استخدام الببسين المرتبط على الغشاء المبطن لقانصة الدجاج في تصنيع الجبن الأبيض الطري

محمد زيارة اسكندر *(1)

(1). قسم علوم الأغذية، كلية الزارعة، جامعة البصرة، البصرة، العراق.
(* للمراسلة: د. محمد زيارة اسكندر. البريد الإلكتروني: mohamed_alklom@yahoo.com).

تاريخ الاستلام: 2017/08/19 تاريخ القبول: 2017/03/10

الملخص

شملت الدراسة استخلاص أنزيم الببسين EC:3.4.23.1 من الغشاء المبطن لقانصة الدجاج نوع Broiler باستخدام محلول الاستخلاص (4% حامض البوريك و0.5% بنزوات الصوديوم ورقم هيدروجيني 5.6)، بنسبة 100:4 (وزن/حجم). تمّ ترسيب الأنزيم باستخدام كبريتات الأمونيوم بنسب إشباع تراوحت بين (20- 60) % تشبّع، إذ كانت الفعاليّة التحلليّة والتخثريّة للإنزيم (23.786 ، 2.653) وحدة/ مل على التوالي، أمّا نسبة الفعاليّة التخثريّة/الفعاليّة التحلليّة فكانت 8.965. تمّت دراسة تأثير الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة على الفعاليّة التخثريّة للحليب، إذا أظهر الببسين المستخلص أعلى فعاليّة تخثريّة عند رقم هيدروجيني 5 ودرجة حرارة 50 °م، كما أشارت النتائج إلى أنّ زيادة تركيز كلوريد الصوديوم أدّت الى انخفاض الفعاليّة التخثريّة. استُخدم الببسين المستخلص المنقّى جزئياً والببسين المرتبط على الغشاء المبطّن للقانصة في صناعة الجبن الأبيض الطري، وقورن بالمنفحة التقليديّة، وجد ارتفاع النسبة المئوية للنتروجين الذائب/النتروجين الكلي للجبن المصنّع بواسطة الببسين المستخلص المنقّى جزئياً، وبصورةٍ أقل للببسين المرتبط مقارنةً بالمنفحة التقليدية خلال مدة خزن 1 ، 3 و7 أيام عند درجة حرارة 5 °م. وكانت نتائج المحتوى الكيميائي والاختبارات الحسيّة للجبن المنتج بالببسين المرتبط مقاربة للجبن المنتج بالمنفحة التقليدية.

الكلمات المفتاحية: الببسين، قانصة الدجاج، الفعاليّة التخثريّة، الجبن الأبيض الطري.

المقدمة:

يُعدّ الببسين(EC:3.4.23.1) من البروتيزات الحامضيّة ذات الفعاليّة العاليّة في البيئة الحامضيّة (Barrett, 1980) وهو موجود في العصير المعدي بتركيز 400 ملغم/لتر وظيفته كسر الرّوابط الببتدية للبروتين الغذائي في المعدة، إذ يُفرَز الببسين من خلايا الغشاء المخاطي المعدي بهيئة غير فعّالة تُعرف بالببسينوجين الذي يتحوّل الى ببسين بواسطة التحلل البروتيني (Walsh, 1979). تُستعمل الأنزيمات في الصناعات الغذائيّة وهي ذات أهميّة كبيرة في إنتاج الغذاء وحمايته، والبروتيزات النوع الأكثر أهميّة إذ تشمل حوالي 25% من الأنزيمات التجارية في العالم، ويمكن تحضيرها من مصادر نباتيّة، وحيوانيّة، وميكروبيّة (Temiz *et al*., 2007). وللأنزيمات المحلّلة للبروتين تطبيقات متعددة في صناعات متنوعة مثل الصناعات الغذائيّة، صناعة المستحضرات الصيدلانيّة، صناعة المنظّفات ودباغة الجلود (Benjakul *et al*., 2010; Goras, 2009).

تُعدّ المنفحة الحيوانيّة (المستخلص الملحي للمعدة الرّابعة للعجول الرّضيعة) المخثّر التقليدي المستخدم في صناعة الجبن، إلا أنّ الزيادة السكانيّة وما صاحبها من زيادةٍ في استهلاك الجبن كمّاً ونوعاً من ناحية، والقوانين التي منعت ذبح الحيوانات الصغيرة من ناحيةٍ أخرى، حثّت على ضرورة إيجاد بدائل مناسبة لهذا المخثّر لاستخدامها في صناعة الجبن، ومن هذه البدائل استخلاص الببسين من بعض الحيوانات مثل الخنازير (Green, 1972)، والدّواجن (Gordin and Rosenthal, 1977)، والأبقار (Guinee and Wilkinson, 1992)، والجمال (مجيد وآخرون، 2007) والأسماك (Nalinannon *et al*., 2010 ؛ السراجي واسكندر، 2012). لاقى استعمال الببسين في صناعة بعض أنواع الأجبان استحساناً من مصنعي الجبن، في حين استبعد بعضها الآخر بسبب ما أظهر من قوة تحلليّة عالية، مما أدّى إلى ظهور الطعم المر وبشكلٍ مبكّر، فضلاً عن القوام

غير المتماسك الذي يترتب عليه فقدان نسبة من الخثرة في الشرش، وبالتالي نقصان في المحتوى البروتيني (الموسوي،1996).
تتكوّن المعدة في الطيور من جزئين؛ الأول يُعرف بالمعدة الحقيقية Proventriculus أو الجزء الغدي Glandular وهو الجزء الأمامي، والجزء الثاني الخلفي الذي يسمّى بالقانصة Gizzard أو الجزء العضلي Muscular part. تحتوي المعدة الحقيقية للطيور على خلايا تسمى بالخلايا الرئيسة Chief cells وهي الخلايا المسؤولة عن إنتاج أنزيم الببسين وحامض الهيدروكلوريك HCl . لا تلعب المعدة الحقيقية دوراً رئيساً في عملية الهضم وإنّ وظيفتها الأساسية تكمن في إفراز العصير المعدي ودفع الغذاء الى القانصة حيث يبقى الطعام داخل المعدة الحقيقية لفترة قصيرة (الحسني، 2000). تعتمد صناعة الأجبان على استيراد المنفحة من خارج البلد مما يسبّب كلفةً عالية للإنتاج، ونتيجةً لزيادة إنتاج الدواجن في البلد خلال السنوات الأخيرة هدفت الدراسة لاستغلال مخلّفات الدواجن في تحضير مخثر طبيعي يستعمل في صناعة الجبن الأبيض الطري ودراسة خواصه الحسيّة خلال فترة الخزن.

مواد البحث وطرائقه:

تمّ الحصول على الغشاء المبطّن للقانصة من دجاج Broiler من السوق المحليّة في مركز مدينة البصرة بعد الذبح مباشرةً، وتمّ حفظها بالتجميد لحين الاستخلاص، أمّا الحليب الخام فقد جُهّز من محطة كلية الزراعة، جامعة البصرة، في العراق، واستُخدم المستحضر التّجاري لمنفحة العجول Calf rennet المجهّز من شركة Christian Hansen الدنماركية. وتجدر الإشارة إلى أنّ جميع المواد الكيميائيّة، والكواشف، والمذيبات المستعملة خلال مدّة إجراء البحث من النوع التحليلي Analytical Grade، كما استُخدم الماء المقطّر في جميع مراحل وخطوات العمل.

استخلاص الأنزيم:

استُخلص الأنزيم الخام من الأغشية المبطّنة للقانصة بأخذ 10 أغشية، وغسلها بالماء البارد بعد إزالة محتوياتها، وتركها في إناء نظيف لتجف على درجة حرارة المختبر 25 °م، ثمّ طحنها باستعمال الهاون الخزفي. أُجري الاستخلاص حسب الطريقة التي ذكرها علي وسليم، (1983) وذلك بأخذ 4 غ من الأغشية ونقعها في 100 مل من محلول الاستخلاص (4% حامض البوريك، و0.4% بنزوات الصوديوم ورقم هيدروجيني 5.6) في قنينة زجاجيّة معتمة لمدة أسبوع على درجة حرارة الغرفة ثم رشّحت المحتويات بواسطة قماش الململ (cheesecloth)، ثم تمّ تركيز المستخلص بكبريتات الأمونيوم بنسبة اشباع تراوحت بين (20- 60)% وأُجريت الديلزة للرّاسب باستعمال الماء المقطّر لمدة 24 ساعة، يُستبدل الماء كل 6 ساعات على درجة حرارة 5 °م.

تقدير الفعالية التحلليّة:

قُدّرت الفعاليّة التحلليّة للأنزيم المستخدم في الدّراسة (مستخلص الغشاء المبطّن للقانصة) حسب طريقة (Witaker, (1958 باستخدام الكازئين كمادة للتفاعل.

المحاليل المستعملة:

1- محلول دارئ فوسفات الصوديوم بتركيز 0.2 مولاري وبرقم هيدروجيني 2 .
2- محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري.
3- محلول الكازئين الذي تم تحضير بإذابة 3 غ من الكازئين في 90 مل ماء مقطّر مع التّحريك والتّسخين على درجة 90 °م ثم أُضيف إليه 5.2 مل من محلول رقم 2 مع التّحريك حتّى الذّوبان وأكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر.
4- محلول المادة الأساسي الذي حُضّر بخلط حجم واحد من محلول رقم 1 وحجم واحد من محلول رقم 4 وأربعة حجوم من الماء المقطر.
5- محلول 10% TCA.

طريقة العمل:

أُضيف 0.2 مل من المستخلص الأنزيمي إلى 2 مل من محلول رقم 4 وحُضّن في حمّام مائي بدرجة حرارة 35 °م ولمدة 20 دقيقة، ثم أُضيف 3 مل من محلول رقم 5 لإيقاف التفاعل، حُضّر محلول الكفء (blank) بنفس الطريقة باستثناء إضافة محلول رقم 5 قبل إضافة المستخلص الأنزيمي، أُجريت بعد ذلك عملية النبذ المركزي 5000 دورة/دقيقة لمدة 20 دقيقة، وقيست الإمتصاصية على طول موجي 280 نانوميتر. إذ تُعرّف الفعاليّة التحلليّة بأنّها كميّة الأنزيم التي تسبب زيادة في الإمتصاصية مقدارها 0.01 عند 280 نانومتر تحت ظروف التجربة.

تقدير الفعالية التخثرية:

تمّ تقدير الفعاليّة التخثريّة حسب ما ذكره Corrons *et al*., (2012) وتلخّصت باسترجاع 10غ من الحليب الفرز المجفف

بحجم 100 مل من محلول كلوريد الكالسيوم 0.01 مولاري وعُدّل الرقم الهيدروجيني إلى 5.6 وحُفظ في الثلاجة لمدة 18 ساعة. أُخذ 10 مل من الحليب المسترجع في أنبوبة اختبار داخل حمام مائي عند درجة 35 °م، أُضيف1 مل من المستخلص الأنزيمي المحضّر مع التحريك الدائري الى حين ظهور بدايات التخثر، سُجّل الزمن وحُسبت الفعاليّة التخثريّة حسب المعادلة التالية:

الفعاليّة التخثريّة = (2400 / وقت التخثّر) × عدد مرات التخفيف

إذ تعرف الفعاليّة التخثريّة بأنّها كميّة الأنزيم اللازمة لتجبّن 10 مل من الحليب خلال 40 دقيقة تحت ظروف التجربة.

تقدير تركيز البروتين:

قُدّر تركيز البروتين حسب طريقة برادفورد Bradford, (1976) باستخدام المحلول القياسي لبروتين البومين البقري Bovine Serum Albumin (BSA).

تأثير الرقم الهيدروجيني في فعاليّة الأنزيم التخثريّة:

ضُبط الرقم الهيدروجيني للحليب البقري الخام بعد البسترة على درجة 65 °م/30 دقيقة من 0.5-0.7 وبفارق 0.5 درجة في الرقم الهيدروجيني من إنبوبة الى أخرى باستعمال محلول حامض الهيدروكلوريك ومحلول هيدروكسيد الصوديوم 1عياري، واستُخدمت طريقة Corrons *et al*., (2012) لتقدير الفعاليّة التخثريّة كما ذكر في المعادلة السابقة.

تأثير درجة الحرارة في فعاليّة الأنزيم التخثريّة:

قُدّرت الفعاليّة التخثريّة للأنزيم وفقا لما ذكرها Corrons *et al*., (2012) في مدى من درجات الحرارة تراوح بين 20-60 °م.

تأثير كلوريد الصوديوم في فعالية الأنزيم التخثريّة:

قُدّرت الفعالية التخثرية للأنزيم في الحليب الخام بعد البسترة والمضاف إليه تراكيز متدرجة من كلوريد الصوديوم تراوحت من (1-10) غ/100 مل حليب كما ذكرتها حمادي، (2001).

صناعة الجبن الأبيض الطري:

تمّ تصنيع الجبن الأبيض الطري باستعمال مستخلص أنزيم الغشاء المبطن للقانصة والغشاء المبطن للقانصة الخام وذلك بإضافة بعض الأغشية للحليب المعدّ لتصنيع الجبن لحين حصول التخثر ثمّ رفعها. وكذلك من المنفحة التقليديّة من شركة Christian Hansen الدنماركية ذات قوه تجبنيّة 1-50000 وكما هو مذكور على العبوة (بعد توحيد الفعاليّة التخثريّة للأنزيم) حسب الطريقة التي ذكرها Kawai and Mukai, (1970) مع إجراء بعض التحويرات، وأُخذت النماذج وبثلاثة مكررات لإجراء التحليلات الكيمياوية وحفظ الناتج في محلول ملحي 4 % في درجة حرارة الثلاجة. تمّ إجراء التقييم الحسّي خلال الخزن للفترات 1 و7 يوم من قبل عدد (10) من المقيّمين باستخدام نظام 10 درجات المتبع من قبل Nelson and Trout, (1965).

التحليلات الكيميائية:

قُدّرت النسبة المئوية للدهن، والبروتين والحموضة، والرقم الهيدروجيني، والمواد الصلبة الكليّة في الحليب، والشرش، والجبن، حسب الطريق الذي ذكرها Ling, (1982). أمّا النسبة المئوية للنتروجين الذائب في الجبن فقدرت حسب ما ذكر في Kosikowski, (1982).

التحليل الإحصائي:

تمّ إجراء التحليل الإحصائي لإيجاد أقل فرق معنوي عند ($p \leq 0.05$) باستخدام برنامج الحاسوب الإحصائي SPSS version 18.0 سنة 2009.

النتائج والمناقشة:

استخلاص الأنزيم ودراسة الفعالية التحلليّة والتخثريّة:

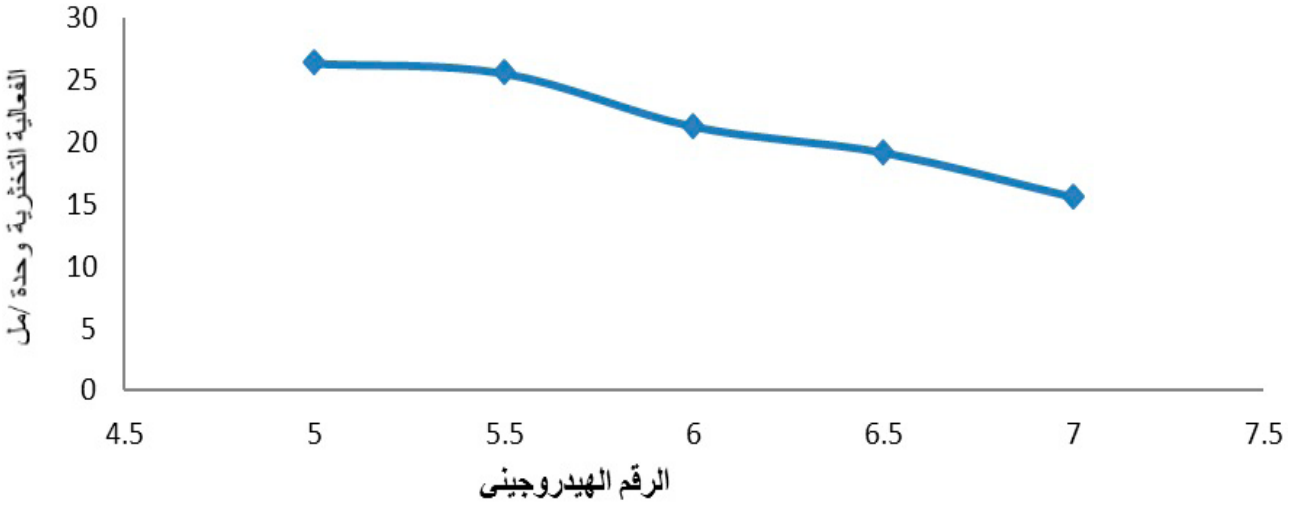
يوضّح الجدول (1) كلاً من الفعاليّة التحلليّة والتخثريّة لمستخلص ببسين الغشاء المبطّن للقانصة بعد الاستخلاص بالمحلول الملحي إذ كانت 0.921 و12.455 (وحدة/مل) على التوالي. وبعد الترسيب بكبريتات الأمونيوم لوحظت زيادة في الفعاليّة التخثريّة بصورةٍ أكبر من الفعاليّة التحلليّة إذ كانت 2.653 و23.786 (وحدة/مل) على التوالي، وهذا أدّى الى زيادة نسبة الفعاليّة التخثريّة/الفعاليّة التحلليّة إذ كانت النسبة 13.52 قبل الترسيب و8.865 بعد الترسيب ويُعدّ ارتفاع نسبة الفعاليّة التخثريّة/الفعاليّة التحلليّة من المعايير المهمّة في اعتماد بدائل المنفحة (حمادي، 2001).

الجدول 1. الفعالية التحللية والتخثرية لمستخلص ببسين الغشاء المبطن للقانصة قبل وبعد الترسيب بكبريتات الامونيوم

الأنزيم	الفعاليّة التخثريّة (وحدة/مل)	الفعاليّة التحلليّة (وحدة/مل)	الفعاليّة التخثريّة/الفعاليّة التحلليّة
المستخلص الخام	12.455	0.921	13.52
الترسيب بكبريتات الأمونيوم	23.786	2.653	8.965

تأثير الرقم الهيدروجيني في فعاليّة الأنزيم التخثريّة:

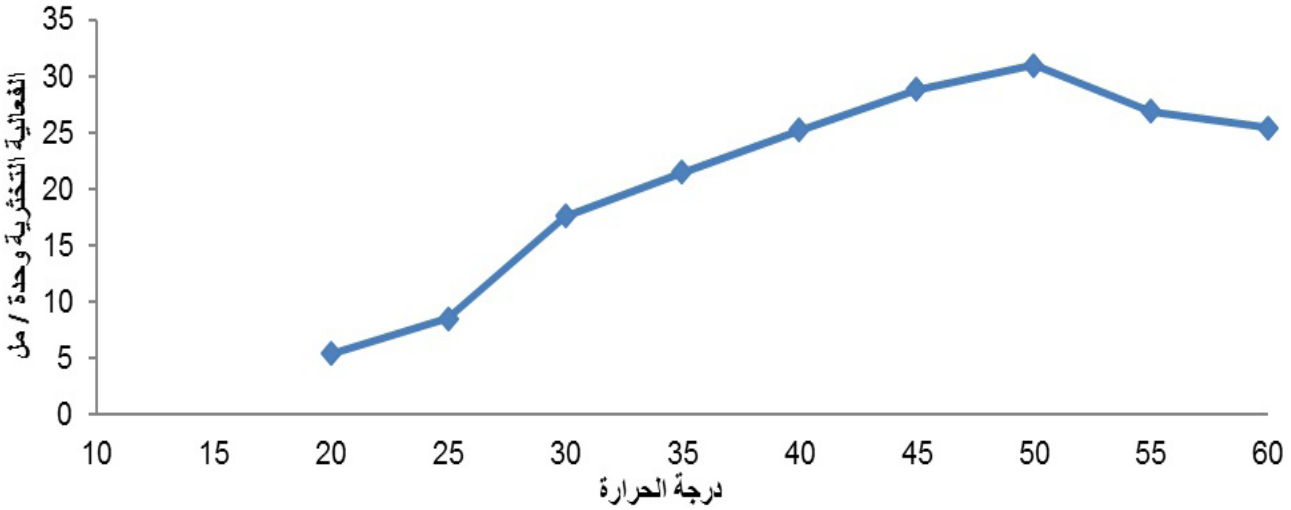
يوضّح الشكل (1) ازدياد الفعاليّة التخثريّة لببسين الغشاء المبطّن للقانصة بانخفاض قيمة الرّقم الهيدروجيني للحليب، وكانت الفعاليّة التخثريّة مناسبة عند رقم هيدروجيني 5–7 وهذا مقبول عند تصنيع الجبن الأبيض الطري لأنّ ارتفاع الحموضة يؤدّي إلى حصول خثرة جامدة ومتماسكة وتغيّر في تركيبها الكيمياوي إذ تفقد كميّة كبيرة من الأملاح وتؤدّي إلى قوام قصير سهل الكسر في الجبن النهائي (علي وسليم، 1983)، وجاءت هذه النتائج مقاربة لما وجدته اليونس، (2011) في أنّ الفعاليّة التخثريّة لببسين الأغنام والدّجاج قد انخفضت مع ارتفاع الرقم الهيدروجيني من 5.8–7.



الشكل 1. تأثير الرقم الهيدروجيني في الفعالية التخثرية لأنزيم الببسين المستخلص من الغشاء المبطن لقانصة الدجاج

تأثير درجة الحرارة في الفعاليّة التخثريّة للأنزيم:

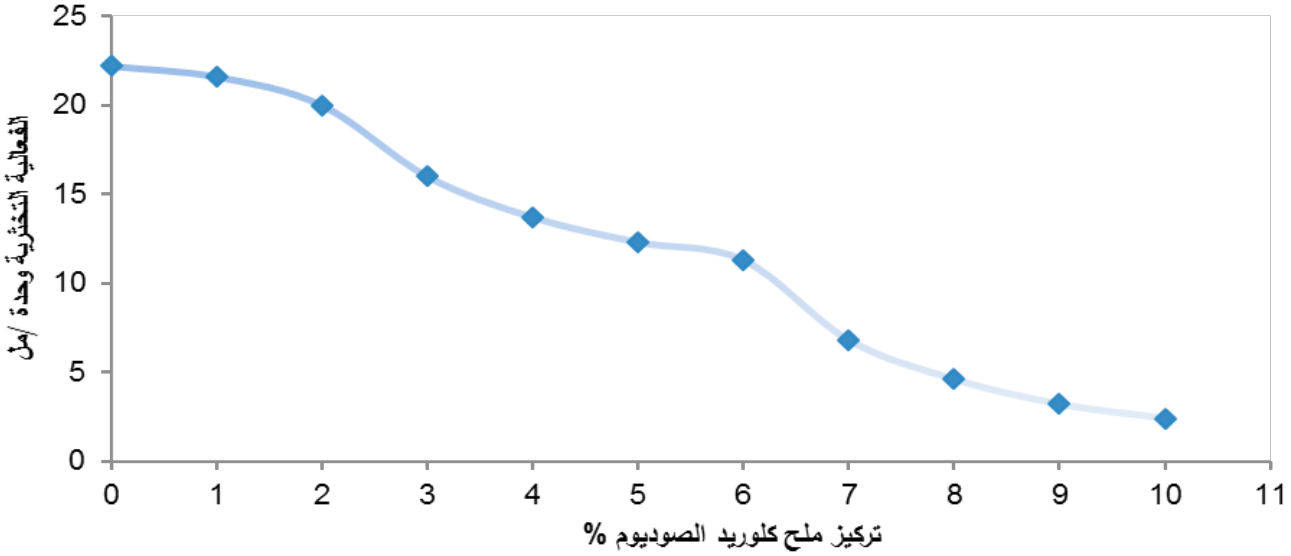
يبيّن الشكل (2) تأثير درجة حرارة الحليب في الفعالية التخثرية لأنزيم الببسين المستخلص من قانصة الدجاج، إذ يظهر أنّ الفعاليّة التخثريّة ازدادت بزيادة درجة حرارة الحليب فكانت أعلى فعالية عند درجة 50 °م. ثم بدأت بالانخفاض عند درجة حرارة 55 °م، ويظهر أيضاً أنّ الفعاليّة التخثريّة عند حرارة 35 °م كانت مناسبة لإنتاج الجبن الأبيض الطري، إذ يفضّل أن تكون درجة حرارة الإنتاج بهذه الحدود وذلك لتفادي انكماش الخثرة وبالتالي سرعة فقدان الشرش، ومن ثم تكوين خثرة جامدة ومطاطة بدرجة عالية (علي وسليم، 1983). تأتي هذه النتائج متقاربة مع ما وجدته اليونس، (2011) من أنّ انزيم الببسين المنقّى من معدة الدّجاج يمتلك أعلى فعاليّة تخثريّة بدرجة حرارة 45 و50 °م.



الشكل 2. تأثير درجة الحرارة في الفعالية التخثرية لأنزيم الببسين المستخلص من الغشاء المبطن لقانصة الدجاج

تأثير كلوريد الصوديوم في فعالية الانزيم التخثرية:

يوضّح الشكل (3) زيادة تركيز كلوريد الصوديوم في الحليب والذي أدّى الى انخفاض الفعاليّة التخثريّة للأنزيم المستخلص من الغشاء المبطن لقانصة الدجاج، إذ لوحظ أنّ التركيز 10% أعطى انخفاضاً كبيراً في الفعاليّة التخثريّة، وقد يكون ذلك بسبب منع تكوين أواصر فوسفات الكالسيوم بين أجزاء الكازئين، وبالتالي يمنع تكوين شبكة الخثرة وترسيبها (سعيد، 1988)، وبذلك يمكن استخدم المحلول ملحي ذو تركيز عالية لحفظ الجبن لأنّه يثبّط عمل الأنزيم المتخلف في الجبن ويؤثّر في نشاط الأحياء المجهريّة، وبالتالي يمنع أو يقلل تكوين الطعم المر الناتج من تحلل بروتينات الحليب (السراجي واسكندر، 2012). وتوافقت النتائج مع نتائج حمادي،(2001) باستعمال ببسين سمك الجري.



الشكل 3. تأثير تركيز كلوريد الصوديوم في الفعالية التخثرية لإنزيم الببسين المستخلص من الغشاء المبطن لقانصة الدجاج

المحتوى الكيميائي للحليب المستخدم في صناعة الجبن:

تمّ دراسة المحتوى الكيميائي للحليب المستعمل في صناعة الجبن الأبيض الطري، ويبيّن الجدول (2) نتائج تحليل مكوّنات الحليب.

الجدول 2. المحتوى الكيميائي للحليب المستخدم في صناعة الجبن

المكونات	المحتوى الكيمياوي
البروتين٪	3.3
الدهن٪	3.8
المواد الصلبة الكلية٪	11.3
المواد الصلبة غير الدهنية ٪	7.5
الحموضة	0.14
الرقم الهيدروجيني	6.8
الوزن النوعي	1.027

المحتوى الكيميائي للجبن المنتج:

يبيّن الجدول (3) المحتوى الكيميائي للجبن الأبيض الطري المنتَج باستعمال المنفحة التقليدية، والبيسين المرتبط على الغشاء المبطن للقانصة، وأنزيم البيسين المستخلص من الغشاء المبطن للقانصة وذلك بعمر يوم واحد وقبل خزنها بالمحلول الملحي 4%. إذ يُلاحظ أنّ نسبة الرطوبة والبروتين والدهن كانت 5.61% و16.4%و14.2%على التوالي للجبن المنتَج بالمنفحة التقليدية، وهي متقاربة قليلا مع نسبة الرطوبة والبروتين والدهن للجبن المنتج بالبيسين المرتبط على الغشاء المبطّن للقانصة والتي بلغت 61.8% و15.9% و14.4% على التوالي، إذ لوحظ عدم وجود فروقات معنوية في نسبة الرطوبة والدهن عند مستوى ($P\leq0.0$).

الجدول 3. المحتوى الكيميائي والتصافي للجبن المنتج باستعمال المنفحة التقليدية والبيسين المرتبط والبيسين المستخلص

الجبن المنتج بواسطة	المحتويات					
	الرطوبة الكلية ٪	البروتين ٪	الدهن ٪	الحموضة الكلية ٪	الرقم الهيدروجيني	التصافي ٪
المنفحة التقليدية	61.5^{a}	16.4^{b}	14.2^{b}	0.17^{a}	6.6^{a}	17.3^{b}
البيسين المرتبط بغشاء القانصة	61.8^{a}	15.9^{a}	14.4^{b}	0.17^{a}	6.5^{a}	16.9^{b}
البيسين المستخلص	62.3^{b}	15.7^{a}	14.2^{a}	0.17^{a}	6.5^{a}	16.5^{a}

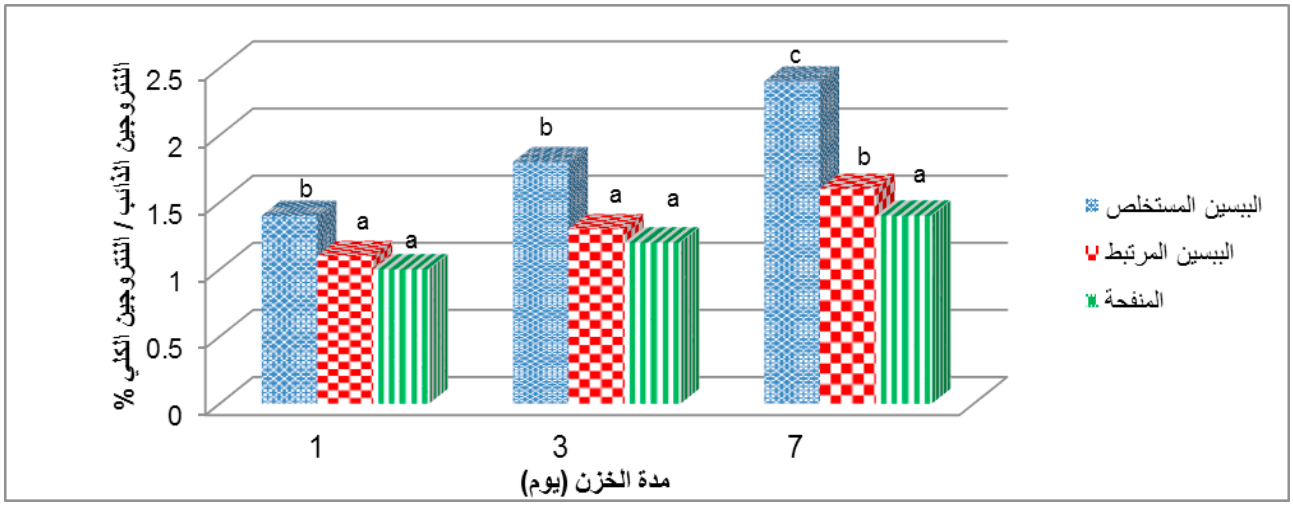
*** الحروف المختلفة في العمود تشير إلى وجود فرق معنوي عند مستوى ثقة ($P\leq0.05$)**

ولكن وجود فروقات معنوية عند مستوى ثقة ($P\leq0.05$) لنسبة الرطوبة والبروتين والدهن للجبن المنتج بالبيسين المستخلص التي كانت 62.3 % و15.7% و 14.2% على التوالي، وهذا انعكس على نسبة التصافي لأنواع الجبن المنتج إذ لوحظ عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ثقة ($P\leq0.05$) لتصافي الجبن المنتَج بالمنفحة التقليدية 17.3% مع تصافي الجبن المنتج بالأنزيم المرتبط بالغشاء المبطّن للقانصة 16.9 %، في حين وجد فرق معنوي مع تصافي الجبن المنتج بالأنزيم المستخلص 16.5%، وقد يعود سبب الاختلاف إلى أنّ المنفحة التقليدية والبيسين المرتبط على الغشاء المبطّن للقانصة أكثر احتفاظا بالدهن، بسبب تماسك الخثرة من بالبيسين المستخلص من الغشاء المبطن للقانصة. إذ لوحظ ارتفاع نسبة الدهن والبروتين في الشرش الناتج من الجبن المصنع بالبيسين المستخلص 0.28 و 0.96 % على التوالي، وانخفاضها في الشرش الناتج من الجبن المنتج بالبيسين المرتبط على الغشاء المبطّن للقانصة (0.17 و 0.91) % على التوالي، مقارنةً بنسبتهما في الشرش المصنّع من الجبن المصنّع بالمنفحة التقليدية 0.15 و 0.88 % على التوالي.

نسبة النتروجين الذائب إلى النتروجين الكلي:

يوضّح الشكل (4) زيادة النسبة المئوية للنتروجين الذائب الى النتروجين الكلي في النماذج الثلاثة مع تقدّم فترة الخزن، مع ملاحظة زيادة النسبة للجبن المنتج بالبيسين المستخلص مقارنةً بالجبن المنتج بالبيسين المرتبط، والمنفحة التقليدية، وخصوصاً عند اليوم الثالث والسابع للخزن، إذ كانت (1.3،1.8 و1.2) % على التوالي لليوم الثالث و (1.6،2.4 و1.4)% على التوالي لليوم السابع، حيث لوحظ عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى ثقة ($p\leq0.05$) للنسبة المئوية للنتروجين الذائب إلى النتروجين الكلي بين المنفحة التقليدية والبيسين المرتبط على الغشاء المبطّن للقانصة في اليوم الأول والثالث،

ووجود فروقات معنويّة مع البيسين المستخلص، ولكن لوحظ وجود فروقات معنويّة عند مستوى ($p\leq0.05$) للنسبة المئوية للنتروجين الذائب إلى النتروجين الكلّي في الأنزيمات الثلاثة عند اليوم السابع من الخزن، إنّ زيادة النسبة المئوية للنتروجين الذائب الى النتروجين الكلي في الجبن المنتج بالبسين الحر خلال فترة الخزن كان بسبب زيادة تحلل بروتين الجبن وذلك نتيجة لزيادة كميّة الأنزيم المتخلفة في الجبن المنتج رغم الخزن بدرجة حرارة الثلاجة وتركيز ملحي 4%، أمّا انخفاض هذه النسبة فهذا يُعزى إلى انخفاض تحلل البروتين في الجبن المنتَج بواسطة البيسين المرتبط والمنفحة التقليدية وبالتالي سوف ينعكس ايجاباً على الصفات الحسيّة للجبن خلال مدّة الخزن.



* الحروف المختلفة في اليوم الواحد تشير إلى وجود فرق معنوي عند مستوى ثقة ($P\leq0.05$)

الشكل 4. النسبة المئوية للنتروجين الذائب/النتروجين الكلي للجبن المنتج باستعمال المنفحة والبيسين المرتبط والبيسين المستخلص لمدة خزن 7أيام في درجة حرارة 5 °م

وتُعدّ النسبة المئوية للنتروجين الذائب إلى النتروجين الكلي من المعايير التي يعتمد عليها في معرفة تأثير المخثّرات في نوعيّة الجبن، ولاسيما خلال فترة الخزن والإنضاج، وإنّ الغاية من تقدير هذه النسبة هي معرفة فعاليّة الأنزيم في تحلل البروتين (الطويل، 2000).

التقييم الحسّي للجبن المنتج:

يبيّن الجدول (4) نتائج معدّل التقييم الحسّي لكلٍّ من الجبن المنتَج باستعمال المنفحة والبسين المرتبط والبيسين المستخلص والمخزنة لمدة 7-1 أيام وفي درجة حرارة 4 °م، وقد اتّصف الجبن بنكهةٍ جيدة خالية من أي طعوم غريبة إذ لم يُلاحظ أي مرارة في المنتج خلال اليوم الأول للخزن، بينما وجد تباين كبير للصفات الحسيّة للجبن المنتَج بالبيسين المستخلص مقارنةً بالبيسين المرتبط والمنفحة التقليدية، ويعود هذا التباين الكبير إلى الزيادة في تحلّل الكازئين بفعل البيسين الحر الذي يمتلك فعاليّة تحللية مقارنةً بالبيسين المرتبط والمنفحة التقليدية ممّا زاد من الطعم المر وكذلك قوام الجبن الذي يتأثر بتحلل الكازيئنات والدهن (Davis, 1965).

الجدول 4. نتائج معدل التقييم الحسي للجبن المنتج باستعمال المنفحة والبيسين المرتبط والبيسين المستخلص

نوع المخثر / الصفات	المنفحة التقليدية		البيسين المرتبط		البيسين المستخلص	
	اليوم الاول	اليوم السابع	اليوم الاول	اليوم السابع	اليوم الاول	اليوم السابع
النكهة	9	10	9	8	9	9
القوام	10	9	9	8	9	7
المرارة	10	9	10	9	10	6
التماسك	10	8	9	8	9	7
الثقوب	9	9	10	9	9	9
المجموع	48	45	47	42	46	36

الاستنتاجات:

من خلال النتائج المتحصّل عليها من الدّراسة يمكن الاستنتاج أنّ قانصة الدجاج مصدرٌ ممتاز للببسين سهل الاستخلاص، وأيضاً إمكانية استخدام الببسين المرتبط على الغشاء المبطّن لقانصة الدجاج مباشرة في صناعة الجبن الأبيض وبصفاتٍ ممتازة مقارنةً بالببسين المستخلص.

كلمة شكر:

أتقدّم بجزيل الشكر والإمتنان للأستاذ الدكتورة أم البشر حميد جابر، والدكتور خالد حسك عبد الحسن في قسم علوم الأغذية/ كلية الزراعة/ جامعة البصرة، لمساعدتهما لي في إكمال هذا البحث وإبداء ملاحظاتهما القيمة.

المراجع:

الحسني، ضياء حسن (2000). فسلجة الطيور الداجنة. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة بغداد. العراق. 476 ص

(Epinephelus coioidis Hamilton ,1822) في تصنيع الجبن الابيض الطري. مجلة أبحاث البصرة (38)3 : 81-72.

الطويل، سعد ضياء وديع ((2000. فصل وتنقية وتوصيف أنزيم البروتيز من أوارق نبات الديباج Calotropis procea واستخداماته التطبيقية. أطروحة ماجستير. كلية الزارعة، جامعة بغداد، العراق. 78 ص.

الموسوي، رجاء كاظم باقر(1996). تأثير تجزئة بعض الانزيمات المخثرة على المحتوى البروتيني للجبن الطري. أطروحة ماجستير، كلية الزارعة، جامعة البصرة. 69 ص.

اليونس، زينة كاظم عيسى (2011). استخلاص وتنقية أنزيم الببسين من معدة بعض الحيوانات وإمكانية ربطه واستعماله في الأنظمة الغذائية. أطروحة دكتوراه، كلية الزارعة، جامعة البصرة، العراق. 130 ص.

حمادي، دنيا سعد علي (2001). فصل وتنقية وتوصيف الببسين من معدة أسماك الجري Siluris. أطروحة ماجستير، جامعة بغداد، العراق. 85 ص.

سعيد، نعمة أحمد (1988). عزل ودارسة خواص الببسين من الاغنام المحلية. أطروحة ماجستير، كلية الزارعة، جامعة الموصل، العراق. 92 ص.

علي، لطفي عبدالمطلب ورياض محمد سليم (1983). صناعة الجبن والألبان المتخمرة. مطابع جامعة الموصل، العراق. 649 ص.

مجيد، غياث حميد وأميرة كاظم ناصر وعلي خضير الركابي (2007). استخلاص أنزيم الببسين الجملي واستخدامه في صناعة الجبن الأبيض الطري العراقي. مجلة البصرة 7(2): 98-86.

Barrett, A.J. (1980). In: Protein degradation in health and disease. (Eds., Evered, D.C. and Whelan, J.) Vol.4: 19- CIBA Foundation symposia. Excerpta Medica.

Benjakul, S.; S. Klomklao; and B.K. Simpson (2010). Enzymes in fish processing. In Enzymes in Food Technology (2nd ed), Whitehurst R. J., Van Oort M., Eds. Blackwell Publishing, Chichester: 211- 225.

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal. Biochem. 72(1-2):248-254.

Corrons, M.A.; J.I. Bertucci; C.S. Liggieri; L.M.I. López and M.A. Bruno (2012). Milk clotting activity and production of bioactive peptides from whey using Maclura pomifera proteases. LWT - Food Sci. Technol., 47: 103- 109.

Davis, J.G. (1965). Cheese basic technology. Vol. 1. Ist ed. J. and Churchill, Ltd. London, UK.

Gordin, A.; and A. Rosenthal (1977). Effect of chicken pepsin as milk clotting enzyme. J. food protection. 41: 684- 688.

Gorgas, F.J.S. (2009). Dental medicine. A manual of dental material medica and therapeutics, Nabu Press, Washington, 48 -50.

Green, M.L. (1972). Assessment of swine, bovine and chicken pepsins as rennet substitute for cheddar cheese-making. J. dairy Res., 39: 261- 273.

Guinee, T.P.; and M.G. Wilkinson (1992). Rennet coagulation and coagulants in cheese manufacture. International Journal of Dairy Technology. 45 (4): 94– 104.

Kawai, M. and N. Mukai (1970). Studies on milk-clotting enzymes produced by Basidomycetes. part1- screening tests of Basidomycetes for the production of milk-clotting enzymes. Agric. Biol. Chem., 34(1): 159- 163.

Kosikowski, F. (1982). Cheese and fermented milk food, 2nd ed P . Ed., New York, USA.

Ling, E.R.A (1963). Text-book of dairy chemistry. vol. 2. Practical, 3rd P Ed. Chapman and Hall Ltd. London. UK.

Nalinanon, S.; S. Benjakul; and H. Kishimura (2010). Biochemical properties of pepsinogen and pepsin from the stomach of albacore tuna (Thunnus alalunga). Food Chem 121: 49- 55.

Nelson, I.A. and G.M. Trout (1965). Judging dairy products. The Olsen Publishing Co. Mil Wankees, Wis., 53212 USA.

Temiz, H.; U. Akut; E. Okumus; and S. Turhan (2007). The partial purification and properties of pepsin obtained from turkey proventriculus. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 12: 450 - 456.

Temiz, H.; E. Okumus; U. Aykut; M. Dervisoglu; and F. Yazici (2008). Partial purification of pepsin from turkey proventriculus. World J. Microbiol. Biotechnol. 24(9): 1851 – 1855.

Walsh, C. (1979). Enzymatic Reaction Mechanisms. W. H. Freeman and company. Sanfrancisco.

Witaker, J. R. (1958). Properties of the Proteolytic enzymes of commercial ficin. J. Food Research, 22: 483- 493.

Utilization Chicken Gizzard Lining Immobilized Pepsin for Soft White Cheese Manufacture

Mohammed Zyarah Eskander*(1)

(1). Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Basra University, Basra, Iraq.
(*Corresponding author: Dr. Mohammed Eskander. E-Mail: mohamed_alklom@yahoo.com).

Received: 19/08/2017 Accepted: 03/10/2017

Abstract

The study included the extraction of pepsin EC: 3.4.23.1 chicken gizzard lining type Broiler, using extraction solution (4% boric acid, 0.5% sodium benzoate and pH 5.6) at a rate of 4:100 (w/v). Enzyme was precipitated with ammonium sulphate at 20- 60% saturation. The proteolytic activity and milk-clotting activity of pepsin were 23.786, 2.653 (units/ml) respectively, and the rate of (milk-clotting activity/ proteolytic activity) was 8.965. The effects of pH and temperature on the milk-clotting activity were also evaluate. The extracted pepsin showed the highest milk-clotting activity at pH 5 and 50 ºC. The results indicated that milk-clotting activity decreased with the increment in NaCl concentration. The partially purified and chicken gizzard lining immobilized pepsin were utilized in soft cheese manufacture and compared with calf rennet, the results showed an increase in the percentage of soluble nitrogen/total nitrogen in the partially purified pepsin cheese, compared to the immobilized pepsin and calf rennet during the storage periods of 1, 3 and 7 days at 5 º C. Also, the results of the chemical composition and sensory evaluation of cheese produced by the immobilized pepsin was compatible with calf rennet.

Key words: Pepsin, Chicken gizzard, Milk-clotting activity, Soft white cheese.