويسرية المحتوية على مستوى معتدل من الأحماض الدهنية الحرة جبن زنخ rancid .وتختلف درجة تحلل الدهن بإختلاف نوع الجبن فبينما لا تزيد درجة تحلل الدهن عن ٢٪ من الجليسريدات الثلاثية فى جبن مثل الجودا ، الجروير أو التشدر فإنها تكون عادة بين ٥-٢٠٪ فى الجبن المعرقة بالفطر حيث يحدث تحلل للدهن بدرجة كبيرة دون ظهور طعمة

زنخ في هذه الجبن . وقد فشل بعض الباحثين في إيجاد أى فروق معنوية (كمياً أو وصفياً) في الأحماض الدهنية الحرة الموجودة في جبن التشدر التي يختلف فيها الطعم بدرجة كبيرة . النسب لكل من الأحماض الدهنية الحرة من $C_{6:0}$ إلى $C_{18:2}$ في الجبن إلى الأحماض المقابلة الموجودة في صورة أستر esterified في دهن اللبن متماثلة تماماً مما يدل على أن هذه الأحماض تنفرد بطريقة عشوائية . ومع ذلك فإن حمض البيوتريك الحر يبلغ حوالى ضعف تواجده في الجليسريدات مما يدل على أن إنفراد هذا الحامض يكون انتقائياً أو خلق ميكروبيا. كما أشار البعض إلى أن الأحماض الدهنية الطيارة قد تساهم في خلفية الطعم في جبن التشدر ولكن الأحماض طويلة السلسلة (أكثر من C_4) ليست مهمة .

في الجبن الزائدة التسوية فإن الأحماض الدهنية قد تساهم إيجابياً في الطعم عندما تتوازن مع نواتج تحلل البروتين وغيرها من التفاعلات ويستثنى من هذه القاعدة الجبن المعرقة بالفطر وبعض أنواع الجبن الأيطالية مثل الرومانو والبرمسان (جدول١-٦) .

٥-٤-١ العوامل المحللة للدهن في الجبن

يحتوى اللبن على أنزيم ليبيز قوى جداً lipoprotein lipase والذى لم يصل عادة إلى قوته في اللبن . هذا الأنزيم يحلل الدهن بدرجة كبيرة في جبن اللبن الخام وقد يساهم لحد ما في جبن اللبن المبستر وخاصة إذا كان اللبن قد سخن لدرجات حرارة أقل من البسترة حيث أن التسخين عند ٧٨°م لمدة ١٠ ثوان يكون ضرورياً لإتلافه . أنزيم ليبيز اللبن متخصص بدرجة عالية في الأحماض الدهنية الموجودة على ذرة الكربون الثالثة من الجلسريد حيث أن معظم حمض البيوتريك في دهن اللبن يرتبط مع الجليسرول ويكون أستر عند هذا الوضع وهذا يوضح التباين في تركيز حمض البيوتريك الحر في الجبن .

جدول ١-٦ : تركيز الأحماض الدهنية الحرة الكلية (FFA) في بعض أنواع من الجبن

نوع الجبن	FFA mg/kg	نوع الجبن	FFA mg/kg
ايدام	٣٥٦	برفلونو	٢١١٨
موزاريلا	٥٥٠	رومانو	٦٧٥٤
كممبير	٦٨١	برمسان	٤٩٩٣
تشدر	١٠٢٨	ركفور	٣٢٤٥٣
جرويير	١٤٨١	معرقة بالفطر	٣٢٢٣٠

مستخلص المنفحة مرتفع الجودة لا يحتوى على أى نشاط لليبيز بعكس عجينة المنفحة rennet paste التى تستخدم فى صناعة بعض أنواع من الجبن الأيطالية فتحتوى على ليبيز قوى (يعرف بـ pregastric esterase (PGE)) والذى يضاف فى بعض الدول للبن الجبن فى صورة منقاه جزئياً . أنزيمات PGEs متخصصة بدرجة عالية فى الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة المرتبطة فى صور جليسريدات عند ذرة الكربون الثالثة فى الجليسريد . ونظراً لأن الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة فى دهن اللبن يكثر وجودها عند هذا الوضع فإن تأثير PGE يؤدى إلى انفراد تركيزات مرتفعة من الأحماض الدهنية قصيرة ومتوسطة السلسلة والتى تكون مسئولة عن الطعم الحريف فى الجبن الأيطالية الجافة. يتوفر أنزيمات PGEs من العجول والماعز والغنم على نطاق تجارى بالرغم من أن هذه الأنزيمات متشابه فى صفاتها بصفة عامة إلا أنه يوجد فروق دقيقة فى درجة تخصصها الذى يساعد على إنتاج جبن إيطالية ذات أطعمة متميزة مختلفة .

معظم أنزيمات الليبيز الأخرى غير صالحة لصناعة الجبن الإيطالية نظراً لأن تأثيرها غير مرغوب فى تحلل الدهن ونوعية الأحماض الدهنية المنفردة والتى قد تسبب بعض العيوب فى الطعم . وقد وجد أن الليبيز الناتج من *M.miehei* ، وربما من *P.roqueforti* يعطى نتائج مرضية وأن إضافة PGE إلى لبن جبن التشدر والفتا Feta والدمياطى والرأس والجبن المعرقة بالفطر وغيرها من الأنواع الأخرى تحسن من جودة هذه الجبن .

بكتريا حمض اللاكتيك (*Lactococcus* , *Lactobacillus*) لها قدرة ضعيفة يمكن قياسها على تحلل الدهن . وقد أمكن توصيف ليبيز من مستخلصات خالية من الخلايا cell-free xtracts لعدد من سلالات Lactococci . هذه الأنزيمات بصفة عامة تبلغ أعلا نشاط لها عند pH من ٧ إلى ٨,٥ ودرجة حرارة ٣٧°م كما أنه يمكن تنشيطها بواسطة جلوتاثيون مختزل reduced glutathione وتركيز منخفض من الملح (حوالى ٢٪) ولكن يثبط نشاطها عند تركيزات مرتفعة من الملح كما أن هذه الأنزيمات تكون أكثر نشاطاً على الترايبيوترين tributryrin .

تنتج *L.lactis* subsp. *lactis* biov *diacetylactis* وكذلك *Lb.casei* كل من الليبيز والأستريز ، نشاط الأنزيم الأخير (أستريز) يكون أعلا من نشاط الليبيز فى جميع السلالات . تنتج Lactococci نشاط ليبيز وأستريز أعلا من Lactobacilli ، والأنزيمات تكون مرتبطة أساساً بغشاء الخلية وينتج أنزيمات أكثر عندما تنمو الخلايا فى اللبن عنه فى

بيئة سائلة broth .

Micrococci لها أهمية فى الجبن فقد تم تنقية أنزيمين من الليبيز ذات وزن جزيئى مختلف (٢٥ ، ٢٥٠ kDa) من السائل الرائق الخال من خلايا *M.freudenreichii* . وهذه الأنزيمات فى صورة غير نقية crude تكون مقاومة للحرارة بدرجة كبيرة حيث تفقد حوالى ٢٠٪ من نشاطها بالتسخين عند درجة ١٠٠°م لمدة ٥ دقائق ولكنها تصبح أقل مقاومة للحرارة عندما تكون فى صورة نقية . هذه الأنزيمات تكون نشطة على الجليسريدات والأسترات طويلة وقصيرة السلسلة ويمكن تثبيطها بدرجة كبيرة بواسطة الفوسفات العضوية ، Hg^{2+} ، Mn^{2+} وبدرجة أقل بواسطة EDTA . كما تدل بعض الدراسات أن بعض أنواع من Micrococci تحتوى على ١-٤ أنزيم أستريز هذه الأنزيمات تكون أكثر نشاطاً عند pH ٨,٠ ودرجة حرارة ٤٠°م ويمكن تثبيطها بدرجة كبيرة بواسطة NaCl وخاصة عند pH ٥,٠ .

تعتبر Pediococci أيضاً من مجموعة NSLAB فى الجبن ويوجد بها نظام lipase-esterase system ولكن لا توجد دراسات كافية عنه فى هذا المجال .

بكتريا Micrococci ليس لها القدرة على تحليل الدهن عندما تكون الخلايا كاملة ولكن عندما تموت الخلايا وتتحلل ينطلق منها أنزيمات ليبيز خلوية (داخلية) تنتج أحماض دهنية طيارة . وتعتبر البكتريا المقاومة للبرودة psychrotrophs التى تكون سائدة فى اللبن المبرد مصدراً هاماً لأنزيمات الليبيز القوية فى اللبن والجبن. عديد من هذه الأنزيمات مقاوم للحرارة ويمتز على سطح حبيبات الدهن لذلك فأنه يتركز فى الجبن ، ومن المحتمل أن يكون ليبيز هذه المجموعة من البكتريا أكثر أهمية فى الجبن والزبد وأن أنزيماتها من البروتينيز التى تكون ذائبة فى الماء تفقد فى الشرش .

يحدث فى الجبن المسواه بالفطر ، وخاصة الجبن الركفور وأنواعها المختلفة Blue cheese ، تحلل الدهن بدرجة كبيرة حيث ينفرد نسبة حوالى ٢٥٪ من الأحماض الدهنية الكلية فى بعض أنواع من الجبن المعرقة بالفطر . تأثير الأحماض الدهنية على الطعم فى هذه الجبن يكون أقل منها فى أنواع الجبن الأيطالية الجافة وقد يعزى ذلك إلى إستهلاك جزء من هذه الأحماض فى معادلة الأرتفاع فى pH وكذلك إلى سيادة الميثيل كيتون methyl ketones على طعم الجبن المعرقة بالفطر . يرجع تحلل الدهن فى الجبن المسواه بالفطر أساساً إلى *P.roqueforti* أو *P.camemberti* وكل منهما يفرز ليبيز خارجى

خارج الخلايا نشط جداً . كما يبدو أن *P.cammberti* يفرز أنزيم ليبيز واحد فقط ذات درجة pH مثلى حوالى ٩ ودرجة حرارة مثلى حوالى ٣٥°م بينما *P.roqueforti* يفرز نوعين من أنزيم ليبيز ، درجة pH المثلى لأحدهما عند ٧,٥ - ٨ وقد يصل إلى ٩,٠ - ٩,٥ وللثانى يكون ٦,٠ - ٦,٥ أى أن أحدهما ليبيز حامضى والآخر ليبيز قلوى ولكل منهما له خاصية مختلفة .

٥-٤-٢ تمثيل الأحماض الدهنية

يسود طعم ونكهة الجبن المعرقة بالفطر مركبات الميثيل كيتون ، تحتوى على عدد ذرات كربون من ٣-١٧ وقد أمكن التعرف على بعضها فى الجبن . مركبات الميثيل كيتون السائدة فى هذه الجبن هى 2-nonanone و 2--heptanone . يتم تكوين الميثيل كيتون بأتباع مسار β-axidation . ميكانيكية تكوين مركبات الميثيل كيتون بصفة عامة عبارة عن أكسدة الحمض الدهنى إلى β-keto acid ونزع مجموعة الكربوكسيل من هذا الحمض وتحويله إلى ميثيل كيتون يحتوى على عدد ذرات كربون أقل ذرة واحدة من المصادر ، أى أن تحويل الأحماض الدهنية إلى مركبات ميثيل كيتونات تتم على النحو التالى :-

١ - أكسدة الحمض الدهنى (β- oxidation)

$$CH_3\text{-}(CH_2)_6\text{-}COOH + O_2 \longrightarrow CH_3\text{-}(CH_2)_4\text{-}CO\text{-}CH_2\text{-}COOH + H_2O$$

caprylic acid — β- keto caprylic acid

٢ - نزع مجموعة الكربوكسيل (decarboxylation)

$$CH_3\text{-}(CH_2)_4\text{-}CO\text{-}CH_2\text{-}COOH \longrightarrow CH_3\text{-}(CH_2)_4\text{-}CO\text{-}CH_3 + CO_2$$

β-keto caprylic acid — methyl - n- amyl keton

إنخفاض تركيز الأكسجين يقلل من كمية الميثيل كيتون المتكونة . وهذه المركبات سامة للفطر عندما توجد بتركيزات مرتفعة وعليه فأنها تثبط من النمو الزائد للفطر . يتناسب تكوين مركبات الميثيل كيتون مع درجة تحلل الدهن . الجراثيم وكذلك الميسليوم تستطيع أن تؤكسد الأحماض الدهنية إلى ميثيل كيتون. ويعتقد أن مركبات الميثيل كيتونات ليس هى المكونات الوحيدة المسئولة عن طعم الجبن المعرقة بالفطر حيث يحتوى الجبن أيضاً على تركيزات محسوسة من الكحولات الثانوية وخاصة 2-nonanol,2-heptanol,2-pentanol التى تتكون نتيجة إختزال الميثيل كيتون المقابل

بواسطة *P.roqueforti* .

٥-٤-٣ اللاكتونات

اللاكتونات lactones عبارة عن أسترات حلقية cyclic esters تنتج من أسترة داخلية لجزيئات حامض هيدروكسى hydroxy acid مع فقد الماء ليكون مركب حلقى β- and α- lactones تكون نشط جدا وتستخدم أو توجد كمكونات وسطية فى بناء المكونات العضوية .مركبات γ-and δ-lactones ثابتة وتوجد فى الجبن . تتميز مجموعة اللاكتونات بنكهة قوية وقد تكون نكهة هذه اللاكتونات ليست مماثلة لأية نكهة معينة فى الجبن إلا أنها قد تكون مهمة فى التأثير الأجمالى لطعم الجبن . وقد أمكن التعرف على عدد من لاكتونات الأحماض الدهنية فى الجبن ومنتجات الألبان المتخمرة .

وقد أشار البعض إلى تكوين δ-lactones من δ-hydroxyacids فى دهن اللبن المسخن فى وجود الماء . توجد γ- and δ- lactones فى دهن اللبن المحلوب حديثاً ويتكون من γ- and δ- hydroxy acids المقابل فى الجليسريدات الثلاثية كما لا يوجد γ- and δ- hydroxy fatty acids أو اللاكتونات المقابلة فى أى نوع من النباتات والتى تستخدم فى تغذية الحيوانات المجترة لذلك فإن hydroxy acids يجب أن ينشأ من التمثيل الغذائى فى الحيوان .

كما أوضح آخرون إمكانية تكوين γ-and δ-lactones نشط عن طريق إختزال الأحماض الكيتونية keto acids إلى أحماض هيدوكس hydroxy acids بواسطة عدد من الخمائر (*Saccharomyces* spp.,*Clasdosporium* spp.) وبعض الفطريات (مثل *Penicillium* spp.) وبعض البكتريا (مثل *Sarcina lutea*) ومع ذلك فقد وجد البعض أن نظام δ- oxidation لهدم الأحماض الدهنية فى الغدد الثديية للحيوانات المجترة وبالتالى فإن الأكسدة داخل الغدة تبدو العامل الرئيسى لأنتاج γ-and δ- hydroxy acids وبالتالى تصبح مصدراً للاكتونات . تتوقف إمكانية إنتاج اللاكتونات على عدة عوامل مثل العليقة ، فصل السنة ، الجنس وكذلك موسم الحليب . تكوين اللاكتونات فى اللبن عملية تلقائية تلى تحليل γ-or δ- hydroxy acids من الجليسريدات الثلاثية لذلك فإن إنتاج اللاكتون يرتبط بتحلل الجليسريدات . وقد أشار البعض إلى أن هناك أرتباطا بين الوقت ودرجة حرارة التسخين وتركيزات اللاكتونات فى دهن اللبن butteroil كما لوحظ أيضاً أن اللاكتونات المتكونة فى كل من الجبن الطازجة والزبد

متماثلاً بدرجة كبيرة .

وفى دراسة على الجبن التشدر وجد أن اللاكتونات ذات السلسلة الأطول (C_{14} - C_{16}) يزداد بدرجة لا تتناسب مع اللاكتونات الأخرى فى الجبن الزنخ rancid . وقد اقترح البعض أن طريقة تكوين اللاكتونات ترجع إلى التمثيل الميكروبى microbial metabolism لحمض homoricionoleic acid إلى أحماض هيدروكسية أقصر فى السلسلة ولاكتونات . يتميز δ-lactones بطعم خفيف وبالتالى يعتقد إحتمال مساهمته فى طعم الجبن . وقد وجد أن تركيز اللاكتونات فى الجبن المعرقة بالفطر أعلا منه فى الجبن التشدر ويعزى ذلك إلى تحليل الدهن بدرجة كبيرة فى الجبن المعرقة بالفطر مما يؤثر على تكوين اللاكتونات وأن δ-C_{14} , δ-C_{18} هى اللاكتونات الرئيسية فى الجبن المعرقة بالفطر كما وجدت أيضاً فى جبن التشدر .وقد وجد أن الجبن المعرقة بالفطر المضاف إليها ليبيز تتميز بطعم أقوى نتيجة أن اللاكتونات تساهم فى تحسين هذا الطعم.

أهم اللاكتونات التى توجد فى الجبن المسواه بالفطر سطحيا (مثل الكممبير) أو داخلياً (مثل Blue cheese) : γ-decalatone , δ-decalactone , γ- dodecal actone , δ- dodecalactone , وتتميز اللاكتونات بصفة عامة بطعم فاكهى قوى (مثل الخوخ ، المشمش ، جوز الهند) ، مصدر هذه اللاكتونات hydroxylated FA والذى يتكون من تمثيل الأحماض الدهنية كما يمكن أن ينتج من الأحماض الدهنية غير المشبعة بفعل أنزيمات lipoxygenases أو hydratases . كما تكون جراثيم *P.roqueforti* لاكتونات من الأحماض الدهنية المشبعة طويلة السلسلة C_{12} .

اللاكتونات الموجودة فى الجبن التشدر يتراوح فيها عدد ذرات الكربون من ١٠ - ١٨ ويرتبط عدد وتركيز اللاكتونات مع عمر وطعم الجبن ، مما يدل على ان بعض اللاكتونات تكون مهمة فى طعم الجبن التشدر . يزداد تركيز اللاكتونات بدرجة سريعة فى المراحل الأولى من التسوية وتوجد بتركيزات أعلا عن حد الطعم المطلوب وبالتالى يؤثر على طعم الجبن .

٥-٥- دور الفوسفاتير الحامضى فى تسوية الجبن

أنزيمات الفوسفاتير تحلل رابطة C-O-P فى عديد من أسترات الفوسفات والفوسفونات phosphonate ، وتنقسم هذه الأنزيمات إلى حامضية وأخرى قلوية طبقاً لتأثير pH على نشاطها بالرغم من أن كل من الفوسفاتيز الحامضى والقلوى يوجد فى

الجبن إلا أن الفوسفاتيز الحامضى أكثر نشاطاً ويعزى ذلك إلى pH الجبن المنخفض نسبياً (حوالى ٥,٢) .

أثناء تسوية الجبن تتحلل الكازينات بالمنفحة والبلازمين والبروتينيز البكتيرى إلى بيبتدات غنية فى الفوسفور وتعطى بقايا الفوسفات تأثير واقى protective effect حيث تحمى البيبتدات من التحلل بدرجة أكبر . يمكن أن يحدث تحلل كامل للكازين أثناء التسوية فقط بواسطة التأثير المشترك لأنزيمات البروتينيز والفوسفاتير ، لذلك فإن أنزيمات الفوسفاتيز قد تلعب دوراً هاماً فى تسوية الجبن وتكوين الطعم .

يبقى مستوى نشاط الفوسفاتيز الحامضى فى الجبن ثابتاً اثناء التسوية وقد وجد عدم حدوث تغيير فى نشاط الأنزيم أثناء تخزين جبن الفتا Feta لمدة ٩ - ١٢ شهر ، عند درجة حرارة ٦°م ، وفى جبن التشدر لم يحدث تغيير محسوس فى نشاط الفوسفاتيز عند درجة ١٣°م لمدة تصل إلى أكثر من ١٢ شهر .

يوجد خلاف على مصدر أنزيم الفوسفاتيز الحامضى النشط فى تسوية الجبن والأنزيم عبارة عن phosphomonoesterase وقد ينتج من عدة مصادر . يحتوى اللبن البقرى (وغيرها من لبن الأنواع الأخرى) على أنزيم فوسفاتيز حامضى مقاوم للحرارة ولا يتلف بالبسترة (يفقد ٥٪ من نشاطه بالتسخين لدرجة ٧٥°م لمدة ٣ دقائق) . هذا الأنزيم نشط جداً على البروتين المحتوى على فوسفات phosphoprotien مثل الكازينات. يحتوى هذا الأنزيم على سلسلة منفردة من البيبتدات العديدة المحتوى على سكريات glycosylated polypeptide (وزن جزيئى ٤٢ kDa) ويحتوى على ٢ جلاكتوز ، ٢ مانوز ، ٤ N-acetyl nuraminic acid لكل جزئى . يتم تنشيط الأنزيم بدرجة كبيرة بواسطة حمض السوربيك sorbic acid ويثبط بالمعادن الثقيلة وخاصة F , Ag^{+} .

يعتقد أن تكون بكتريا البادىء مصدر آخر للفوسفاتيز فى الجبن حيث يحتوى كل من البادىء الأساسى مثل Lactococci والبادىء الثانوى (المساعد) مثل الفطريات والخمائر ، على فوسفاتيز حامضى . ويبدو أن هذا الأنزيم يكون مرتبطا بجدار أو غشاء الخلية ، الوزن الجزئيى لأنزيمات البادىء مرتفع . ويعتقد أن البادىء الذى ينتج جبن ذات طعم جيد يحتوى على نشاط مرتفع من الفوسفاتيز الحامضى بينما يرى البعض الآخر أن دور الفوسفاتيز الحامضى فى البادىء ثانوى فى الجبن.

يرتبط انزيم الفوسفاتيز من Lactococci بقوة مع جزيئات الكازين ولكنه لا ينزع الفوسفات من الكازين بدرجة محسوسة ومع ذلك فإن الفوسفاتيز الحامضى من Lactococci قد يكون أكثر نشاط على phosphopeptides الصغيرة الناتجة من الكازين. درجة pH المثلى لنشاط أنزيم البادىء هو ٥,٢ بينما لأنزيم اللبن حوالى ٥,٠ . الفروق الرئيسية بين أنزيم الفوسفاتيز الحامضى من كل من Lactococci واللبن تتركز فى أن الأنزيم الأول يكون أكثر حساسية لـ Pb^{2+} والمواد المحتوية على مجاميع سلفادريل -SH على عكس أنزيم اللبن فإن أنزيم الفوسفاتيز الحامضى للبادىء لا ينشط بواسطة حمض السوربيك .

الفطريات مثل *P.roqueforti* تحتوى على فوسفاتيز حامضى نشط جداً . النشاط النوعى specific activity لهذا الأنزيم الفطرى يصل إلى ٧,٣ ضعف الأنزيم الناتج من *L.cremoris* . مستوى أنزيم الفوسفاتيز الحامضى فى الجبن المعرقة بالفطر يكون أعلا منها فى الجبن المسواه بالبكتريا. درجة pH المثلى لنشاط الأنزيم فى مستخلص جبن الركفور هو ٤,٢٥ ومماثل لأنزيم *P.roqueforti* كما ان المقاومة الحرارية متماثلة ، لذلك يعتقد أن الأنزيم الميكروبى يلعب دوراً رئيسياً فى تحلل الكازين ونزع الفوسفات منه dephosphorylation فى الجبن المسواه بالفطر .

تتكون الفلورا السطحية لجبن Tilsiter بصفة أساسية من الخمائر (٧٧٪) من جنس *Endomycopsis* . توجد تركيزات محسوسة من كل من أنزيمات الفوسفاتيز الحامضى والقلوى فى هذا الجبن. ويوجد نشاط أعلا للأنزيم فى الطبقة السطحية أو قشرة الجبن rind عن مركز الجبن . الأنزيم الموجود فى وسط الجبن قد يكون أنزيم الفوسفاتيز الحامضى الموجود طبيعياً فى اللبن بينما الأنزيم الموجود فى القشرة السطحية للجبن قد يكون خليط من أنزيم اللبن والأنزيم الناتج من الخميرة والتى تعتبر المكون الرئيسى لميكروفلورا سطح الجبن .

يوجد عدم أتفاق فى تحديد مدى مساهمة أنزيمات الفوسفاتيز من المصادر المختلفة السابق ذكرها فى تسوية الجبن فقد أوضح البعض أن تأثير الفوسفاتيز فى الجبن يعزى بدرجة كبيرة إلى أنزيم اللبن الطبيعى مع الأنزيم الناتج من البادىء الذى يكون دوره ثانوياً حيث يعتقد أن ٢٠-٢٥٪ من نشاط الفوسفاتيز الحامضى فى الجبن يكون مصدره البادىء إلا أن البعض أشار إلى أن نشاط فوسفاتيز بادىء Lactococci يصل إلى ٥٠-

٦٠٪ من النشاط الكلى فى الجبن . لذلك يمكن القول أن الفوسفاتيز الحامضى البكتيرى يلعب دوراً هاماً فى تسوية الجبن ما زال عرضه للأختلافات .

بالرغم من أن مصدر الفوسفاتيز الحامضى فى الجبن غير مؤكد إلى أن معظم الباحثين يعتقدون نزع الفوسفات من البيبتدات بواسطة الفوسفاتيز الحامضى تفاعل هام فى تسوية الجبن وقد وجد البعض أنه لا يوجد زيادة فى مستوى الفوسفور المعدنى أو غير العضوى ولكن تركيز البيبتدات المحتوية على فوسفات **phosphopeptide** يزيد أثناء تخزين الجبن لذلك فإن دور الفوسفاتيز الحامضى فى تسوية الجبن ما زال غير واضحاً ويحتاج إلى مزيد من الدراسة .

٦- طعم ونكهة الجبن

تكوين الطعم والنكهة فى الجبن عملية بالغة التعقيد حيث أن عدد كبير من مكونات الجبن تتكون أثناء التسوية بالأضافة إلى عدة مكونات فى المواد الخام تساهم فى ظهور الطعم فى الجبن. يمكن تقسيم نكهة الجبن **aroma** إلى مجموعتين :

١- جزء غير طيار non-volatile ويكون مسئول بصفة رئيسية عن مذاق الجبن taste مثل حمض اللاكتيك ، أحماض أمينية ، الأحماض غير الطيارة ، كحولات أمينات ، أملاح معدنية ، NaCl .

٢- جزء طيار volatile وهو الشق المهم فى نكهة الجبن ويشمل أحماض ، ألدهيدات ، كيتونات ، كحولات ، أمينات ، أسترات ، H_2S ، NH_3 ، sulphides .

هذا التقسيم يعطى صورة عامة عن طبيعة مذاق ونكهة الجبن التى تكون الطعم فى الناتج النهائى . بعض هذه المكونات بالرغم من وجودها فى الجبن بكميات ضئيلة يصعب تقديرها إلا أنها على درجة كبيرة من الأهمية فى تكوين طعم الجبن .

الهدف من صناعة الجبن هو إنتاج ناتج يحتوى على الطعم والنكهة والتركيب البنائى للنوع المراد إنتاجه وخال من العيوب فى أقل وقت ممكن . التغيرات فى التركيب البنائى عملية معقدة جداً وقد تكون أكثر تعقيداً عن غيرها من التغيرات مثل الطعم والنكهة . يتحدد التركيب البنائى للجبن بداية من تركيب لبن الجبن خاصة نسبة الدهن : الكازين ، بواسطة عملية التصنيع التى تنظم معدل طرد الشرش وبالتالى محتوى الجبن من الرطوبة ومعدل زيادة الحموضة الذى ينظم درجة نزع المعادن من الخثرة demineralization والتى

بدورها يكون لها تأثير رئيسى على التركيب البنائى فى الجبن. يتغير التركيب البنائى للجبن أثناء التسوية نتيجة تحلل البروتين خاصةα_{s1}-casein بواسطة المنفحة وأنخفاض النشاط المائى (a_w) نتيجة لأنفراد المجاميع الأيونية المرتبطة بالماء، واعادة توزيع الملح وفقد الماء بالتبخير وإلى التغيرات فى pH نتيجة تحلل البروتين وتحلل حامض اللاكتيك ، الذى يكون واضحاً فى الجبن التى تسوى سطحياً بالفطر .

بدون شك فإن نكهة وطعم الجبن تتأثر بالتركيب البنائى للخثرة فمثلاً الأدراك الحسى للمستهلك وأنفراد مكونات النكهة التى تعطى الأحساس بالطعم الجيد ينشأ أثناء مضغ قطعة الجبن .يلعب الدهن فى الجبن عدة أدوار فى تحديد جودة الجبن نتيجة التأثير المباشر على التركيب البنائى للجبن ، كما أنه يعمل كمصدر لمكونات النكهة ومكونات الأحساس بالطعم الجيد sapid أثناء المضغ ويعمل كمذيب لهذه المكونات التى تتكون من ليبدات الجبن وغيرها من المصادر .

طرق التحليل المختلفة مثل GC وكذلك mass spectroscopy ساعدت على أكتشاف مئات من المكونات التى تستطيع أن تساهم فى طعم ونكهة الجبن . معظم هذه المكونات توجد فى تركيزات منخفضة جداً وكثير منها أقل من الحد المطلوب للطعم ولكن ما زالت تؤثر على جودة الجبن . وفى البداية كان يعتقد أن مكون واحد أوقسم من المكونات تكون مسئولة عن الطعم فى الجبن ولكن ما لبث بعد ذلك أن أتضح عدم دقة هذا الأعتقاد وأنتهى الأمر إلى افتراض أن طعم الجبن عبارة عن أتزان مقبول لمخلوط من المكونات ، وتعرف هذه النظرية بأسم نظرية إتزان المكونات component balance theory التى أصبحت مقبولة بدرجة واسعة . وأصبحت المشكلة تتركز فى تحديد المكونات الأساسية المسئولة عن طعم ونكهة الجبن .

٦-١ الكربوهيدريت كمصادر للطعم

٦-١-١- اللاكتوز

المسارات المختلفة لتمثيل اللاكتوز إلى حمض لاكتيك قد سبق الأشارة إليها فى الفصل الثالث . أهمية هذه الأنشطة فى تكوين الطعم فى الجبن غير المسواه مثل Cottage تكون محدودة لأنتاج طعم حمض لاكتيك قوى وإنتاج مكونات النكهة عادة يكون مرتبط بتمثيل الستزات .

تخمير اللاكتوز فى الجبن المسواه يكون له تأثيرات هامة على طريقة تسوية هذه

الجبن حيث يثبط نمو بعض الميكروبات فى الجبن نتيجة لتأثيره المضاد للبكتريا antibacterial كما أنه يخفض جهد الأكسدة والأختزال E_h و pH فى الجبن مما يؤكد أن التفاعلات الأنزيمية تتم ببطء بالرغم من أن معظم الجبن تحتاج فترات تسوية طويلة لتكوين الطعم الكامل إلا أنها تظل مستساغة لعدد من السنوات كما أن أنخفاض E_h يؤكد أن المكونات الكبريتية المستساغة الطعم تبقى فى صورتها المختزلة .تخمر بقايا اللاكتوز فى خثرة الجبن الطازجة التى تم كبسها بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك الثانوية (Pediococci, Lactobacilli) ترتبط بطريقة مباشرة بدرجة جودة جبن التشدر .تميل هذه البكتريا إلى تمثيل اللاكتوز بأتباع مسارات التخمر المختلط heterofermentative pathways فى الجبن تحت ظروف نمو أقل من الظروف المثلى مع إنتاج كميات زائدة من المكونات التى تحدث عدم اتزان فى مكونات الطعم مما يسبب ظهور عيوب فى الطعم (مثل حمض الفورميك ، الأيثانول ، حمض الخليك) .

فى جبن التشدر مرتفعة الجودة تنمو بكتريا البادىء Lactococci ويستهلك جميع اللاكتوز الموجود فى الخثرة وذلك بتوفير الظروف الملاءمة عن طريق تمليح الخثرة بعناية بحيث يكون مستوى الملح فى رطوبة الجبن (S/M) قريب بقدر الأمكان من ٤٪ حتى يمكن لبكتريا البادىء أن تنمو وتخمر اللاكتوز إلى حامض لاكتيك فى مدة أقصاها ٢٤ ساعة من كبس الخثرة . وعند مستوى مرتفع S/M فإنه يحدث تثبيط لنشاط بكتريا البادىء ويظل اللاكتوز موجودا فى الخثرة ويعمل كبيئة للميكروبات الثانوية .

كما أن التبريد السريع للخثرة الطازجة بعد كبسها إلى ١٠°م له تأثير هام فى تسوية الجبن حيث تنمو الميكروبات الثانوية فقط ببطء وتصل أعدادها إلى 10^{7} /جرام أو أقل فى الجبن ، وتحت هذه الظروف يتم تخمر بقايا اللاكتوز تخمراً متجانساً إلى حمض اللاكتيك ولا تنتج المكونات التى تؤدى إلى أتلاف توازن الطعم . وعلى عكس جبن التشدر فإن تخمر اللاكتوز إلى حمض لاكتيك فى جبن الأمينتال والجرويير بواسطة *Lb.helveticus,S.salivarius* subsp. *thermophilus* يؤدى إلى توفير البيئة اللازمة لأنتاج مكونات الطعم بواسطة بكتريا البادىء المساعد (الثانوى) *Propionibacterium shermanii* المضافة.تنمو بكتريا البادئ الأساسى (*S.thermophilus/Lb.helveticus*) وتكون حامض اللاكتيك فى كل من حوض التجبن وأثناء عملية الكبس . تعتبر فترة ٢٤ ساعة عقب صرف الشرس والكبس من أهم

مراحل صناعة هذه الجبن والتى يتم خلالها تبريد الجبن من ٥٠ إلى ٢٠°م . يتم تخمر جميع اللاكتوز تحت هذه الظروف بعد ٢٤ ساعة إلى حمض لاكتيك الذى يتكون بدرجة أكبر قرب أطراف قرص الجبن المبرد الذى يكون أقل حرارة عن مركز قرص الجبن الدافىء . الأختلاف فى تركيز اللاكتات مع الأختلاف فى تركيز الملح بين مركز وأطراف قرص الجبن نتيجة التمليح الرطب للجبن الطازج يؤكد أن بكتريا حمض البروبيونيك تنمو بدرجة أفضل قرب مركز الجبن حيث أن هذه البكتريا يتم تثبيطها نتيجة التركيزات المرتفعة لكل من الملح واللاكتات . يعتبر معدل نمو بكتريا حمض البروبيونيك وإنتاج CO_2 عملية حرجة جداً حيث تحدد حجم وتوزيع العيون فى الجبن وبالتالى قيمتها التسويقية . يكون حجم العيون الغازية فى الجبن الأمينتال اكبر منها فى جبن الجروييير التى يمكن الحصول عليها باستخدام درجات حرارة أعلا فى التسوية ومعدلات تمليح أقل من الجبن الأول (الأمينتال) .

يعتبر تخمير اللاكتات وبقايا السكريات بواسطة بكتريا حمض البروبيونيك مرحلة حيوية هامة فى تسوية الجبن السويسرية الذى يتم بعد إنتاج حمض اللاكتيك بواسطة البادىء الأساسى . ينتج عن تخمير اللاكتات بواسطة بكتريا حمض البروبيونيك غاز CO_2 (الذى يكون العيون) وحمض البروبيونيك والخليك الذى يسود مع حامض اللاكتيك الطعم فى جبن الأمينتال بصفة خاصة . يبدأ تكوين العيون بعد أن تصل بكتريا حمض البروبيونيك أقصى عدد لها من ٢٥ - ٤٠ يوم يوم أو أكثر ، بينما التركيب البنائى للجبن يكون بلاستيكيا بدرجة كافية تسهل من تكوين العيون أكثر من تكوين شقوق ، يطلق على هذه التغيرات التخمر الثانوى . تكوين CO_2 بدرجة زائدة فى الجبن يؤدى إلى حدوث عيوب فى التركيب البنائى وقد يحدث ذلك نتيجة زيادة نشاط بكتريا حمض البروبيونيك فى المراحل المتأخرة بواسطة الأحماض الأمينية الناتجة من تحلل البروتين بواسطة بعض بكتريا مزارع البادىء أو الملوثات غير المرغوبة .

يتوقف ظهور الفلورا السطحية على الجبن الطرية والنصف طرية على تمثيل اللاكتوز إلى حامض اللاكتيك والذى يعتقد أنه يبدأ بواسطة الخمائر المستهلكة للاكتات lactate-utilizing yeasts الذى يؤدى نموها إلى رفع pH مما يسمح لميكروبات أخرى أن تنمو على السطح . تتابع مثل هذه التغيرات معروفة بصفة عامة فى الجبن التى ينمو على سطحها مجموعة من الميكروبات surface smear cheese مثل جبن اللامبرجر والجروييير.

وتتضمن الخمائر التى تنمو على سطح هذه الجبن *Candidum* , *Geotrichium* ، كما أن كل من Micrococci ، coagulase-negative Staphylococci تكون الميكروبات الرئيسية المنتجة للصبغات ولكن *B.linens* على درجة كبيرة من الأهمية فى جبن اللامبرجر والجروبير والبريك حيث يلعب دوراً هاماً فى تكوين الطعم فى الجبن .

٦-١-٢- السترات

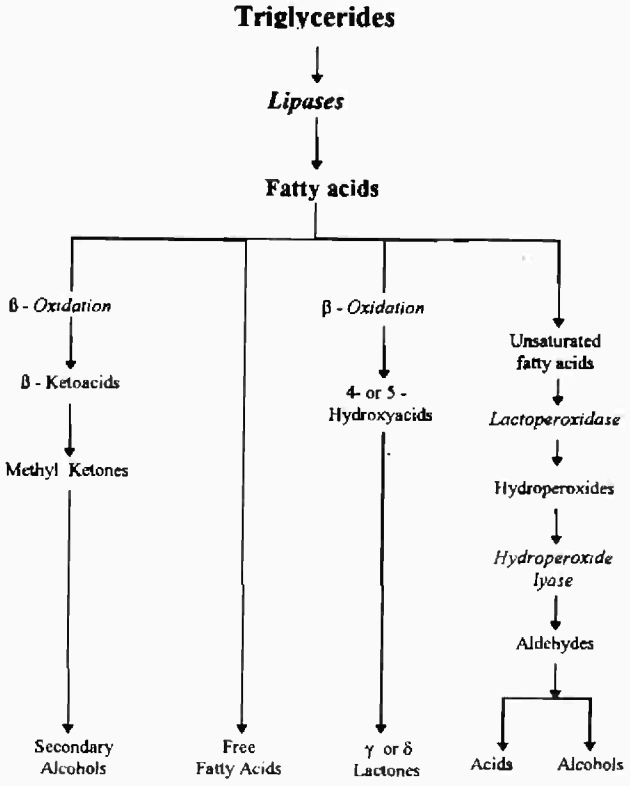
السترات مكون طبيعى فى اللبن ويوجد بتركيزات ضئيلة ويحدث له تمثيل بواسطة *L.lactis* subsp. *lactis* biov. *diacetylactis* و *Leuconostoc* إلى CO_2 ومركبات الكربونيل وتشمل ثنائى الاسيتيل . لذلك فإن سلالات من هذه البكتريا توجد دائماً فى مزارع البادئات المستخدمة فى صناعة جبن Cottage . يعتمد الطعم فى هذا النوع من الجبن بصفة رئيسية على ثنائى الأسيتيل عند مستوى ٢ جزء فى المليون كما يعتقد أن الاسيتالدهيد يساهم أيضا فى الطعم . دور نواتج تخمر السترات فى الجبن المسواه أقل وضوحاً وقد يكون ثنائى الأسيتيل مهم فى جبن التشدر نتيجة تفاعله بصورة تعاونية مع مكونات أخرى ناتجة أثناء التسوية ومع ذلك فإنه يمكن إنتاج جبن تشدر جيد بدون استخدام البكتريا المخمرة للسترات .

٦-٢- الليبيدات كمصادر للطعم

تعتبر الجليسريدات الثلاثية فى اللبن كمياً أهم الليبيدات الموجودة فى الجبن كما توجد الفسفوليبيدات كمكونات لغشاء حبيبات الدهن وتركيب البكتريا ولكن يعتقد أنها لا تساهم فى مكونات الطعم فى الجبن المسواه . تتحلل الجليسريدات الثلاثية بدرجة أكبر فى بعض أنواع من الجبن أكثر من غيرها وبالتالى تختلف درجة مساهمتها فى طعم الجبن . الشكل (٤-٦) يوضح تكوين مكونات الطعم من الجليسريدات .

مثلا فى الجبن الأيطالية مثل الرومانو Romano والبرمسان Parmesan والبرفلونو Provolone يعتمد الطعم المميز لهذه الأنواع بدرجة كاملة على الأحماض الدهنية الحرة الناتجة بفعل أنزيمات الليبيز الحيوانى المضافة . كما أن الأحماض الدهنية الحرة تكون حيوية فى تكوين الطعم المميز فى الجبن المعرقة بالفطر Blue cheese كمكونات الطعم وكبئيات حيث يتم أكسدتها إلى مركبات ميثيل كيتونات التى تعتبر من مكونات الطعم الرئيسية . يلقح لبن أو خثرة الجبن المعرقة بالفطر بجراثيم فطريات *Penicillium* الأزرق المخضر (*P.roqueforti*) وعندما يتم تثقيب الجبن الطازج لأدخال الهواء فإن الجراثيم تنمو

وينتشر الفطر داخل الجبن ويساعد على ذلك التركيب المفتوح للجبن .



شكل ٤-٦ : تكوين مكونات الطعم من الجليسريدات

يمكن السيطرة جزئياً على نمو الفطر بواسطة تركيز NaCl فى الجبن وعادة يستخدم التمليح الجاف على السطح الخارجي الذى يتخلل منه إلى داخل الجبن . وقد لوحظ أن *P.roqueforti* ينمو بدرجة سريعة فى المنطقة الوسطية العميقة أكثر منها فى المناطق الطرفية فى الجبن لأن تركيزات الملح المرتفعة والمنخفضة تكون مثبطة بينما التركيزات المتوسطة (١-٣٪) تكون منشطة . تنمو جراثيم الفطر فى المراحل الأولى من التسوية ويكون الميسليوم واضحاً بعد ٨-١٠ أيام ويصل نمو الفطر إلى أقصاه بعد ١-٣ شهور . الميسليوم والجراثيم لهما قدرة كبيرة على تحلل الدهن حيث يفرز الفطر نوعين من الليبيز

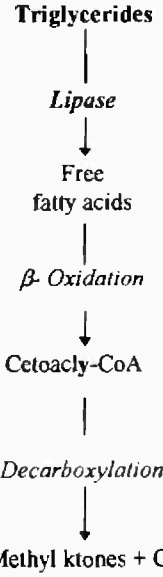
(حامضى وقلوى) ولكن الأنزيم الحامضى فقط يكون مهم فى تسوية الجبن . والتركيزات المرتفعة من NaCl يثبط من تحلل الدهن ولكن فى بعض أجزاء من الجبن حيث يكون تركيزNaCl تشجع على النمو الجيد للميسليوم فإن تحلل الدهن يحدث بسرعة كبيرة نسبياً .

معدل أنفراد الأحماض الدهنية بواسطة أنزيمات الليبيز .*Penicillum* spp يحدد معدل تكوين ميثيل كيتونات التى تتكون من الأحماض الدهنية بواسطة اكسدة جزئية بأتباع مسار β-oxidation والذى يحدث فى كل من الجراثيم والميسليوم . يؤكسد الميسليوم الأحماض الدهنية فى نطاق واسع من pH لكن درجة pH المثلى تكون بين ٥-٧ اى عند pH مماثل لـpH الجبن المسواه . أنزيم decarboxylase الذى يحول β-keto acid إلى ميثيل كيتون يكون درجة pH المثلى بين ٦,٥ - ٧ . وعموماً فإن *P.roqueforti* ، *P.camemberti* ، *G.candidium* تحتوى على نظام أنزيم يسمح بتكوين مركبات ميثيل كيتون من الأحماض الدهنية الحرة (FFA) من خلال مسار β-oxidation (شكل ٥-٦) حيث يتم أكسدة FFA إلى β-ketoacyl-coenzyme A والذى يتحول بفعل أنزيم thiolase إلى β-ketoacid والذى يفقد بسهولة مجموعة كربوكسيل بواسطة أنزيم β-keto acyl-decarboxylase ليعطى ميثيل كيتون يحتوى على عدد ذرات كربون أقل ذرة واحدة عن الحمض الدهنى الناتج منه .

وهناك أرتباط موجب بين مستوى الأحماض الدهنية الحرة وكمية الميثيل كيتون المتكونة ، الجبن الذى حدث به تحلل للدهن محدود لا يحتوى على نكهة قوية .الفطر الأبيض السطحى *P.camemberti* فى جبن البراى Brie و الكمبير Camembert ينتج أيضاً أحماض دهنية حرة ويؤكسدها إلى ميثيل كيتونات التى تكون أساسية لتكوين الطعم المتوازن فى هذه الأنواع من الجبن . النشاط التأكسدى متباين والنواتج الرئيسية هى 2-undecanone , 2-nonanone .

دور تحلل الدهن والأحماض الدهنية الحرة (FFA) يكون أكثر صعوبة فى تقييم الجبن التى لا تتضمن تسويتها نمو الفطر . ميكروفلورا الطبقة السطحية smear على الجبن النصف طرية وتشمل الخمائر ، Micrococci مع أو بدون *B.linens* قادرة على تحليل الدهن وقد تساهم فى تكوين الطعم . وكثير من الجبن الجافة ونصف الجافة المسواه تعتمد على محتواها من بكتريا حمض اللاكتيك فى تكوين الطعم وهذه البكتريا قد تكون قادرة

على تحلل الدهن بدرجة محدودة . وقد يرجع جزء من صفات هذه الأنواع من الجبن إلى التركيزات المنخفضة من الأحماض الدهنية الحرة الطيارة (٥-١٠ ميكروجرام/جرام جبن)، فمثلاً كمية هذه الأحماض بدون حمض الخليك تزداد أثناء تسوية جبن التشدر ويرجع ذلك إلى النشاط الضعيف لأنزيم الأستريز esterase والليبيز الناتج من فلورا اللبن وبادىء Lactococci كما يعتقد أن زيادة مستويات الأحماض الدهنية الحرة أعلا من المستويات التى توجد عادة فى الجبن عند فترة تسوية معينة يتلف فقط التوازن فى مركبات الطعم ولا يزيد من قوة الطعم المميز . المستويات العادية من الأحماض الدهنية التى توجد فى الجبن (تقريباً ٥٠٠ جزء فى المليون) تمثل كميات أعلا من الحد المميز للطعم والنكهة المرغوبة التى تتراوح بين ٣, - ١٠٠ جزء فى المليون ، لذلك فمن المتوقع أن تساهم فى الجودة الأجمالية الحسية للجبن التشدر . كما يمكن القول أن مخاليط من الأحماض alkanoic ذات سلسلة كربونية تختلف من ذرتين إلى ٨ أو ١٠ ذرة يمكن أن تعطى طعم يشبه الجبن سواء مسواه طبيعياً أو فى مخلوط طعم الجبن المطبوخة .



شكل ٥-٦ : تكوين مركبات الميثيل كيتون من الأحماض الدهنية

من مكونات الطعم المشتقة من الدهن والمشتركة فى طعم جبن التشدر ، الكيتونات

واللاكتونات ، ويبدو أن مركبات الميثيل كيتون المحتوية على عدد فردى من ذرات الكربون ليست مكونات طعم هامة أو حيوية حيث أنها غير موجودة فى الجبن المسواه والناتجة بأستخدام بكتريا البادىء فقط . تركيزات pentanone فى الجبن العادية تعتبر دليل جيد على عمر الجبن ولكن هذا المكون ليس ضرورياً للطعم ويوجد butanone عادة فى جبن التشدر ويعتبر كمكون فى الطعم المرغوب ولكن لا يوجد عند تركيزات أعلا من الحد المطلوب لظهور الطعم ويميل إلى الأختفاء يتقدم الجبن فى العمر .

بالرغم من أن اللاكتونات يعتقد أنها تحسن من طعم الجبن المعرقة بالفطر إلا أن مساهمتها فى طعم الجبن التشدر أقل وضوحاً ولا توجد دلائل مباشرة على وجود علاقة بين تركيزات اللاكتونات فى الجبن المسواه مع قوة الطعم . ومع ذلك فإنها تعتبر مهمة حيث تدخل فى تركيب طعم الجبن المخلق synthetic cheese flavor . تتكون هذه المكونات فى الجبن نتيجة لتكوين حلقة تلقائياً δ-hyroxy acid المنفرد من جليسريدات اللبن نتيجة تحلل الدهن (شكل ٤-٦) ويعتقد أن بعض الخمائر والفطريات تستطيع أن تختزل δ-keto acids إلى hydroxy acids الذى يتحول إلى لاكتونات .

أسترات الأحماض الدهنية من السهل تكوينها فى الجبن بواسطة كل من أنزيمات الأستريز الميكروبية microbial esterases أو بواسطة تفاعلات كيماوية بسيطة تحدث ببطء خلال فترات طويلة من التخزين . وحيث أن الأيثانول أكثر الكحولات شيوعاً فى الجبن فإن الايثيل أستر ethylester يكون شائعاً بدرجة كبيرة وأسترات احماض hexanoic acids غالباً ما تكون مرتبطة بظهور الطعم الفاكهى fruity flavor غير المرغوب فقد وجد أن عيب الطعم الفاكهى فى الجبن التشدر يكون مرتبطاً بوجود مستويات مرتفعة من ethylbutyrate و ethylhexanoate . عادة يحدث هذا العيب بواسطة نشاط أنزيم أستيريز esterase من بكتريا حمض اللاكتيك خاصة *S.lactis* subsp. *lactis* biov. *diacetylactis* , *S.lactis* subsp *lactis* . الجبن ذات الطعم الفاكهى تحتوى على مستويات مرتفعة بدرجة غير طبيعية من الأيثانول الذى يكون متوفر لعملية الأسترة esterification ، يتأثر نشاط أنزيم أستريز بكتريا حمض اللاكتك الكروية بمستوى الجلوتاثيون الذى يعتمد نشاطه على مجاميع السلفدريل sulphydryl الحرة.

أسترة الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة مع methanethiol (الذى يوجد عادة فى

الجبن كناتج من تحليل methionine) بواسطة الميكروبات السطحية فى الجبن المسواه سطحياً (*B.linens*,Micrococci) ينتج thio-esters مع نكهة جبن cheesy aroma مثل هذه المكونات يمكن أن تتكون بطريقة غير أنزيمية فى جبن أخرى . وقد أمكن تحضير سلسلة من thio-esters كيماويا لأحماض البروبيونيك ، البيوتريك ، فاليريك ، octanoic التى تتميز بصفات نكهة متجانسة مع أحتمال مشاركتهم فى تكوين طعم الجبن .

٦-٣ البروتين كمصادر للطعم

يحدث تحلل البروتين فى الجبن بدرجات وبمعدلات مختلفة طبقاً لتركيب الميكرفلورا فى الجبن فمثلاً جبن تشدر عمرها ٦ شهورتحتوى تقريباً على ٣٪ من محتواها من النتروجين الكلى فى صورة نيتروجين أحماض امينية حرة بينما فى الجبن المعرقة بالفطر يمكن أن تصل إلى ١٠٪ . ومثل هذه التركيزات المرتفعة من أحماض أمينية قد يساعد فى تنظيم buffering الجبن عند قيم pH مرتفعة نسبياً وبالتالى يساعد على تحلل أنزيمى أشمل لمكونات اللبن .

دور الأحماض الأمينية والببتيدات الناتجة من الأنزيمات المحللة للبروتين فى الجبن الجافة والنصف جافة ليست واضحة تماما وقد تتفاعل مباشرة بمساهمتها فى الطعم . ويعتقد البعض أن الببتيدات الكبيرة تعطى خلفية طعم مرقة (brothy) فى الجبن السويسرية وأن البرولين والببتيدات الصغيرة (بالمشاركة مع Ca^{2+} , Mg^{2+}) تساهم فى الطعم الحلو sweet . ومع ذلك فإن نطاق الطعم التى يمكن أن تساهم فيه هذه المكونات يكون محدود جداً . ومع ذلك فإن الشق القابل للذوبان فى الماء فى الجبن المتقدمة فى العمر (التى تتكون من الأحماض الأمينية والببتيدات) يكون على درجة كبيرة من الأهمية بالنسبة لقوة طعم الجبن .فى الجبن التى تسوى داخلياً بالبكتريا مثل التشدر والأنواع الهولندية ، هناك أتفاق مقبول يشير إلى أن الشقوق غير القابلة للذوبان فى الماء (التى تتكون أساساً من البروتين والببتيدات الكبيرة) خالية من الطعم أو النكهة وأن الشقوق القابلة للذوبان فى الماء وغير الطيار (الببتيدات الصغيرة ، الأحماض الأمينية ، الأحماض العضوية) تحتوى على معظم المكونات المسئولة عن الطعم بينما النكهة ترجع أساسا إلى الشق الطيار ، يدعم هذا الرأى أن نواتج تحلل البروتين هى المكونات الرئيسية المساهمة فى طعم الجبن .

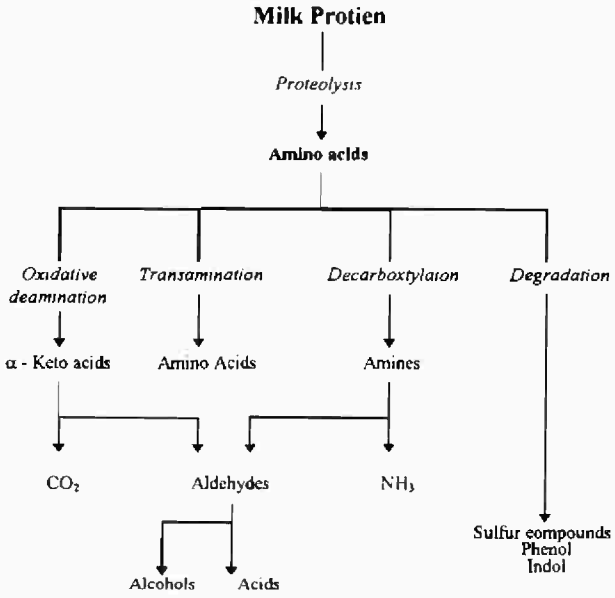
وقد أشار كثير من الباحثين إلى أن الأحماض الأمينية تساهم فى تكوين خلفية للطعم فى الجبن وبالرغم من أن دور الأحماض فى تكوين الطعم لا يزال غير واضحاً تماماً إلا أن

بعض الأحماض الأمينية له دور هام ومحدد فى طعم بعض أنواع من الجبن مثل البرولين يساهم فى تكوين طعم جبن الأمنيتال والجروييز (مسئول عن الطعم الحلو sweet فى هذه الجبن) وحمض الجلوتاميك فى طعم جبن البرفلونو Provolone الأيطالية . ويختلف مذاق الأحماض الأمينية بدرجة واضحة حيث يتميز كل من الجلايسين الآلنين ، البرولين ، السيرين والثيرونين بمذاق حلو sweet وكل من الفالين ، الأرجنين ، الهستدين الميثايونين بمذاق مر مائل للحلاوة وكل من الليوسين ، الفينيل الأنين ، التربتوفان، الليسين بمذاق مر بينما يتميز الأسبارتيك بمذاق مر مع مذاق يشبه المرق brothy والجلوتاميك بمذاق المرق والسستين بمذاق يشبه المطاط بينما التيروسين يكون تقريباً عديم الطعم . وقد تمكن البعض من الحصول على طعم شبيه بطعم جبن التشدر عن طريق اضافة ٩ أحماض امينية حرة نقية من المعروف انها توجد فى جبن التشدر إلى جوامد جبن خالية من الطعم بينما لم يتمكن أخرون من الحصول على الطعم المطلوب عند إضافة ١٩ حمض أمينى كل على حدة إلى جبن خال من الطعم . وقد أشار البعض أنه لا يوجد حمض أمينى أو أمين أو خليط منهما يعطى أى طعم أو نكهة مماثلة للطعم المميز لجبن التشدر . كما أن بعض الغازات التى تنطلق خلال عمليات التحلل مثل NH_3 ، H_2S ، CO_2 قد تساهم فى تكوين طعم بعض أنواع من الجبن حيث تساهم NH_3 فى طعم جبن الكممبير ، H_2S فى طعم جبن التشدر بينما يساهم CO_2 بطريقة غير مباشرة فى طعم بعض أنواع من الجبن .

٦-٣-١- تمثيل الأحماض الأمينية

تقوم كثير من الميكروبات بتمثيل (هدم) الأحماض الأمينية فى المراحل المتأخرة من التسوية (شكل ٦-٦) مع إنتاج مكونات مختلفة تساهم فى طعم الجبن بدرجات متباينة. تمثيل الأحماض الأمينية بواسطة الفلورا السطحية يؤدى الى أنتاج مكونات الطعم ومصادرها وتعتبر مرحلة هامة فى اكساب طعم ونكهة جبن الكممبير . فمثلا تشارك NH_3 فى تكوين النكهة وتنتج من نزع مجموعة الأمين deamination من الأحماض الأمينية بواسطة الخمائر الملوثة وخاصة من النوع *Geotrichium*. كذلك الجبن التى تنمو على سطحها *B.linens* تكتسب نكهة الأمونيا القوية حيث أن هذا الميكروب يقوم بنزع مجموع الأمين من معظم الأحماض الأمينية بما فيها مجاميع الأمين فى السلاسل الجانبية . صفات الطعم بصفة عامة السائدة فى عديد من الجبن المسواه سطحيا يعزى الى 3-methyl-1-butanol ، phenylethanol و phenol نتيجة نشاط عديد من الميكروبات

منها *B.linens* وتحويلها الليوسين والفينيل آلانين والتيروسين إلى هذه المكونات على الترتيب.



شكل ٦-٦ : تمثيل الأحماض الأمينية فى الجبن

تمثل مكونات الكبريت الطيارة مجموعة أخرى هامة فى طعم ونكهة الجبن الطرية، فقد وجد أن *P.camemberti* يقوم بأنتاج H_2S ، dimethylsulphide وكذلك methanethiol من methionine كما أن *B.linens*. يستطيع أيضا أن يقوم بهذا التفاعل. كما يبدو أن *B.linens* يتعاون مع Micrococci لأنتاج نوع من thioesters والذى يعتقد أن يكون على جانب كبير من الأهمية فى الجبن المسواه سطحيا بواسطة smear وتتميز مركبات الكبريت بطعم ثوم قوى garlic فى الجبن الزائدة التسوية .

مركبات الكبريت الطيارة المشتقة من النواتج النهائية لتحليل البروتين قد تساهم أيضا فى طعم جبن التشدر والأنواع المشابهه بالرغم من الكميات المتكونة فى هذه الجبن أقل من الموجودة فى الجبن المسواه بالفطر أو الطبقة السطحية smear فمثلا يقدر methanethiol فى الجبن التشدر بالنانوجرام/جم ولكن فى الجبن المعرقة بالفطر

بالميكروجرام / جم ، عدم وجود هذا المركب فى الجبن يتواكب مع غياب الطعم المميزة للجبن .

البكتريا التى تقوم بأنتاج methanethiol (*B.linens*) وبعض أنواع من Coryneform وكذلك عديد من *Pseudomonas* اللبن الخام) نادرا ما توجد فى الجبن التشدر لذلك فأن التفاعل الأنزيمى لم يحدث بدرجة محسوسة فى الجبن . بالرغم من methanethiol يوجد فى الجبن المصنوعة بالبادىء ولا توجد فى الجبن المصنوعة بالتحميض الكيماوى فإن البادئات لا تنتج هذا المركب مباشرة. وقد لوحظ أن E_h فى جبن البادىء أقل بكثير (-١٥٠ الى -٢٠٠ mV) عن مثيله فى جبن التحميض الكيماوى (+ ٣٠٠ mV) لذلك يعتقد أن methanethiol يتكون بواسطة تفاعلات غير أنزيمية ولكن يبقى ثابتا فى E_h منخفض فى الجبن المصنوعة بالبادىء. وقد أشار البعض الى أن تكوين هذا المركب مرتبط بأنتاج H_2S وعادة يوجد هذا الغاز فى الجبن ويحتمل مساهمته فى الطعم ويلاحظ أن Lactobacilli ينتجه تحت ظروف حامضية ومصدر كربون محدود فى الجبن .

٦-٣-٢- تحلل البروتين وعيوب الطعم

يمكن أن تسبب نواتج تحلل البروتين عيوب فى الطعم. تعتبر الببتيدات مصدر للطعم المر فى الجبن وخاصة التى تحتوى على نسبة مرتفعة من الأحماض الأمينية الكارهه للماء (مثل الليوسين ، الفينيل آلانين ، البرولين) .

وقد وجد أن α_{s1}-casein هو المصدر الرئيسى للببتيدات المرة وتتضمن العوامل التى تساعد على تراكم هذه الببتيدات ، درجة أحتجاز المنفحة فى الخثرة ، عدد بكتريا البادىء فى الجبن الحديثة العمر ، قدرة خلايا البادىء على تحلل الببتيدات وكذلك معدل تحلل هذه الخلايا وأنفراد أنزيمات الببتديز .

ينتج كل من الكيموسين وبروتينيز البادىء ببتيدات مرة من الكازين كما أن بروتينيز البادىء يمكن أن ينتج ببتيدات صغيرة من الببتيدات غير المرة المشتقة من الكازين . وتعتبر العملية الأخيرة هى أهم عامل منفرد فى حدوث المرارة وأن البادىء الذى يتكاثر بمعدل سريع نسبيا عند درجات حرارة السمط أثناء صناعة جبن التشدر (بادىء سريع fast-starter) غالبا ما يعطى طعم مر فى الجبن نظرا لأن الأعداد الكبيرة من الخلايا الناتجة تساهم بكميات كبيرة من أنزيمات البروتينيز المنتجة للببتيدات المرة لذلك فإن البادئات المنتجة للمرارة يمكن أن تنتج جبن ليس بها مرارة وذلك بالحد من زيادة أعداد خلايا

البادىء بأستخدام درجات حرارة مرتفعة فى السمط وعلى العكس من ذلك فإن البادئات التى لا تسبب مرارة يمكن أن تنتج جبن تحتوى على طعم مر إذا سمح لخلايا البادىء للوصول الى أعداد كبيرة وذلك بتعديل طريقة الصناعة .

يلاحظ أن بعض سلالات البادىء تنتج أنزيمات ببتديز محلله للببتيدات المرة بكمية أكبر وقد أمكن تحديد نشاط أنزيم كل من dipeptidase ، amino-dipeptidase من مستخلص خال من خلايا بادىء Lactococci ولكن لم يتم عزل الأنزيمات منفردة ، لذلك فإنه يبدو أن تحليل البروتين بواسطة البادئات المعتدلة على درجة كبيرة من الأهمية فى أنتاج عيب الطعم المر في الجبن ولكن يتوقف ذلك على نوع الجبن . ومن الأمور المتفق عليها أن المرارة ترجع الى تراكم ببتيدات كارهه للماء hypdrophobic peptides ولكن هناك عدم أتفاق عن سبب ذلك هل يرجع الى نقص فى نشاط الببتديز أو الى نشاط زائد للبروتينيز فى بعض أنواع البادئات .

وقد بدأ فى السنوات الأخيرة بعض التغيرات فى أتجاه بحوث طعم الجبن من تحليل المركبات الطيارة بواسطة GC الى تحليل وتوصيف الشق غير الطيار والذائب فى الماء بواسطة HPLC . بدون شك فإن هناك عدة عوامل قد ساهمت فى ذلك مثل الفشل فى ربط طعم الجبن مع الجودة والمواد الطيارة فى الجبن ، التطورات التى حدثت فى HPLC والدلائل التى توضح أهمية المركبات غير الطيارة والذائبة فى الماء وخاصة الببتيدات والأحماض الأمينية فى طعم الجبن . كما أن التقدم فى مجال الهندسة الوراثية والبيولوجية الجزئية قد أدت الى أدخال تعديلات فى نظام بروتينيز البادىء وحاليا يوجد أهتمام كبير من الباحثين فى هذا المجال .

وقد ساهمت تعدد أنواع أجهزة تحليل GC ، HPLC فى تطوير طبيعة البحوث فى هذا المجال حيث ساعدت على اعادة الأهتمام بصناعة الجبن من اللبن الخام أو لبن معامل حراريا بمعاملات أقل من البسترة وكذلك استخدام البادىء المساعد (الثانوى) أى *Lactobacillus* spp. بعض العوامل التى تبدو هامة فى طعم الجبن مثل عدد من مركبات الكبريت المختزلة وأهمية E_h المنخفضة فى تكوين وثبات هذه المكونات ، وقد وجد أنه من الصعب أو المستحيل خفض E_h فى الجبن بوسائل كيماوية أو طبيعية بدون حدوث تفاعلات كيماوية تؤثر على طعم الجبن .