استخدام بروتييز الديباج *Calotropis procera* كبديل جزئي للمنفحة الميكروبية في صناعة جبن التشدر Cheddar Cheese

شيماء رفعت العاني خالدة عبد الرحمن شاكر عامر حميد الدهان

الملخص

تضمنت الدراسة الحالية استخلاص انزيم البروتييز من أوراق نبات الديباج ***Calotropis procera*** واستعماله في تصنيع جبن التشدر كبديل جزئي عن المنفحة المايكروبية المستعملة في تصنيع الأجبان وبنسب **25**، **50**، **75%** وأعطيت الرموز **T2**،**T3**،**T4** للمعاملات. استخلص البروتييز باستعمال محلول كلوريد الصوديوم بتركيز **6%** يحتوي على حامض البوريك بتركيز **2%**. ركز المستخلص الانزيمي الخام بطريقة الترسيب بكبريتات الامونيوم ثم اجريت خطوة التنافذ الغشائي (الديلزة). جفد الأنزيم وقدرت فيه كل من الفعالية التخثرية والتحللية إذ بلغتا **18.4** و**181.24** وحدة/مل على التتابع. وقورنت النتائج المستحصلة التي سجلتها المعاملات المصنعة مع تلك التي سجلتها المعاملة المصنعة باستعمال المنفحة المايكروبية وباتباع الطريقة التقليدية (**T1**). سجلت المعاملات حدوث تغيرات في التركيب الكيميائي إذ لوحظ انخفاض في نسبة الرطوبة والرقم الهيدروجيني في حين ارتفعت نسب البروتين والدهن والملح والحموضة ودرجة حموضة الدهن للمعاملات أعلاه وبتقدم مدة الانضاج. كما ارتفعت النسبة المئوية للنتروجين الذائب والنتروجين غير البروتيني لنماذج الجبن المعاملة بالانزيم اذ كان الارتفاع في تناسب طردي مع تقدم مدة الانضاج ومع نسبة الاستبدال. وكانت عدد الحزم البروتينية الناتجة عند اجراء الترحيل الكهربائي لنماذج الجبن المعاملة بالانزيم اكثر من تلك الموجودة في جبن المقارنة اذ لوحظ زيادة عدد الحزم مع زيادة نسبة الاستبدال ومع تقدم مدة الانضاج. كان عدد بكتريا القولون وعدد الخمائر والاعفان وعدد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية ***Staphylococcus aureus*** للمعاملات في نهاية مدة الانضاج والبالغة **120** يوماً أقل بالمقارنة مع جبن المقارنة. دلت نتائج التقويم الحسي على إحتفاظ الأجبان الناتجة بصفاتها الحسية اذ ظهرت النكهة واضحة للمعاملتين**T3** و**T4** بعد **60** يوماً من الانضاج لجبن التشدر المضاف إليه بروتييز الديباج بنسبة **50** و**75%** بينما أظهرت معاملة المقارنة **T1** لجبن التشدر المصنع بإستعمال المنفحة التقليدية النكهة المرغوبة بعد **120** يوماً من الانضاج.

المقدمة

تعد الاجبان من اكثر منتجات الالبان انتشاراً في العالم نظراً لتعدد انواعها وكونها غذاءً مهماً للانسان فضلاً عن إمكانية نقلها وخزنها وقد بلغ الانتاج العالمي منها لعام **1999** ما يقارب **15379 000** طن. وكان نصيب العراق منه **28000** طن (**23**) وتصنف الأجبان استناداً إلى محتوى الرطوبة فيها إلى طرية ونصف جافة وجافة وجافة جدا. ونتيجة لتزايد الطلب على الاجبان في العالم ظهرت الحاجة الى استعمال بدائل للمنفحة تتميز بكونها آمنة في الاستعمال ومتوفرة ورخيصة الثمن أما من مصادر حيوانية او مايكروبية اونباتية ويعاب على الانزيمات من المصادر النباتية ارتفاع فعاليتها التحللية التي تؤدي الى ظهور الطعم المر في الجبن في مراحل مبكرة، لذلك استخدمت كبدائل جزئية في صناعة الاجبان (**32**). وقع الاختيار في هذه الدراسة على بروتييز نبات الديباج المستعمل بكثرة في نيجريا في صناعة الجبن الطري الأفريقي (**Wara**) ما يتميز به من صفات اذ انه يعمل في مدى واسع من درجات حرارة وأرقام هيدروجينية، ولقد أشار الطويل (**9**) في دراسة الثبات الحراري للأنزيم ان الانزيم المستخلص من اوراق الديباج يحتفظ بمقدار

جزء من رسالة ماجستير للباحث الاول.

كلية الزراعة– جامعة بغداد –بغداد– العراق.

97% من الفعالية التخثرية عند حضنه في 35°م لمدة 30 دقيقة بينما يفقد الانزيم 53.1% من فعاليته عند حضنه في درجه 65°م وللمدة نفسها ويفقد كامل فعاليته في 70°م. و فيما يخص الفعالية التحللية للانزيم ذاته فلاحظ انه يحتفظ بمقدار 96%من فعاليته التحللية عند حضنه في درجة 35°م لمدة 30 دقيقة. ويفقد 89.49% من الفعالية لدى حضنه في 75°م لمدة 30 دقيقه وأصبحت الفعالية صفراً عند رفع درجة الحرارة الى 80م. كما أستعمل الإنزيم في صناعة الجبن الطري الأفريقي (Wara) وظل هذا الجبن محتفظاً بخواصه الحسية المثالية لمدة لا تقل عن 14 يوماً في الثلاجة في 7°م. وأشار الدجوي (6) أن الديباج يعد نباتاً صحراوياً يتحمل الجفاف والملوحة ، معمر قائم مستديم الخضرة كثير التفرع سريع النمو يصل إرتفاعه 2–4 م تحتوي أنسجته على العصارة اللبنية Latex وقد أستخدمت أجزاء النبات في المجالات الطبية بشكل واسع في مختلف دول العالم اذ استعملت العصارة اللبنية للنبات من قبل سكان الهند بعد خلطها مع نباتات اخرى كدواء مسهل وتعد الجذور دواء قيماً لامراض الجلد وكعلاج للديدان المعوية. بينما تحتوي الازهار فيها مادة مساعدة للهضم و تفيد كعلاج للمعدة وفي حالات السعال وداء الربو والنزلة التنفسية كما ينتشر النبات في اغلب دول العالم اذ ينمو في قارة آسيا وخاصة في اليمن والسعودية والاردن والكويت والهند وباكستان وافغانستان. وفي قارة افريقيا فهو منتشر في معظم بلدانها، كما يوجد في جنوبي امريكا واستراليا. أما في العراق فينتشر في المحافظات الوسطى والجنوبية خاصة في محافظات البصرة وذي قار وكربلاء وديالى والانبار.

لذلك فقد هدفت الدراسة الحالية الى الاستفادة من بروتييز هذا النبات في صناعة الاجبان وخاصة جبن التشدر وذلك باستعماله كبديل جزئي للمنفحة الميكروبية وتحديد أفضل نسبة إستبدال فضلاً عن دراسة الصفات الكيميائية والمايكروبية والحسية لجبن التشدر المصنع بإستخدام نسب إستبدال مختلفة من هذا الإنزيم ومقارنتها مع جبن المقارنة.

المواد وطرائق البحث

جمعت أوراق نبات الديباج الطرية من حديقة مركز إتصالات المأمون الكائنة في محافظة بغداد وتم غسلها بماء الحنفية للتخلص من الأتربة والأوساخ العالقة بها ثم غسلها بالماء المقطر لتحضيرها للإستعمال. تم إستخلاص بروتييز الديباج من أوراق نبات الديباج حسب ما جاء في Aworh وNakai (17) وذلك باستعمال محلول كلوريد الصوديوم بتركيز 6% ويحتوي على حامض البوريك بتركيز 2%. ركز المستخلص الانزيمي الخام بطريقة الترسيب بكبريتات الامونيوم ثم خطوة التنافذ الغشائي (الديلزة)، وأجريت عملية تجفيد للمستخلص الانزيمي بجهاز المجفد Freeze dryer والمجهز من قبل شركة Eyela. وقدرت فيه كل من الفعالية التخثرية والتحللية حسب ما ورد في الطرائق المعتمدة (18،37) والتي كانتا بواقع 18.4 و181.24 وحدة/مل بالتتابع. إستعمل حليب الأبقار الخام الكامل الدسم من معمل ألبان كلية الزراعة/جامعة بغداد المنتج في منطقة أبي غريب– محافظة بغداد بواقع 40 كغم والمنفحة المايكروبية المنتجة من شركة Meito Sangyo Co., Ltd. اليابانية. إستعملت سلالات من بكتريا *Lactococcus lactis* spp. *lactis* و*L. Lactis* spp. *cremoris* كبادئات. قسم الحليب إلى أربعة أقسام: القسم الأول استعمل في صناعة جبن التشدر بالطريقة التقليدية الموصوفة من قبل الدهان (5) ودعيت بالمعاملة T1 أما الكمية الباقية فقد استعملت في ثلاث معاملات في كل منها 10 كغم في صناعة جبن التشدر وأضيف اليه بروتييز الديباج بالنسب25 ,50,75% وهي المعاملات T4,T3,T2 على التتابع . تم حفظ الاجبان المصنعة بعد أن غلفت بشمع البارافين المنصهر في 118°م لمدة 5 ثوان في الثلاجة وتركت للإنضاج في درجة حرارة 8°م ولمدة 4 أشهر كما تم تقليبها في أثناء مدة الإنضاج وتم أخذ النماذج منها شهرياً لإجراء الفحوص الكيميائية اذ قدرت نسبة االرطوبة بحسب طريقة Joslyn (25) والمعدلة من قبل Egan وجماعته (22) ونسبة الدهن بالطريقة المذكورة في Eckles وجماعته (21) كما حسبت النسبة المئوية للدهن في المادة الجافة ونسبة البروتين بالطريقة التي وصفها Joslyn (25) باستعمال جهازي Buchi 430 و320 على التتابع .

كما قدرت النسبة المئوية للحموضة حسب الطريقة المذكورة في A.O.A.C.(15) والرقم الهيدروجيني كما في Ling (30) ونسبة الملح حسب ما جاء في New lander (34). قدرت درجة حموضة الدهن طبقاً لما ورد (BDI)(Bureau of Dairy Industry) كما أشار اليها Deeth وFitz-Gerald (20) وقدر النتروجين الذائب والنتروجين غير البروتيني بحسب الطريقة المذكورة في Ling (30) والمعدلة من قبل العواد (10). استعملت الهجرة الكهربائية gel – electrophoesis على هلام الأكريلامايد لمتابعة التحلل البروتيني في الأجبان بحسب طريقة Lammli (27).

اجريت الفحوص المايكروبايولوجية لجبن التشدر المنضج كما جاء في APHA (16) والتي شملت تقدير عدد بكتريا القولون باستعمال الوسط MacConkey Agar مع التحضين بدرجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة بعدها حسبت المستعمرات. وكذلك تقدير عدد الخمائر والاعفان باستعمال الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (PDA) وحضنت في 22°م لمدة 5 أيام واستخرج العدد بالغرام الواحد. فضلاً عن تقدير عدد بكتريا *Staphylococcus aureus* كما ذكر في المصدر أعلاه باستعمال الوسط Agar Staph .110 وحضنت الاطباق في 32°م لمدة يومين وحسبت عدد المستعمرات التي تحيطها هالة صفراء والتي تمثل مستعمرات بكتريا *S. aureus*. كما اجري التقويم الحسي للأجبان المصنعة من قبل خمسة مقومين في قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية– كلية الزراعة– جامعة بغداد ، وتضمنت الدرجات الممنوحة للصفات قيد التقويم في الإستمارة المعدة لهذا الغرض اللون والنكهة والقوام والتماسك والفتحات والمرارة وبواقع 0–10 أذ يمثل الصفر الحد الأدنى للصفة أما العشرة فتمثل الحد الأعلى للصفة على وفق ما جاء في استمارة التقويم الحسي المقترحة من قبل ال إيدام (1). تم إجراء تحليل التباين للتجارب العاملية بحسب التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (CRD) وكما جاء في الراوي وخلف الله (7) اذ حسب اقل فرق معنوي للمعاملة والأعمار والتداخل بمستوى احتمال 0.05 باستعمال برنامج التحليل الإحصائي SAS (36).

النتائج والمناقشة

يلاحظ من جدول (1) التركيب الكيميائي الإجمالي لجبن التشدر قيد الدراسة وللمعاملات الأربع (T1،T2،T3،T4) على التتابع على مدى مدة الانضاج البالغة 120 يوماً. اذ كانت نسبة الرطوبة في وقت الصفر للمعاملات الأربع 38.61،38.60،37.63 ،37.67% على التتابع. ويلاحظ من الجدول أنخفاض قيم المحتوى الرطوبي للمعاملات كافة مع تقدم مدة الإنضاج إذ أصبحت في نهاية مدة الإنضاج32.00، 31.00، 32.00،31.18% للمعاملات T1 ، T2 ، T3 وT4 على التتابع. وهذه القيم ضمن الحدود المسموح بها وفقاً لما جاء في المواصفة القياسية العراقية (2) ويرجع سبب الانخفاض إلى تبخر جزء من الرطوبة في أثناء الخزن وجاءت هذه النتائج متفقة مع دراسات سابقة (4،8). كما أظهرت نتائج الجدول ذاته نسبة الدهن فكانت للمدة بين بداية ونهاية مدة الانضاج للمعاملات الأربعة 27.00–34.00، 28.50–35.00، 29.00–36.00، 28.00–34.00% للمعاملات T1، T2، T3وT4 على التتابع. ويلاحظ إرتفاع محتوى الدهن وتفاوتها بتقدم مدة الانضاج. ويعزى سبب التفاوت في القيم إلى إختلاف المحتوى الرطوبي بين المعاملات وكذلك الى الاختلاف في النسبة المئوية للدهن في الحليب الخام المستعمل في التصنيع او اتباع طرائق مختلفة في التصنيع مثل طريقة تقطيع الخثرة والطبخ والتحريك وإزالة الشرش مما يسبب اختلافاً في كمية الدهن المفقود عند التصنيع ولدى مقارنة هذه النتائج مع ما وجده باحثون آخرون يلاحظ انها تتفق مع ما وجد في دراسات سابقة (12،14،31) بالنسبة لتأثير البروتييزات الميكروبية في نسبة الدهن خلال مرحلة الإنضاج. كما حسبت النسبة المئوية للدهن في المادة الجافة Fat in Dry Matter (FDM) وكانت القيم للمعاملات في بداية

الإنضاج 44.92،46.49،46.41،43.98%. اما في نهاية الانضاج فكانت 50.72،50.00، 52.31، 50.00% للمعاملات T1 وT2 وT3 وT4 على التتابع. أما نسبة البروتين في جبن التشدر المنضج للمعاملات الأربع فكانت في وقت الصفر 25.53، 26.24، 27.26، 29.06% على التتابع، في حين بلغت تلك القيم بعد 120 يوماً من الانضاج 26.22، 27.05، 27.50، 29.53%على التتابع. وتتفق هذه النتائج مع ما وجد سابقاً (8،12) من اختلاف نسبة البروتين بين المعاملات بسبب اختلاف قيم المحتوى الرطوبي والى تفاوت كمية البروتين المفقود مع الشرش في اثناء خطوات التصنيع. وفيما يتعلق بنسبة الملح فوجد فيها اختلاف بسيط في نسبة الملح وللمعاملات المختلفة سببه الاختلاف في المحتوى الرطوبي باختلاف المعاملات وكذلك سمك وحجم القوالب للاجبان الناتجة وكانت القيم للمدة ما بين وقت الصفر ونهاية الإنضاج بواقع 2.30–2.93، 2.20–2.98، 2.30–3.04، 2.34–3.06% للمعاملات T1 وT2 وT3 وT4 على التتابع. ويلاحظ أن القيم متقاربة ولا يوجد تفاوت كبير فيما بينها ويلاحظ زيادتها بتقدم مدة الانضاج. كما حسبت النسبة المئوية للملح في الرطوبة خلال مراحل الإنضاج اذ كانت القيم للمدة من الوقت صفر وحتى نهاية الانضاج وكانت القيم للمعاملات في بداية الانضاج 5.95–9.12، 5.69– 9.61 ،6.11–9.74 ،6.24–9.56% للمعاملات المذكورة أعلاه على التتابع. كانت نسبة الحموضة للمعاملات كافة مرتفعة كما يلاحظ من الجدول أنها كانت للمدة بين بداية ونهاية الإنضاج ما بين 0.48–0.65% للمعاملة T1 و0.49–0.68% للمعاملة T2 و0.56–0.80% للمعاملة T3 و0.59–0.82% للمعاملة T4. وهذه النتائج جاءت متفقة مع ما وجد سابقاً (4،12) من ارتفاع نسبة الحموضة في جبن التشدر بتقدم عمر الانضاج. ومن الطبيعي ان تزداد نسبة الحموضة بتقدم عملية الإنضاج بسبب تحول سكر اللاكتوز المتبقي في الجبن إلى حامض اللاكتيك بفعل عملية التخمر اللاكتيكي بوساطة بكتريا البادىء ويتفق هذا مع ما وجد سابقاً(1،11،35) من ارتفاع نسبة الحموضة بتقدم الإنضاج.

أما الرقم الهيدروجيني (pH) فكان منخفضاً لجبن التشدر المنضج ولجميع المعاملات اذ كان عند وقت الصفر ونهاية مدة الانضاج 5.35–5.65، 5.34–5.64، 5.28–5.63، 5.27–5.60على التتابع. ويرجع سبب هذا الانخفاض الى تحول سكر اللاكتوز المتبقي في الجبن إلى حامض اللاكتيك اذ ان الرقم الهيدروجيني استمر بالانخفاض وكان هذا الانخفاض على أقصاه خلال 30 و60 يوماً من الانضاج ثم اخذ يسير بشكل بطيء خلال 90 و120 يوماً من الانضاج وهذه النتيجة تتفق مع ما وجد في دراسات سابقة (11، 12 ،35).

كانت قيم درجة حموضة الدهن كما هي مبينة في جدول 2 للمدة ما بين وقت الصفر ونهاية الانضاج ولجميع المعاملات 1.24–4.28 ،1.58–1.66،5.68–6.36 ،1.80–6.94 ملي مكافئ/100 غم دهن للمعاملات T1 ، T2 ، T3 وT4 على التتابع. تعد الحوامض الدهنية الحرة من النواتج المهمة في اثناء الانضاج والتي عند وصولها إلى تراكيز معينة تضفي على الجبن صفات الطعم والنكهة المرغوبين ولاسيما الحوامض الدهنية القصيرة السلسلة وعند مقارنة النتائج نجد أنها تتفق ما وجد سابقاً (4، 11، 35) من زيادة قيم ADV بتقدم مدة الإنضاج لوجود انزيم اللايبيز مرافقاً لانزيم البروتييز المستخلص من اوراق نبات الديباج فضلاً عن وجوده في دهن الحليب مما يسبب ظهور نكهة جبن التشدر المرغوبة.

أظهرت نتائج جدول (3) أعداد بكتريا القولون وعدد الخمائر والاعفان وبكتريا المكورات العنقوديه الذهبيه *Staphylococcus aureus* لمعاملات جبن التشدر باستعمال بروتييز الديباج والمصنع قيد الدراسة اذ لم توجد فروق كبيرة في أعداد بكتريا القولون و كانت في بداية الانضاج بالنسبة للمعاملات T1 ، T2 ، T3 وT4 بالتتابع بواقع 51 × 10^2 ، 49 × 10^2 ، 48 × 10^2 ، 47 × 10^2 g/cfu على التتابع. وجاءت هذه النتائج متفقه مع ما ذكر سابقاً (13،31،33). كما إن المعاملات لم يحدث فيها تلوث بالخمائر والاعفان اذ بلغت بين بداية ونهاية الإنضاج بحدود (10>) وللمعاملات كافة. وكان هذا ضمن الحد المسموح به للاجبان المنضجة (3). ويتبين من الجدول ذاته قيم

المعاملات إذ تراوحت القيم بين 0-30 g/cfu ، وهذه النتائج جاءت مطابقة لما تم ذكر سابقاً (3) والتي صنفت الجبن في حالة احتوائه على أعداد بكتريا المكورات العنقودية الذهبية والتي لا تظهر تغييرات واضحة في النكهة والطعم والمظهر الخارجي حتى عندما توجد بعدة ملايين في الغرام الواحد لحد 100 g/cfu ضمن الاجبان الجيدة ولحد 1000 g/cfu للاجبان المقبولة.

جدول 1: التركيب الكيميائي الإجمالي لجبن التشدر المنضج المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الدبباج*

التركيب الكيميائي	المعاملات	عمر الجبن المنضج بالاشهر				
		0	1	2	3	4
الرطوبة (%)	T1	38.61	36.30	35.00	34.94	32.00
	T2	38.60	36.62	34.31	33.12	31.00
	T3	37.63	35.70	33.31	32.67	31.18
	T4	37.67	35.66	33.00	32.54	32.00
الدهن (%)	T1	27.00	29.50	31.00	32.00	34.00
	T2	28.50	30.00	32.00	33.50	35.00
	T3	29.00	31.00	33.50	35.00	36.00
	T4	28.00	29.50	31.00	32.00	34.00
الدهن في المادة الجافة (%)	T1	43.98	46.31	47.69	49.18	50.00
	T2	46.41	47.33	48.71	50.08	50.72
	T3	46.49	48.21	50.23	51.98	52.31
	T4	44.92	45.85	46.26	47.43	50.00
البروتين (%) 6.25×N	T1	25.53	25.61	25.70	25.85	26.22
	T2	26.24	26.38	26.79	26.73	27.05
	T3	27.26	27.29	27.36	27.45	27.50
	T4	29.06	29.18	29.32	29.41	29.53
الملح(%)	T1	2.30	2.41	2.54	2.77	2.92
	T2	2.20	2.43	2.56	2.77	2.98
	T3	2.30	2.46	2.63	2.85	3.04
	T4	2.34	2.45	2.67	2.83	3.06
الملح في الرطوبة (%)	T1	5.95	6.63	7.25	7.92	9.12
	T2	5.69	6.38	7.46	8.36	9.61
	T3	6.11	6.89	7.89	8.72	9.74
	T4	6.24	6.87	8.09	8.69	9.56
الحموضة (%)	T1	0.48	0.52	0.56	0.60	0.65
	T2	0.49	0.53	0.59	0.63	0.68
	T3	0.56	0.63	0.69	0.74	0.80
	T4	0.59	0.64	0.70	0.75	0.82
الرقم الهيدروجيني (pH)	T1	5.65	5.49	5.40	5.37	5.35
	T2	5.64	5.55	5.48	5.42	5.34
	T3	5.63	5.57	5.40	5.34	5.28
	T4	5.60	5.53	5.46	5.33	5.27

*الارقام في الجدول تمثل معدلاً لثلاثة مكررات.

T1 = جبن المقارنة. T2= اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.

T3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة. T4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

جدول 2:درجة حموضة الدهن (ADV) لجبن التشدر المنضج المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الدبياج *

المعاملة	درجة حموضة الدهن (ADV) ملي مكافئ/100 غم دهن				
	عمر الجبن المنضج بالأشهر				
	0	1	2	3	4
T1	1.24	1.94	2.12	3.98	4.28
T2	1.58	1.97	2.78	4.83	5.68
T3	1.66	2.75	3.35	5.34	6.36
T4	1.80	2.70	3.54	4.45	6.94

*الارقام في الجدول تمثل معدلاً لثلاثة مكررات.

T1 = جبن المقارنة. T2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.

T3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة. T4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

يشير الجدولان (4و5) الى النسب المئوية للنتروجين الذائب والنتروجين غير البروتيني للاجبان المعاملة بالانزيم قيد الدراسة فضلاً عن جبن المقارنة إذ يلاحظ ارتفاع النسب المئوية بزيادة نسبة الإستبدال ويعزى ذلك إلى الفعالية التحللية العالية للانزيم قيد الدراسة والتي ادت إلى تحلل بروتين الجبن ومن ثم زيادة النتروجين الذائب والنتروجين غير البروتيني وكانت هناك فروق معنوية في المعاملات ولمدة الانضاج وكذلك بين المعاملات ومدة الانضاج وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما وجد سابقاً (8،28) من ارتفاع النتروجين الذائب والنتروجين غير البروتيني عند معاملة الخثرة بالانزيمات الخارجية. وكذلك الحال بالنسبة للانزيمات المايكروبية فهي تؤدي إلى زيادة النسبة المئوية للنتروجين الذائب والنيتروجين غير البروتيني بتقدم مدة الانضاج، ويعزى إرتفاع النسب المئوية بتقدم مدة الإنضاج إلى فعل بروتييز الدبياج المستعمل كبديل جزئي يمتاز بفعاليته التحللية العالية قياساً. انزيمات البادئ في تحليل بروتينات الجبن . اذ كانت النسب المئوية للنتروجين الذائب في نهاية مدة الانضاج للمعاملاتT1 وT2 وT3 وT4 بواقع: 0.77، 0.89،1.03،1.05% على التتابع في حين كانت النسب المئوية للنتروجين غير البروتيني في نهاية مدة الانضاج وللمعاملات ذاتها :0.85،0.92 1.18،1.27% بالتتابع. وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما وجد سابقاً (1، 8،12) من ارتفاع النسبة المئوية للنتروجين الذائب والنتروجين غير البروتيني بتقدم مدة الانضاج.

جدول 3: الفحوص المايكروبية لجبن التشدر المنضج المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الدبياج (خلية/غم) *

المعاملة	بداية الانضاج (خلية/غم)			نهاية الانضاج(خلية/غم)		
	بكتريا القولون	عدد الخمائر والاعفان	بكتريا *S. aureus*	بكتريا القولون	عدد الخمائر والاعفان	بكتريا *S.aureus*
T1	$10^2 \times 51$	10 >	23	–	10 >	30
T2	$10^2 \times 49$	10 >	17	10 >	10 >	25
T3	$10^2 \times 48$	10 >	5	–	10 >	–
T4	$10^2 \times 47$	10 >	–	–	10 >	–

*الارقام في الجدول تمثل معدلاً لثلاثة مكررات.

T1 = جبن المقارنة . T2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.

T3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة. T4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

توضح الاشكال (1، 2، 3، 4، 5) نواتج تحلل البروتين لجبن التشدر المنضج المصنع من دون اضافة الانزيم قيد الدراسة (مسار P1) والمصنع باضافة الانزيم بنسبة استبدال 25% عن المنفحة (مسار P2) واضافة الانزيم بنسبة

استبدال 50% عن المنفحة (مسارP3) واضافة الانزيم بنسبة استبدال 75% عن المنفحة (مسار P4) في اثناء مدة الانضاج اذ يبدو التحلل البروتيني في جبن التشدر واضحا خلال مراحل الانضاج في المسارين P3 ،P4 والتي استعمل فيها بروتييز الدبياج بنسب استبدال 50 و75% عن المنفحة. بينت الأشكال السابقه ظهور حزم بطيئه الحركه من الكازينات قرب القطب السالب. أي في المنطقه العلوية حيث تظهر منطقة γ-casein. و ظهرت حزمه لبروتينات s- –αcasein التي تحركت بشكل أسرع و شكلت مساحه أكبر من بقيه الحزم التي ظهرت على أعمدة الفصل.

جدول 4:النسبة المئوية للنتروجين الذائب والنتروجين الذائب من النتروجين الكلي لجبن التشدر المنضج المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الدبياج *

المعاملة	عمر الجبن (يوم)	النتروجين الذائب (NPN) %		متوسط المعاملات	النتروجين الذائب /النتروجين الكلي (TN/NPN)%		متوسط المعاملات
T1	0	p	0.385	0.61	m	9.625	16.00
	30	j	0.56		i	14.88	
	60	gh	0.64		g	16.03	
	90	ef	0.70		e	18.53	
	120	e	0.77		c	21.00	
T2	0	mno	0.40	0.67	l	10.50	16.03
	30	m	0.48		j	13.71	
	60	j	0.56		g	16.00	
	90	gh	0.64		f	17.71	
	120	c	0.89		b	22.25	
T3	0	m	0.48	0.70	k	12.35	18.04
	30	jk	0.55		i	14.20	
	60	ghi	0.62		h	15.68	
	90	c	0.89		b	22.25	
	120	ab	1.03		b	22.75	
T4	0	mn	0.45	0.71	k	12.85	18.93
	30	jki	0.52		i	14.65	
	60	g	0.68		d	19.42	
	90	cd	0.86		c	21.57	
	120	a	1.05		a	26.25	
أقل فرق معنوي للمعاملات بمستوى إحتمال 0.05				0.0504			0.1254
اقل فرق معنوي للأعمار بمستوى احتمال 0.05				0.0398			0.0991
اقل فرق معنوي للتداخل بمستوى احتمال 0.05				0.1136			0.2804

*الارقام في الجدول تمثل معدلاً لثلاثة مكررات.

• الاحرف الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية إحصائياً بين المتوسطات عند مستوى (p<0.05) .

T1 = جبن المقارنة . T2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.

T3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة. T4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

ويلاحظ حدوث زيادة عدد حزم α–s-casein في المعاملات كافة بعد 60 يوماً لغاية 120 يوماً من عمر الانضاج وازداد هذا التأثير بازدياد نسبة الإستبدال وقد ازداد عدد الحزم التي تمثل بروتينات α–s-casein بزيادة تركيز الأنزيم المستعمل اذ تكون من حزمتين كبيرتين هما S1 وS2 اعقبتها بروتينات β-casein على هيئه حزمه كبيرة موجودة في اعمدة الفصل وللمسارات كافه، اذ تبين من الاشكال تحلل بروتينات β-casein بعد 60 يوماً من الانضاج وللمعاملات كافة واستمر التحلل حتى 120 يوماً من الانضاج وكما هو موضح في الأشكال ، وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما اشار اليه في دراسات سابقة (28،14،31) من ازدياد عدد حزم α–s-casein مع تقدم عمر الانضاج.

جدول 5: النسبة المئوية للنتروجين غير البروتيني(NPN) والنتروجين غير البروتيني إلى النتروجين الكلي (TN/NPN) لجبن التشدر المنضج المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الدبياج*

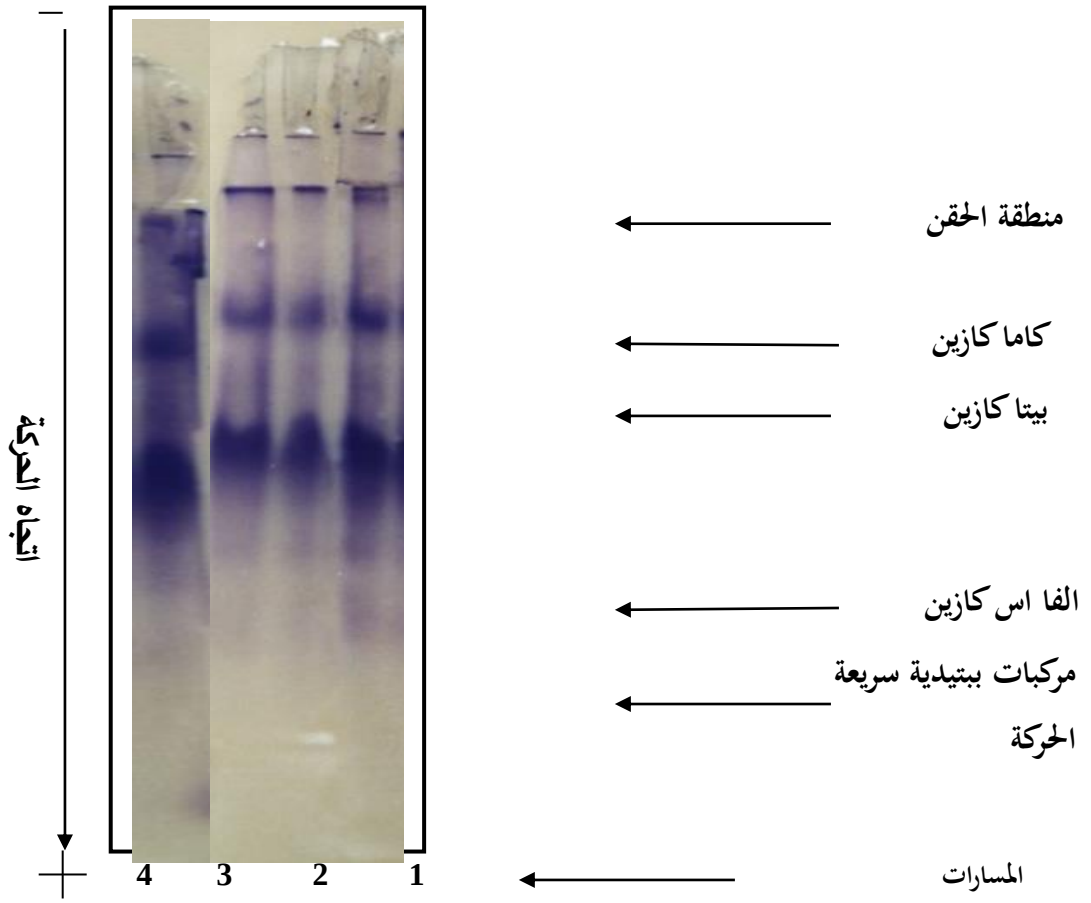
المعاملة	عمر الجبن (شهر)	النتروجين غير البروتيني (%)		متوسط المعاملات	النتروجين غير البروتيني / النتروجين الكلي (%)		متوسط المعاملات
T1	0	j	0.13	0.50	m	3.85	12.18
	1	h	0.37		jk	9.84	
	2	g	0.48		h	12.80	
	3	f	0.65		f	16.35	
	4	cd	0.85		d	21.25	
T2	0	j	0.15	0.47	m	3.98	11.97
	1	h	0.32		i	8.26	
	2	g	0.43		ij	10.75	
	3	f	0.63		fg	15.75	
	4	c	0.92		c	23.15	
T3	0	i	0.29	0.69	i	7.87	17.73
	1	g	0.47		hi	11.75	
	2	f	0.65		f	16.25	
	3	cd	0.88		c	23.15	
	4	ab	1.18		a	29.63	
T4	0	h	0.32	0.75	cd	8.20	19.09
	1	g	0.48		c	12.60	
	2	e	0.78		b	19.57	
	3	c	0.93		a	23.27	
	4	a	1.27		a	21.83	
اقل فرق معنوي للمعاملات بمستوى احتمال 0.05				0.054			0.6692
اقل فرق معنوي للأعمار بمستوى احتمال 0.05				0.0427			0.529
اقل فرق معنوي للتداخل بمستوى احتمال 0.05				0.1207			1.4963

*الارقام في الجدول تمثل معدلاً لثلاثة مكررات.

• الاحرف الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية إحصائياً بين المتوسطات عند مستوى (p<0.05) .

T1 = جبن المقارنة . T2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.

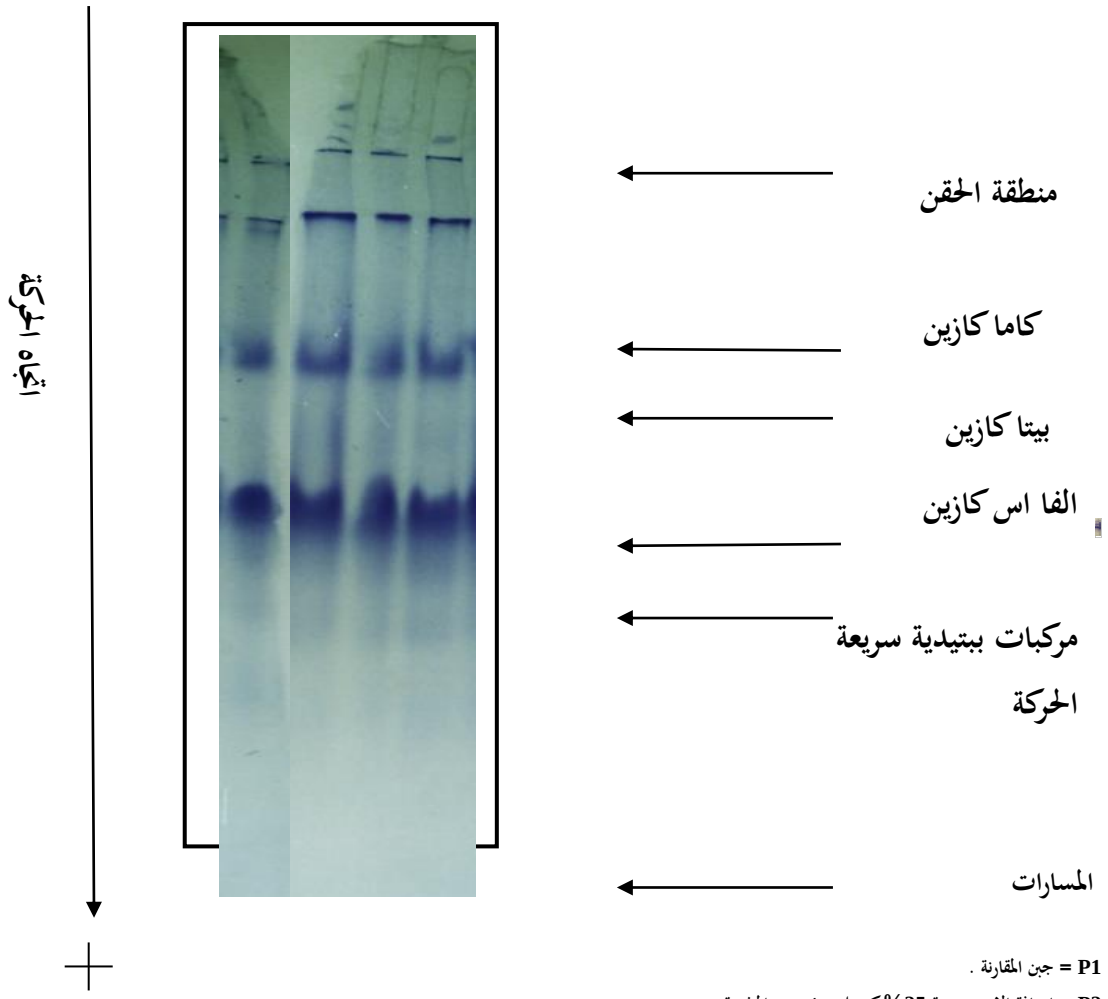
T3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة. T4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.



P1 = جبن المقارنة .
P2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.
P3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة.
P4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

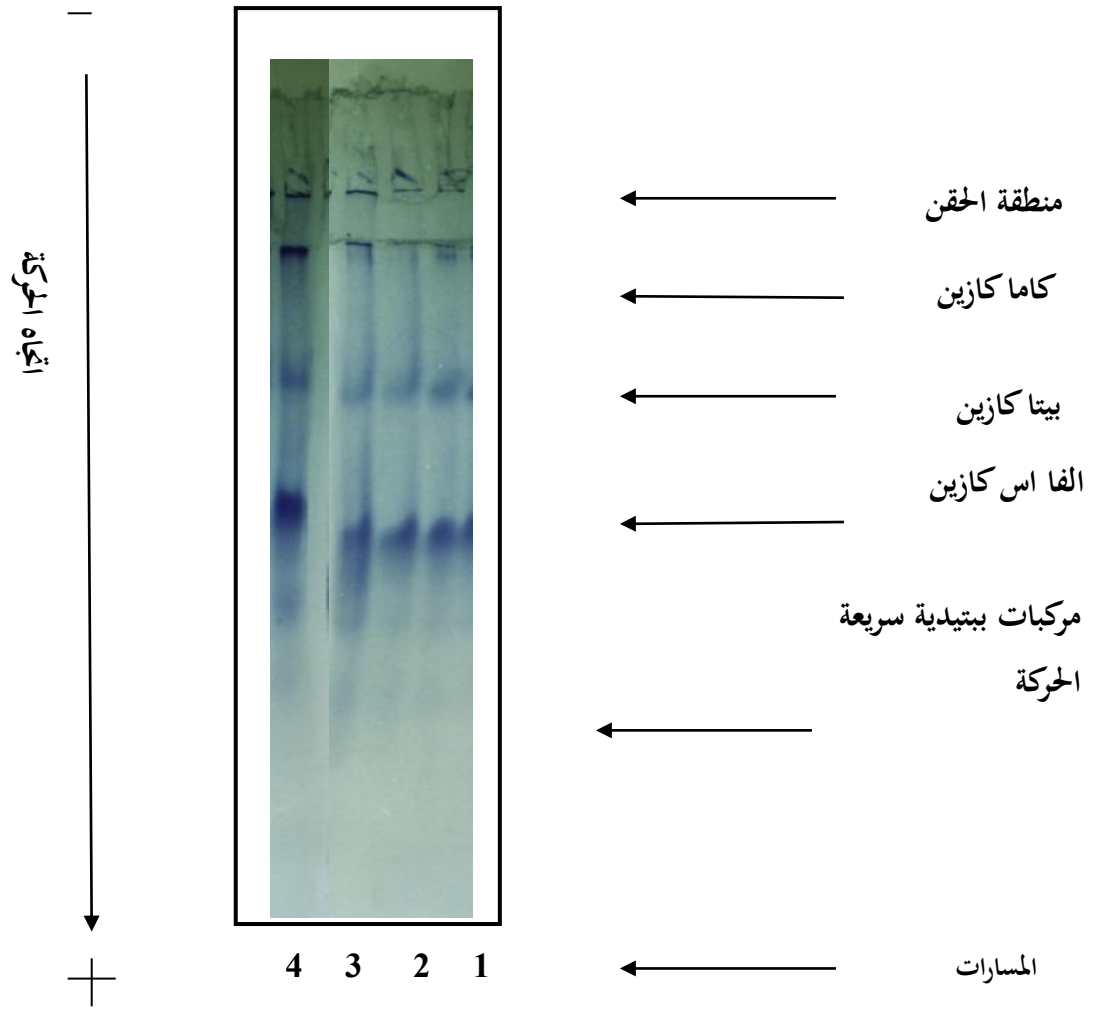
شكل 1: الهجرة الكهربائية على هلام متعدد الاكريلامايد لبروتينات جبن التشدر المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الدبياج في وقت الصفرعلى الانضاج.

تبين نتائج جدول (6) التقويم الحسي لجبن التشدر المنضج المنتج من المعاملات المختلفة بعمر 0 و30 و60 و90 و120 يوماً على الإنضاج إذ بين الجدول صفات اللون والنكهة والقوام والتماسك والفتحات والمرارة. وتبين نتائج الجدول ذاته عدم وجود فروق معنوية بين متوسطات الدرجات الممنوحة لصفة اللون إذ تراوحت متوسطات الدرجات الممنوحة بين 8.00 و10.00 للمعاملات كافة وفي أثناء مدة الإنضاج. ويوضح الجدول ذاته تفوق الدرجات الممنوحة لصفة النكهة في مراحل مبكرة من الإنضاج للمعاملات التي أضيف إليها الانزيم مع تميزها بالنكهة النظيفة الخالية من النكهة غير المرغوبة إذ منحت أعلى الدرجات لنكهة الجبن (T4) يعقبة الجبن (T3) اذ حصلت هذه المعاملات على النكهة المثالية بعد 60 يوماً على الإنضاج. وكان متوسط الدرجات للمعاملات (T2 وT3 وT4) بعد 30 يوماً على الإنضاج 7.40، 8.40، 8.20 على التتابع ولم يحصل جبن المقارنة على نكهة واضحة الا بعد مرور 120 يوماً على الانضاج، وجاءت هذه النتائج متفقة مع ما وجده Fox وWallace (24)، Kristofferson (26)، Law وجماعته (29).



شكل2: الهجرة الكهربائية على هلام متعدد الاكريلامايد لبروتينات جبن التشدر المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الديباج بعد 30 يوماً على الإنضاج.

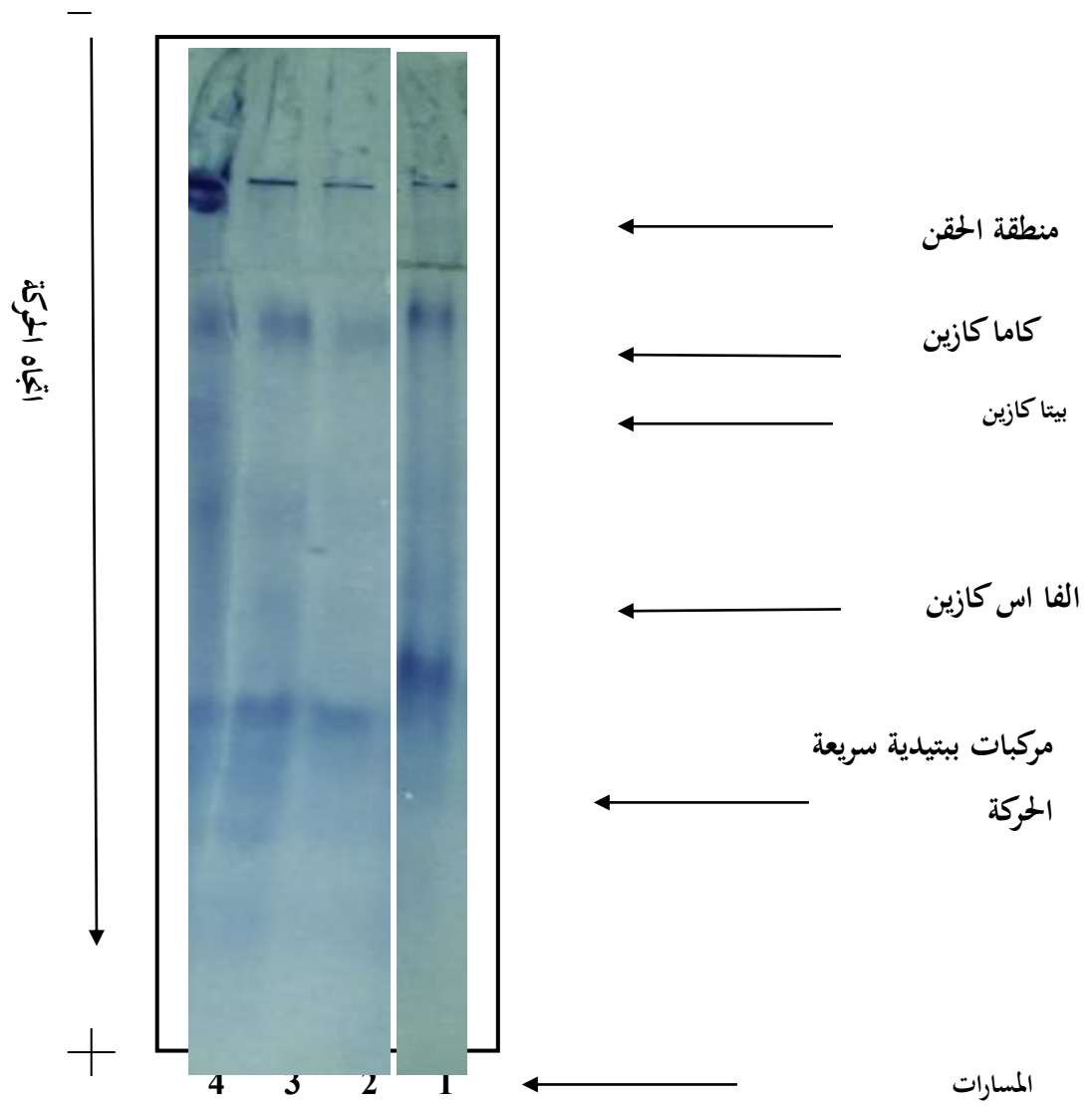
كما يتبين من الجدول ذاته ارتفاع الدرجات الممنوحة لصفة القوام بتقدم مدة الإنضاج ولجميع المعاملات ، وقد كان الارتفاع معنوياً على مستوى احتمال 0.05 وهذا يشير الى زيادة التحلل البروتيني الذي حدث في المعاملات المذكورة اعلاه. فقد ذكر Davis (19) ان صفة القوام تتأثر بتحليل الكازينات والدهن فضلاً عن التغيرات الفيزيائية التي يحدثها تغير الحموضة وتوزيع جزيئات الملح في الجبن. وفيما يتعلق بالتماسك فقد كانت متوسطات الدرجات الممنوحة للمعاملات كافة بين 7.50–10.00. ولوحظت فروق معنوية للمعاملات ولمدة الإنضاج على مستوى احتمال 0.05 وأوضح الجدول ذاته تراوح متوسطات الدرجات الممنوحة لصفة الفتحات ولجميع المعاملات منذ بداية الانضاج وحتى نهايته مما يدل على ان هذه الصفة كانت من الصفات الجيدة ولم يلاحظ وجود فروق معنوية على مستوى احتمال 0.05 بين القيم المعطاة اذ تراوحت متوسطات هذه الصفة بين 8.80 و 10.00 دلالة على التجانس في كبس الخثرة في اثناء التصنيع وعدم تكون فتحات ميكانيكية فضلاً عن الظروف الصحية المسيطر عليها ساهمت في تقليل التلوث بالبكتريا المنتجة للغازات مثل *E. coli*. ويتفق هذا مع ال إيدام (1) ، الشراجي (8).



P1 = جبن المقارنة .
P2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.
P3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة.
P4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

شكل 3: الهجرة الكهربائية على هلام متعدد الاكريلامايد لبروتينات جبن التشدر المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الديباج بعد 60 يوماً على الانضاج.

ويبين الجدول نفسه متوسطات الدرجات الممنوحة لصفة المرارة إذ تبين عدم ظهور الطعم المر في الاجبان المنتجة قيد الدراسة ولم يلاحظ وجود فروق معنوية على مستوى احتمال **0.05** بين القيم. وقد تراوحت متوسطات الدرجات الممنوحة لصفة المرارة بين **9.20–10.00**. ان الانزيمات المحللة للبروتين المفرزة من بكتريا البادئ او انزيمات المنفحة والتي تؤدي إلى تحلل البروتين إلى ببتيدات حاوية على واحد او اكثر من الحوامض الامينية الطرفية المرة التي هي السبب في تكون المرارة في الجبن ولذلك يظهر الطعم المر ويمكن إزالته بتحلل هذه الببتيدات.



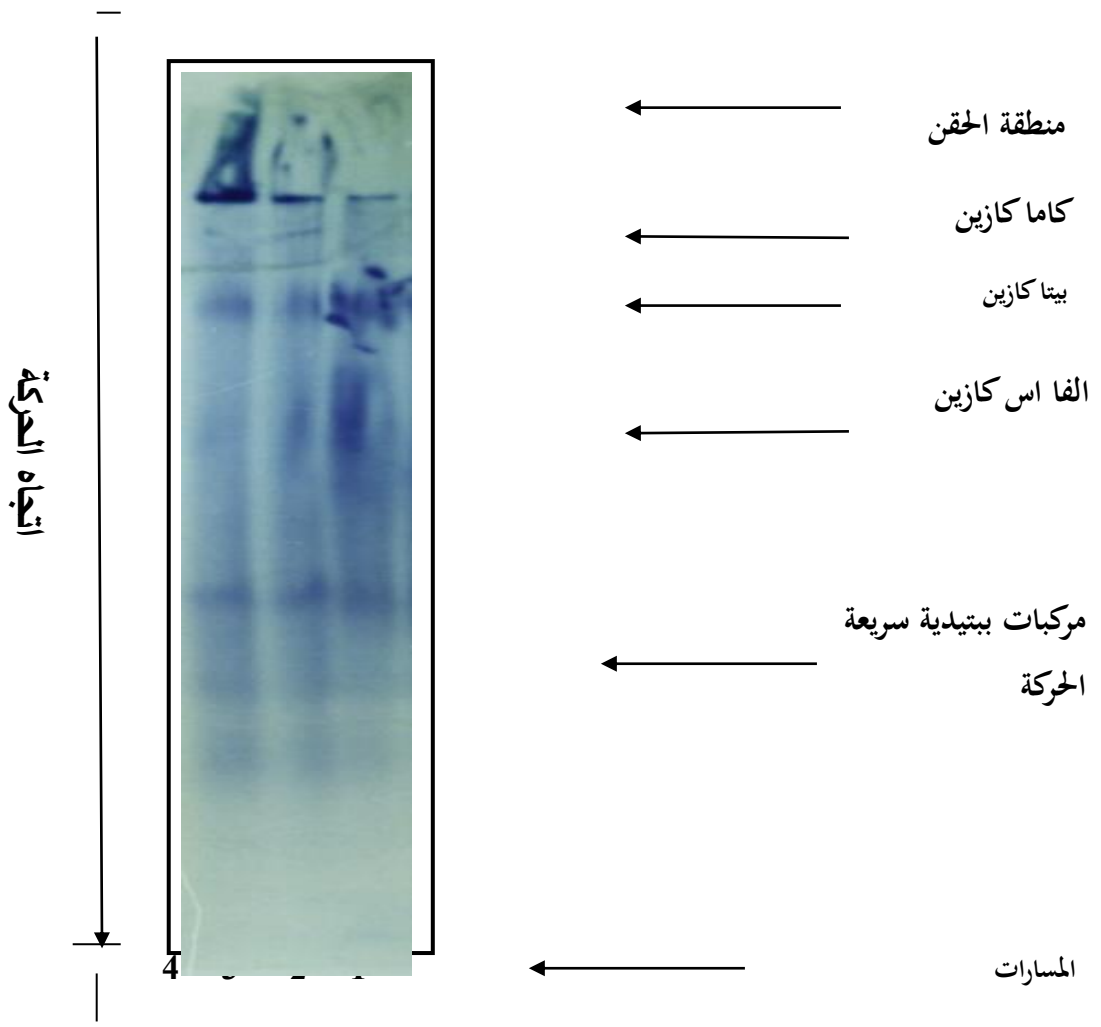
P1 = جبن المقارنة .

P2 = اضافة الانزيم بنسبة **25%** كبديل جزئي عن المنفحة.

P3 = اضافة الانزيم بنسبة **50%** كبديل جزئي عن المنفحة.

P4 = اضافة الانزيم بنسبة **75%** كبديل جزئي عن المنفحة.

شكل 4: الهجرة الكهربائية على هلام متعدد الاكريلامايد لبروتينات جبن التشدر المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الديباج بعد 90 يوماً على الانضاج.



P1 = جبن المقارنة .

P2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.

P3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة.

P4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

شكل 5: الهجرة الكهربائية على هلام متعدد الاكريلامايد لبروتينات جبن التشدر المصنع باستعمال نسب استبدال مختلفة من بروتييز الديباج بعد 120 يوماً على الانضاج.

جدول 6: التقويم الحسي لجبن التشدر المنضج المعامل بتراكيز مختلفة من بروتييز الدييباج في اثناء مدة الانضاج*

المعاملة	عمر الجبن (يوم)	اللون	النكهة	القوام	التماسك	الفتحات	المرارة
T1	0	fg 8.75	m 6.50	gh 8.25	i 7.50	i 8.40	g 9.20
	30	de 9.25	l 6.75	efg 8.75	hi 8.00	g 9.25	fg 9.25
	60	cde 9.40	k 7.25	bcde 9.20	fgh 8.40	fg 9.40	cd 9.60
	90	abcd 9.60	i 8.25	abcde 9.40	cdef 9.00	a 10.00	b 9.80
	120	abc 9.75	f 9.20	abc 9.50	abcd 9.40	a 10.00	a 10.00
T2	0	i 8.00	n 6.25	gh 8.25	de 9.60	de 9.60	a 10.00
	30	gh 8.60	k 7.40	efg 8.75	a 9.80	a 10.00	a 9.75
	60	cde 9.20	h 8.50	defg 8.80	a 9.85	a 10.00	a 10.00
	90	bcd 9.50	ef 9.40	abcde 9.40	a 10.00	a 10.00	a 10.00
	120	a 10.00	abc 9.80	abc 9.60	a 10.00	ab 9.95	a 10.00
T3	0	ghi 8.40	j 7.80	defg 9.20	defg 8.80	ef 9.50	ef 9.40
	30	def 9.20	hi 8.40	bcde 8.80	ab 9.75	cd 9.75	a 10.00
	60	abcd 9.60	de 9.50	abcde 9.40	a 10.00	a 9.95	a 10.00
	90	a 10.00	a 10.00	abc 9.60	ab 9.80	a 10.00	a 10.00
	120	a 10.00	a 10.00	ab 9.80	a 10.00	a 10.00	a 10.00
T4	0	fg 8.75	k 7.20	efg 8.75	defg 8.80	de 9.60	a 10.00
	30	abcd 9.60	i 8.20	bcde 9.25	cdef 9.00	a 10.00	a 10.00
	60	a 10.00	bc 9.75	abcd 9.45	abcd 9.40	ab 8.80	cd 9.20
	90	abc 9.85	a 10.00	abc 9.60	a 10.00	a 10.00	a 10.00
	120	a 10.00	a 10.00	ab 9.80	a 9.95	a 10.00	ab 9.85
اقل فرق معنوي للمعاملات بمستوى احتمال 0.05		0.2184	0.0913	0.309	0.2809	0.0698	0.0742
اقل فرق معنوي للاعمار بمستوى احتمال 0.05		0.1726	0.0722	0.2443	0.2221	0.0552	0.0587
اقل فرق معنوي للتداخل بمستوى احتمال 0.05		0.4883	0.202	0.6909	0.6282	0.1562	0.166

• الارقام في الجدول تمثل معدلاً لثلاثة مكررات.
• الاحرف الصغيرة المختلفة ضمن العمود الواحد تشير إلى وجود فروق معنوية إحصائياً بين المتوسطات عند مستوى ($p<0.05$) .
T1 = جبن المقارنة . T2 = اضافة الانزيم بنسبة 25% كبديل جزئي عن المنفحة.
T3 = اضافة الانزيم بنسبة 50% كبديل جزئي عن المنفحة. T4 = اضافة الانزيم بنسبة 75% كبديل جزئي عن المنفحة.

المصادر

1- ال ايدام، جابر مهدي منيهل (1998). دراسة في تسريع انضاج الجبن الشبيه بالاوشاري. اطروحة دكتوراه.– كلية الزراعة– جامعة بغداد، العراق.

2- الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية (1988). منتجات الألبان. الأجبان. المواصفة القياسية العراقية رقم (1 / 693) (UDC: 637 .32).

3- الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية (2000). المواصفة القياسية العراقية رقم (5/3725) (UDC:663). الجزء الخامس: الحدود المايكروبية للحليب ومنتجاته. بغداد، العراق.

4- الحلي، آمال محمد علاء عبدالوهاب (2003). استخدام المستخلص الأنزيمي لعفن *Penicillium camemberti* في تسريع انضاج جبن التشدر. رسالة ماجستير–كلية الزراعة –جامعة بغداد،العراق.

5- الدهان، عامر حميد سعيد (1983). صناعة الجبن وانواعه في العالم. الطبعة الاولى. مطبعة دار الحكمة. جامعة الموصل، العراق.

6- الدجوي، علي (1996). موسوعة إنتاج النباتات الطبية والعطرية. الكتاب الثاني. مكتبة مصر (تأليف).
7- الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. كلية الزراعة والغابات– جامعة الموصل،العراق.
8- الشراجي، صادق حسن (2002). استعمال بروتييز الديباج *Calotropis procera* في صناعة الجبن الطري وتسريع انضاج جبن المونتيري. رسالة ماجستير– كلية الزراعة– جامعة بغداد،العراق.
9- الطويل، سعد ضياء وديع (2000). فصل وتنقية وتوصيف انزيم البروتييز من اوراق نبات الديباج *Calotropis procera* واستخداماته التطبيقية. رسالة ماجستير– كلية الزراعة– جامعة بغداد،العراق.
10- العواد، قاسم حسن. (1977). دراسة تأثير مدة الإنضاج على المكونات البروتينية ونوعية التشدر المصنع من حليب الجاموس. رسالة ماجستير–كلية الزراعة– جامعة بغداد، العراق.
11- الموسوي، أزهار جواد (2007). عزل وتنقية وتوصيف لايبزات الخلايا متعددة الأنوية (**Polymorph nuclear**) وتأثير الخلايا الجسمية في التحلل الدهني لجبن التشدر. اطروحة دكتوراه– كلية الزراعة– جامعة بغداد،العراق.
12- الوائلي، جنان رزاق هاشم (2006). تعمال البكتريا العلاجية ***Bifidobacterium longum*BB356** في تصنيع جبن تشدر علاجي. رسالة ماجستير– كلية الزراعة– جامعة بغداد، العراق.
13- حسن، لمى خيري (2006). تقويم الأجبان المطبوخة القابلة للنشر. رسالة ماجستير– كلية الزراعة– جامعة بغداد،العراق.
14- علي، علي راضي (2007). تطوير وتصنيع جبن أوشاري مطور مطبوخ. اطروحة دكتوراه–كلية الزراعة– جامعة بغداد، العراق.
15- **Association of Official Analytical Chemists (1980). Official Methods of Analysis 13th ed. A.O.A.C. Washington. D.C.**
16- **American Public Health Association (1978). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 14th ed. Marth. E.H. (ed). American Public Health Association. Washington. D.C.**
17- **Aworh, O.C. and S. Nakai (1986). Extraction of milk clotting enzyme from Sodom Apple (*Calotropis procera*) J. of Food Sci., 51(6):1569-1570.**
18- **Aworh, O. C. and S. Nakai (1988). Separation of Sodom Apple proteinases by Gel Filtration. International J. of Food Science and Tech., 23:419-423.**
19- **Davis, J. G. (1965).Cheese Basic Technology.Vol.1 Isted. J.and Churchill ltd. London,U.K.**
20- **Deeth, H. C. and C. H. Fitz-Gerald (1976). Lipolysis in Dairy Products, A review Australian J. of Dairy Tech., 31:53-64.**
21- **Eckles, C. H.; W. B. Combs and H. Macy (1997). Milk and Milk products. 4th ed. Tata- McGraw Hill publishing Company. New Delhi.**
22- **Egan, H.; R. S. Kirk and R. Sawyer (1985). Persons Chemical Analysis of Food. 8th Ed. 8th Ed Churchil Living Stone, London.**
23- **FAO, (2001). Production Year Book. 53 Fermented milk (pp. 209-228). Elsevier Applied Sci. Publishers, London.**
24- **Fox, P. F. and J. M.Wallace (1997). Formation off flavor compounds in cheese. Advances in Applied microbiology, 45, Academic Press, Cork , Ireland.**
25- **Joslyn, M. A. (1970). Methods in Food Analysis, Physical, Chemical and Instrumental Methods of Food Analysis, 2nd ed.Academic Press.New York.**

26- Kristofferson,T. (1973). Biogenesis of cheese flavor. J. Agric. and Food Chem., 21(4):573.

27- Lammli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage. Nature, 22:680.

28- Lane, C. N. and P. F. Fox (1996). Contribution of Starter and Adjunct Lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. Int. Dairy J., 6:715-728.

29 Law, B. A.; Z. D Hosking and H. R. Chapman (1979). The effect of some manufacturing conditions on the development flavor in Cheddar cheese J. Soc. Dairy Tech., 32 (2).

30- Ling, E. R. (1956). A Text Book of Dairy Chemistry 2 Chem. and Hall Ltd. London.

31- Melnick, J. (2001). Microbiology of cheese makers. http:// www.cheesebits. com.

32- Mohamed, M. A. and C. B. O'connor (1996). *Calotropis procera* with emphasis on its use as a milk coagulating agent. Review of Animal Production, 31(1-2):18-24.

33- Mullan, M. A. (2001). Cheese Quality. Defects cause and control of early gas Production in Cheddar cheese. J. Food Sci., 66 (9). http://www.dairy sci. Info.

34- Newlander, J. A. and H. V. Atherton (1964). The Chemistry and Testing of Dairy products. Olsen Publishing Company, Wisconsin U.S.A.

35- Picon, A.; J. Fernandez; P. Gaya; M. Medina and M. Nunez (1999). Short Communication Stability of Chymosine and cyprosins under milk coagulation and cheese ripening conditions, J. Dairy Sci., 82:2331-2333.

36- SAS, (2001). Statistical Analysis System, SAS Institute, Inc. Cary, N.C.U.S.A.

37- Tavaria, F. K.; M. J Sousa.; A. Domingos; F. X Malcata.; P. Brodelius; A. Clement and M. S. Pais (1997). Degradation of caseins from milk of different species by extracts of centaur calcitrapa, J. Agric. Food Chem., 45:3760-3765.

Iraqi J. Agric. (Special Issue) Vol.14 No.8 2009

USING OF *Calotropis procera* PROTEASE AS A PARITIAL SUBSTITUTE IN CHEDDAR MAKING

S. R. Al-Ani K. A. Shakir A. H. Al-Dahhan

ABSTRACT

This Study was carried out to investigate the potential of utilizing Calotropain in cheddar cheese making. Calotropain was extracted from clean leaves of *Calotropis procera* using 6% NaCl containing 2% boric acid. The crude extract was concentated with ammoimun sulfate $(NH_4)_2SO_4$, dialyzed and lyophilizied. The clotting and proteolytic activities of the obtained enzyme was determined and was 18.4 , 181.24 (unit/ml) respectively. The lyophilized protease was used in manufacturing cheddar cheese from pasteurized milk, different ratios of calotropain (25,50,75)% were used as a paritial substitute for microbial rennet. The treatments were designated (T2,T3,T4)respectively. The chemical, microbial and organoleptic characteristics of the manfactured cheese were studied and compared with the control treatment (T1) which was manufactured with a microbial rennet from (*Mucor miehie)* by a traditional method. The chemical changes in the processed products for treatments were recorded. The obtained results showed that the moisture content of all samples were decreased during ripening period, while the protein, fat, salt, acidity and acid degree values were increased. The pH values of treated samples were decreased at the beginning of the ripeing period and then decreased slowly with the progress of ripening preiod. The percent of SN% and NPN% of all treatments were higher than that of control samples and the increase in SN% and NPN% were proportional to the enzyme concentration and the periods of the ripening. The electrophoresis pattern of treatments cheese samples showed higher numbers in protein bands than that of control. Further more the bands were increased as the enzyme concentration increased. The Coliform bacteria, Yeasts and Molds and *Staphylococcus aureus* bacteria were less than that of control cheese. Cheese samples for the treatments (T3,T4) showed distinct flavor during the second month of ripening. The control cheese showed the desired flavour at the end of the ripening period followed by the traditional processing method.

***Part of MSc. Thesis for the first author**
College of Agric. –Univ. of Baghdad- Baghdad,Iraq.