دراسة استخلاص وطرائق تجفيف مستخلص أنزيم الببسين من قوانص الدجاج وتخزينه

ياسمين غسان عبد الحميد[1*] و رمضان سليمان عطرة[1]

[1] قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائيّة والبتروليّة، جامعة حمص، سورية.

(*للمراسلة: ياسمين عبد الحميد، البريد الإلكتروني: yasminabdulalhamid@gmail.com، هاتف: 0994299379)

تاريخ الاستلام: 18/ 8/ 2025 تاريخ القبول: 14/ 10/ 2025

الملخّص

يمثل ببسين الدجاج المستخلص من القوانص بديلًا واعدًا للمنفحة الحيوانية، حيث أظهرت الدراسات نجاحه في تخثر الحليب وصناعة أجبان ذات جودة مقاربة للمنفحة التقليدية. كما يُسهم استثماره في توسيع مصادر أنزيمات التخثر وتلبية احتياجات صناعة الأجبان. لذا شملت الدراسة استخلاص أنزيم ببسين الدجاج من غشاء الكاولين المبطن لقانصة الدجاج باستخدام محلولين مختلفين: الأول 1%) حمض البوريك و10% كلوريد الصوديوم، (pH=5.51، والثاني 3%) حمض البوريك و10% كلوريد الصوديوم، (pH=5.02 أظهرت النتائج أن المحلول الأول كان الأفضل. تم تقييم طريقتين لحفظ المستخلص: التجفيف تحت التفريغ (عند 35 و40°م، 200 ملي بار)، والتجفيد عند 0.1 ملي بار، مع التخزين بدرجة حرارة الغرفة (25 °م) لمدة 4 أشهر وأسبوعين. وأظهرت النتائج أن الطريقة الأكثر كفاءة لحفظ مستخلص الأنزيم هي التجفيد، حيث حقق نشاط تخثر متبقي أعلى (80.59% ،53.09%) بعد التجفيد وبنهاية فترة التخزين. كما أثرت كل من مدة التخزين، ورقم الحموضة لمحلول الاستخلاص، ودرجة حرارة التجفيف تأثيرا معنويا على الفعالية التخثيرية للأنزيم عند مستوى ثقة P≤0.05..

الكلمات المفتاحية: أنزيم ببسين الدجاج، الاستخلاص، التجفيف تحت التفريغ، نشاط التخثر، زمن التخثر، التجفيد.

المقدمة:

يعد استخدام الأنزيمات في الصناعات الغذائية عاملاً أساسياً في تحسين إنتاج الغذاء وحمايته. وتُعتبر الأنزيمات المحللة للبروتين من أهم الأنزيمات المستخدمة، إذ تمثل حوالي 25% من الأنزيمات التجارية عالميًا، ويتم إنتاجها من مصادر نباتية وحيوانية وميكروبية. (السراجي واسكندر،2012). تلعب أنزيمات التخثر دورًا حيويًا في إنتاج العديد من أصناف الجبن، حيث يُعد الجبن بأصنافه المتعددة أحد أقدم الطرق المعروفة للحفاظ على القيمة الغذائية للحليب، وتُستخدم المنفحة التقليدية المستخلصة من معدة العجول حديثة الولادة بشكل رئيسي في إنتاج الجبن، وتحتوي هذه المنفحة على مزيج من الكيموسين والببسين بنسب تختلف بناءً على عمر الماشية ونظام تغذيتها (Huifang *et al.*, 2024). ومع ذلك، تواجه صناعة المنفحة التقليدية تحديات ناجمة عن النقص المتزايد في إنتاجها عالميًا، خاصةً مع تضاعف إنتاج الجبن بمعدل 3.5 مرة خلال العقود الأخيرة.(Jacob *et al.*, 2011)

تشمل بدائل المنفحة التقليدية أنواعًا متعددة من البروتياز، مثل تلك المستخلصة من مصادر نباتية كالأنزيم من الخرشوف البري والفيسين من التين، أو تلك ذات الأصل الميكروبي المنتجة من *Mucor miehei* و*Mucor pusillus*، كما تشمل البدائل الحيوانية الببسين المستخرج من الخنازير والأبقار، والبروتياز المعدي من الكائنات البحرية، بالإضافة إلى الببسين المستخلص من الدجاج. (Djermoume and Bouhadja, 2021)

غشاء الكاولين يمثل الطبقة المتقرنة والمتجعدة التي تبطن السطح الداخلي للقوانص، وهذه الطبقة رقيقة وشبه شفافة، لونها أصفر مخضر مع خيوط مجعدة ملحوظة. و**الكاولين** هو البطانة الداخلية لقوانص الدجاج والتي تكون على شكل لفائف غير منتظمة، وفي حالتها السليمة يصل طول هذه الطبقة من 3 إلى 3.5 سم وعرضها 3 سم وسمكها 3 مم، وقد استخدم هذا الغشاء في الطب الصيني التقليدي كدواء لأمراض المعدة.(Hamidi *et al.*, 2018)

يبرز ببسين الدجاج كبديل واعد للمنفحة، نظرًا لتوفر المواد الخام الثانوية الناتجة عن ذبح الدواجن في سورية، والتي لم تُستغل بشكل كافٍ حتى الآن. كما أن تطوير قطاع الدواجن الذي ينتج بين 25–27 مليون طير خلال الدورة الواحدة (45 يومًا) يتيح فرصًا لإنتاج هذا الأنزيم بكميات وفيرة. وتُستخدم هذه البدائل بالفعل في بلدان مثل الجزائر (BenYahia-krid *et al.*, 2011) والتشيك (عطرة، 2016) في صناعة الأجبان، وللحفاظ على استقرار نشاط المستخلص الأنزيمي وضمان الاستخدام الأمثل، توجهت الدراسات والأبحاث لتقييم حفظه عن طريق التجفيف.

وفيما يتعلق باستخلاص أنزيم الببسين قاما (عيسى وجاسم، 2014) باستخلاصه من بعض المصادر الحيوانية (الأغنام، الدجاج، سمك النويبي) واستعماله في بعض التطبيقات العملية في مجال الصناعات الغذائية، وقد أظهرت النتائج أن أفضل محلول استخلاص هو محلول كلوريد الصوديوم 6% الحاوي على 2% حمض البوريك، وكما تم استخدم محلول الاستخلاص (4% حمض البوريك و0.5% بنزوات الصوديوم رقم هيدروجيني 5.6)، لاستخلاص أنزيم الببسين من قانصة الدجاج. (اسكندر، 2017) وطرق الحفظ المستخدمة لحفظ أنزيم الببسين وفقا للدراسة المرجعية هي التبريد والتجميد والتجفيف تحت التفريغ والتجفيد.

كما درس الباحثان (Aouissi and Brinet ,2016) استخلاص أنزيم الببسين بنقع معدة الدجاج الأمامية في محلول ملحي (3%) لمدة 3 ساعات ثم عملية ترشيح تليها طرد مركزي، حصل بنهاية العملية على مستخلص ببسين دجاج خام يتم تنشيطه فيما بعد، وحدد نطاق نشاط أنزيم الببسين المثالي ما بين رقم هيدروجيني 5–6.6، وأثبت فعاليته كأنزيم مخثر بديل للمنفحة.

مبررات البحث:

تعتمد صناعة الأجبان في سورية على استيراد المنفحة من خارج البلاد، الأمر الذي يؤدي إلى ارتفاع تكاليف الإنتاج، ونظراً لزيادة إنتاج الدواجن في البلد ومعظم الدول العربية خلال السنوات الأخيرة، وبما أن المنفحة المستخدمة من مصادر حيوانية، فقد توجهت هذه الدراسة إلى الاستفادة من قوانص الدجاج في تحضير أنزيم مخثر، والعمل على حفظه وتخزينه، وإضافةً إلى دراسة فعاليته التخثيرية خلال فترة التخزين، ومن هنا تتجلى أهمية هذا البحث.

أهداف البحث:

- استخلاص أنزيم الببسين من الغشاء المبطن لقوانص الدجاج.
- حفظ أنزيم الببسين بشكل مسحوق باستخدام طريقتي التجفيف تحت التفريغ، التجفيد.
- دراسة الفعالية التخثيرية للأنزيم خلال فترة التخزين.

مواد وطرائق البحث:

- ***المواد:***
  - أغشية الكاولين من قوانص الدجاج (تم إحضارها من مسلخ دواجن في مدينة حمص).
  - حمض البوريك.
  - كلوريد الصوديوم.
  - حليب مجفف منزوع الدسم.

- أكياس ألمنيوم ذات ثخانة 100 ميكرون.

– ***الأجهزة والأدوات المستخدمة:***

- حمام مائي، ألماني الصنع نوع Memmert.
- ميزان حساس، سويسري الصنع ماركة Percisa.
- مجفف تحت التفريغ.
- مجفد مخبري.

– ***مكان البحث:***

أُجري هذا البحث في مخبر الألبان، ومخبر الخزن والتّبريد في قسم الهندسة الغذائيّة بكلّيّة الهندسة الكيميائيّة والبتروليّة بجامعة حمص.

– ***الطرائق المستخدمة في البحث:***

➢ **الطريقة المستخدمة في استخلاص أنزيم الببسين من غشاء الكاولين (الغشاء المبطن لقوانص الدجاج):**

تم استخلاص أنزيم الببسين وفق طريقة (اسكندر،2017) مع إجراء تعديلات لتناسب طبيعة البحث. في البداية تم الحصول على أغشية الكاولين من دجاج مذبوح حديثًا من مسلخ في مدينة حمص (والذي يتمتع بطاقة إنتاجية تصل إلى ذبح 85 دجاجة يوميًا).

نظفت الأغشية وغسلت بالماء البارد لإزالة الشوائب العالقة عليها، ثم جففت في درجة حرارة الغرفة (25 °م). بعدها طحنت باستخدام الهاون للحصول على مسحوق الكاولين.

في مرحلة الاستخلاص استخدام محلولين، الأول يحتوي على حمض البوريك بنسبة 1% وكلوريد الصوديوم بنسبة 10%، والثاني يتكون من حمض البوريك بنسبة 3% وكلوريد الصوديوم بنسبة 10%، وتم نقع 100 غرام من مسحوق الكاولين في 100 مل من المحلول لمدة أسبوع، في درجة حرارة المختبر (25 °م) وفي بيئة مظلمة.

عقب ذلك رشح المحلول لفصل الشوائب، وذلك باستخدام ورق الترشيح العادي عند الضغط الجوي العادي، وأكمل حجم المستخلص الأنزيمي النهائي إلى 300 مل باستخدام الماء المقطر. وتبعها عملية تركيز المستخلص باستخدام الطاردة المركزية بسرعات دوران بلغت 2100 دورة/دقيقة لمدة 20 دقيقة.

والنتيجة كانت الحصول على **مستخلص خام سائل لأنزيم ببسين الدجاج بلون أصفر فاتح.**

الشكل (1): المستخلص الخام السائل لأنزيم ببسين الدجاج

➢ **تقييم الفعالية التخثيرية للمستخلص الخام:**

تم تقدير وحدة المنفحة الدولية UP لمستخلص الخام لأنزيم ببسين الدجاج وفق (الميدع،2007). باتباع طريقة العمل التالية:

✓ تحضير مادة التفاعل:

- وضع 24 غرام من مسحوق الحليب الخالي من الدسم المحضر على درجة حرارة منخفضة ضمن كأس زجاجي سعته 250 مل.
- أضيف 200 مل من محلول كلوريد الكالسيوم 0.01 مولارية مع التحريك الدائم لمدة عشر دقائق وتركه جانبا لمدة عشر دقائق.
  - ✓ ومن ثم قدر الزمن اللازم للتخثر وفق ما يلي:
- وضع 10 مل من الحليب المحضر سابقا ضمن أنبوب اختبار.
- وضع الأنابيب ضمن الحمام المائي على درجة حرارة 30 °م.
- حضنت لمدة 5 دقائق، ثم تمت إضافة 1 مل من محلول الببسين.
- أغلقت الأنابيب واجري قلب ثلاث مرات متتالية، بعدها وضعت الأنابيب من جديد في الحمام المائي بزاوية 30 درجة، مع التدوير من وقت لآخر بمعدل 2–4 دورات في الدقيقة، لملاحظة تشكل طبقة من الحليب المتخثر أو حتى ظهور تسبخات مرئية على جدار الأنبوب.
- ويتم تسجيل زمن التخثر وتقريبه إلى أقرب 0.1 ثانية.

تقدر وحدة المنفحة الدولية **UP (U**nité **P**résure) من خلال العلاقة التالية:

$$\textbf{وحدة المنفحة الدولية UP}=\frac{100}{T*V}$$

حيث إنT : الزمن اللازم للتخثر بالثانية، V: حجم المحلول الأنزيمي.

وأيضا تم تقدير قوة المنفحة **F** (Force coagulante)، بحسب (عطرة،2016) من العلاقة التالية:

$$\textbf{قوة المنفحة F}=\frac{2400*V}{T*v}$$

حيث إن: V: حجم الحليب [ml]، T: زمن التخثر [sec]، v: حجم المنفحة [ml].

وهنالك علاقة بين قوة المنفحة ووحدة المنفحة هي كالتالي: $\mathbf{UP}= F * 0.00457$

الشكل (2): تخثر الحليب بواسطة ببسين الدجاج

- **تجفيف المستخلص الخام:**

تم تحضير المستخلص الخام لأنزيم الببسين للتجفيف بالتشبع بملح كلوريد الصوديوم، ومن ثم التجفيف بواسطة المجفف تحت التفريغ المخبري عند ضغط 200 ملي بار ثابت، وعند درجتي حرارة 35 و40 °م، واستغرقت العملية 23 ساعة و25 ساعة على التوالي، للحصول على مسحوق أنزيم ببسين الدجاج جاف وبمتوسط رطوبة 5%، وذلك وفق طريقة (Adoui,2017).

الشكل (3): المجفف تحت التفريغ

- **تجفيد المستخلص الخام:**

تم تحضير المستخلص الخام لأنزيم الببسين للتجفيف بالتشبع بملح كلوريد الصوديوم، ومن ثم تجفيد المستخلص الخام لأنزيم الببسين بواسطة المجفد المخبري عند الضغط0.1 ملي بار ثابت، واستغرقت العملية 14 ساعة، للحصول على مسحوق أنزيم ببسين الدجاج جاف وبمتوسط رطوبة 5%، وذلك وفق طريقة (Saied,2012).

الشكل (4): المجفد

- **تعبئة وتخزين مسحوق الأنزيم:**

تم حفظ مسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف والمجفد عند درجة حرارة المختبر 25°م في مكان مظلم، وتم تعبئته بأكياس ألمنيوم، وذلك لمدة 4 شهور وأسبوعين (18 أسبوع)، وتم قياس نشاط التخثر كل أسبوعين.

الشكل (5): مسحوق أنزيم ببسين الدجاج معبأة بأكياس ألمنيوم والمخزنة بدرجة حرارة المختبر (25 °م)

- **تقدير نشاط التخثر المتبقي بعد التجفيد أو بعد التجفيف بالتفريغ**

(**A**ctivité **C**oagulante résiduelle **A**près lyophilisation ou après **S**échage sous vide partie):

$$\text{A.C.A.S.(\%)} = \frac{\text{نشاط التخثر بعد التجفيف}}{\text{نشاط التخثر الأولي في الحالة الطازجة (عند الاستخلاص)}} \times 100$$

- **تقدير نشاط التخثر المتبقي** (**A**ctivité **C**oagulante **R**ésiduelle pendant le stockage) **أثناء التخزين:**

$$\text{A.C. R.(\%)} = \frac{\text{نشاط التخثر بعد التخزين(بعد7 أو 14 يوما)}}{\text{نشاط التخثر الأولي في الحالة الطازجة (عند الاستخلاص)}} \times 100$$

وهذه العلاقات تم استخدامها وفقا ل (BenYahia-krid *et al.*, 2015).

- *التحليل الإحصائي:*

تم إجراء جميع الاختبارات باستخدام ثلاث مكررات لكل اختبار، والتعبير عن النتائج من خلال المتوسط الحسابي والانحراف المعياري. تم تحليل البيانات إحصائيًا باستخدام برنامج **Minitab 17** عبر تحليل التباين **(ANOVA)** عند مستوى ثقة **($P \leq 0.05$)**، والاختبار الإحصائي **Tukey**، والاختبار الإحصائي Independent two-sample t-test، والاختبار الإحصائي Mann-Whitney Test.

النتائج والمناقشة:

- *الفعالية التخثيرية للمستخلص الخام عند الاستخلاص:*

يتميز مستخلص ببسين الدجاج الخام بحجمه بعد الاستخلاص بالمحلول الأول: 262.3±3.21 مل من 100±1.52 غرام أغشية كاولين، وإجمالي مسحوق ناتجة 22.27±0.27 غرام، وبلغ المردود 8.492%، وحيث تم تمديد محلول الاستخلاص بنسبة 1:3.

يتم التعبير عن مردود الاستخلاص للمنفحة والأنزيمات البديلة من خلال الفعالية التخثيرية للمنفحة المستخلصة مقدرة بوحدات مختلفة، نسبة إلى الحجم النهائي الذي تم الحصول عليه بعد الاستخلاص وإلى كتلة المنفحة الطازجة (Messaoudi and Tabouri ,2019). وبالنسبة لتمديد محلول الاستخلاص بنسبة 1:3، بحسب الدراسة المرجعية (Benyahia-krid,2013) و (BenTiba ,2023) حيث وجدوا أن نسبة التمديد 1:3 كانت أفضل وأعطت أقصى مردود مقارنة بالنسبة 1:5 و1:7 وأفضل فعالية تخثيرية للأنزيم، وهذا يوضح أن الحجم المنخفض من محلول الاستخلاص يراكم ويجمع ويكثف الحد الأقصى من مجموعة الأنزيمات الموجود في أنسجة المعدة وبالتالي يزيد من عائد قوة التخثر والمردود.

لعملية استخلاص أنزيم ببسين الدجاج استخدمنا حمض البوريك لتنشيط الأنزيم وتحويله من شكل ببسينوجين غير النشط إلى ببسين نشط، وأيضا يستخدم كمادة حافظة لمنع نمو الأحياء الدقيقة التي قد تؤثر على جودة ونشاط الأنزيم أثناء التخزين، وتقليل تغيرات الأنزيم خلال فترة حفظه وتخزينه. وتم استخدام تركيزين من حمض البوريك لتقييم تأثير رقم الحموضة لمحلول الاستخلاص على الفعالية التخثيرية للأنزيم وحفظه (Hattem *et al.*,2016).

استخدام حمض البوريك حسب المواصفة القياسة السورية للمنفحة والأنزيمات المخثرة 10 غ/ل كحد أقصى، و$5.8 > pH > 0.2$. وكما يتم استخدام ملح كلوريد الصوديوم لتحسين عملية الاستخلاص عن طريق زيادة ذوبانية الأنزيمات في المحلول، ويساعد في الحفاظ على توازن الشوارد في المحلول، مما يضمن استقرار الأنزيمات، ويلعب دور كمادة مثبتة للأنزيمات متل سكر اللاكتوز وغيرها. (Adoui,2017)

الجدول (1): نتائج زمن التخثر وUP وF للمستخلص الخام لأنزيم ببسين الدجاج عند الاستخلاص

المؤشر	القيمة
زمن التخثر1 (ثانية)	342±2.51
زمن التخثر2 (ثانية)	364±4.35
UP1	0.292±0.002
UP2	0.274±0.003
F1	63.921±0.46
F2	60.120±0.71

من الجدول (1) يشير الرقم 1 للاستخلاص بالمحلول الأول (حمض البوريك بنسبة 1% وكلوريد الصوديوم بنسبة 10%)، ويشير الرقم 2 للاستخلاص بالمحلول الثاني (حمض البوريك بنسبة 3% وكلوريد الصوديوم بنسبة 10%).

أظهر اختبار t المستقل وجود فرق معنوي في زمن التخثر بين المحلولين عند مستوى ثقة ($P \leq 0.05$)، بلغ متوسط زمن التخثر في المحلول الأول (342.3 ± 2.51 ثانية) بينما بلغ في المحلول الثاني (364.0 ± 4.35 ثانية)، مما يشير إلى أن **المحلول الأول أعطى زمناً أقصر للتخثر مقارنةً بالمحلول الثاني.**

وبالنسبة لمؤشر وحدة المنفحةUP ، بلغ المتوسط 0.292 ± 0.002 للمحلول الأول و0.274 ± 0.003 للمحلول الثاني، وأظهر اختبار t المستقل أن الفرق بين المحلولين لم يكن معنويًا عند مستوى الثقة ($P \leq 0.05$).

أما بالنسبة لقوة المنفحةF، بلغ المتوسط 63.921 ± 0.46 للمحلول الأول و60.12 ± 0.71 للمحلول الثاني، وأظهر الاختبار t المستقل وجود فرق معنوي بين المحلولين عند مستوى ثقة ($P \leq 0.05$)، **حيث كان المحلول الأول أعلى في القيمة، وهذه القيم حصلنا عليها عند الاستخلاص.**

حصلنا بنهاية عملية الاستخلاص على المستخلص الخام لأنزيم ببسين الدجاج من غشاء الكاولين مصفى، وبما أن تنقية الأنزيمات تعد عملية مكلفة، وإن استعمالها غير اقتصادي لأن الأنزيم يستعمل مرة واحدة فقط، ولا يمكن استعماله مرة أخرى. اقتصر بحثنا على المستخلص الخام لأنزيم ببسين دون تنقية.

وفقا لدراستنا بلغت قوة التخثر لمستخلص أنزيم ببسين الدجاج الخام المستخلص بواسطة محلول الاستخلاص الأول قوة المنفحة1 =63.921، حيث أن كل لتر من مستخلص الأنزيم قادر على تخثير 63921 لتر من الحليب البقري. ويعد مستخلص أنزيم ببسين الدجاج **كمنفحة قوية الفعالية** وفق المواصفة القياسية السورية للمنفحة، وهذ القوة تقل عن قوة المنفحة التي تم الحصول عليها في دراسة (Saied,2012) حيث بلغت68889، وذلك بسبب اختلاف طريقة الاستخلاص والمحاليل المستخدمة.

وبحسب الدراسة المرجعية(اسكندر،2017)، (Benyahia-krid,2013) أفضل رقم هيدروجيني كان قريب من 5.

– *نتائج تقييم الفعالية التخثيرية لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف تحت التفريغ وبالتجفيد خلال فترة التخزين:*

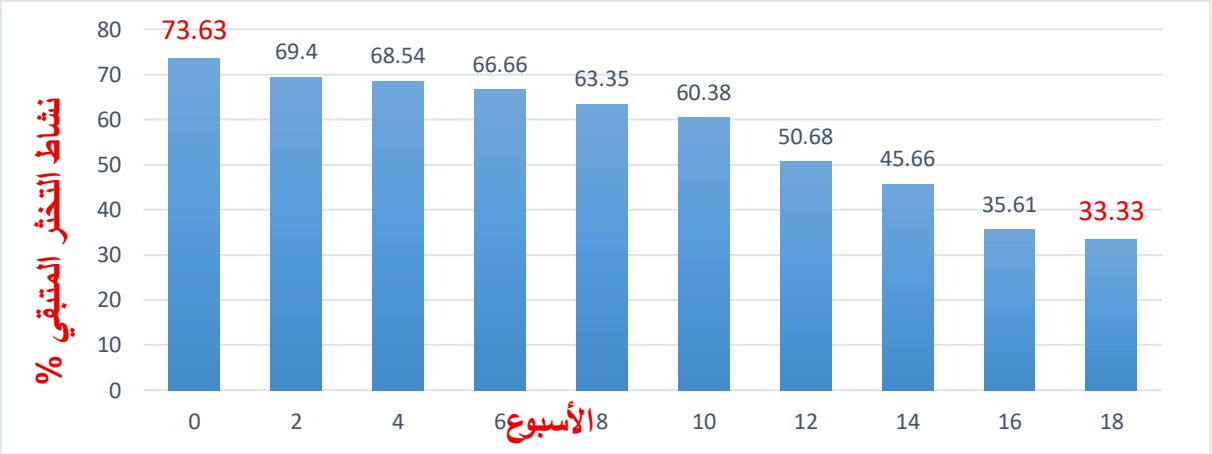
تم تقييم الفعالية التخثيرية باستخدام وحدة المنفحة الدولية (UP) وتقدير زمن التخثر وقوة المنفحة (F) لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيف تحت التفريغ، حيث أجريت القياسات كل أسبوعين خلال فترة التخزين التي امتدت ل 4 شهور وأسبوعين (18 أسبوع). وتحديد النسبة المئوية لنشاط التخثر المتبقي بعد التجفيف وأثناء فترة التخزين.

نلاحظ انخفاض الفعالية التخثيرية كلما زادت فترة التخزين وذلك لأن الأنزيم يقوم بتحليل جزيئاته البروتينية أو قد يحدث التحلل بفعل بروتيازات أخرى توجد معه في الوسط، وهذا يتفق مع دراسة (الصالحي، 2004)، ونلاحظ من الجدول (1) أن زمن التخثر يزداد مع تقدم فترة التخزين كل أسبوعين وهذا يتوافق مع الدراسات (Djaballah et al., 2021) و(Bourahla, 2019).

الجدول (2): نتائج زمن التخثر1ووحدة المنفحة1 وقوة المنفحة1 لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيف تحت التفريغ (35°م، 200 ملي بار)

رقم الأسبوع	زمن التخثر1 (ثانية)	وحدة المنفحة1	قوة المنفحة1
0 (بعد التجفيف)	464H	0.215A	47.045A
2	493GH	0.202B	44.347B
4	499FGH	0.200B	43.796B
6	513FG	0.194B	42.596B
8	540EF	0.158C	40.481C
10	566E	0.176D	38.584D
12	675D	0.148E	32.385E
14	750C	0.133F	29.175F
16	962B	0.104G	22.757G
18	1027A	0.097G	21.298G

*تم استخدام اختبار **Tukey** للمقارنة المتعددة بين تأثير فترة التخزين على زمن التخثر والفعالية التخثيرية للأنزيم. تشير الأحرف المختلفة إلى فروق معنوية بين القيم، بينما تعني الأحرف المشتركة أن الفروق غير معنوية بين قيم الأسابيع المختلفة.



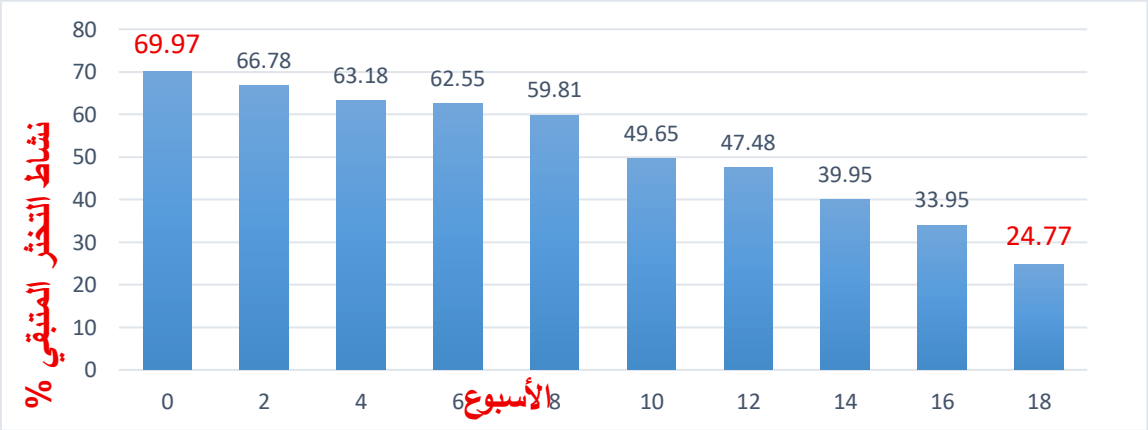
الشكل (6): تغير نشاط التخثر المتبقي1 لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيف تحت التفريغ (35°م، 200 ملي بار) خلال فترة التخزين

نلاحظ من الشكل (6) يتناقص نشاط التخثر المتبقي لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف تحت التفريغ (35°م ،200ميلي بار) بازدياد فترة التخزين كل أسبوعين بدرجة حرارة25°م، وهذا ما يتوافق مع ما توصل إليه الباحثين (Adoui,2017) (Benyahia-Krid,2013). بناء على تحليل التباين الإحصائي (ANOVA) عند مستوى ثقة P≤0.05 الذي تم إجراؤه، وفقا للجدولين (2) و(3)، تبيّن وجود تأثير معنوي مهم **لفترة التخزين (كل أسبوعين)** على متغيرات وحدة المنفحة، وقوة المنفحة، وزمن التخثر، ونشاط التخثر المتبقي لمسحوق الأنزيم المجفف تحت التفريغ عند درجتي حرارة تجفيف (35 و40 °م و200 ملي بار ثابت) أثناء التخزين لمدة 4 أشهر وأسبوعين عند درجة حرارة25°م. بناءً على القيم الموضحة بالجدولين (1) و(2)، وحيث تم استخدام الاختبار الإحصائي Mann-Whitney Test عند مستوى ثقة P≤0.05، نجد تأثير معنوي مهم **لدرجة حرارة التجفيف** لمستخلص أنزيم ببسين الدجاج وذلك على المتغيرات وحدة المنفحة، وقوة المنفحة، وزمن التخثر، ونشاط التخثر المتبقي لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف تحت التفريغ أثناء التخزين لمدة 4 أشهر وأسبوعين عند درجة حرارة25°م، وحيث بلغت قيمة P=0.003.

الجدول (3): نتائج زمن التخثر1 ووحدة المنفحة1 وقوة المنفحة1 لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيف تحت التفريغ (40 °م، 200 ملي بار)

رقم الأسبوع	زمن التخثر1 (ثانية)	وحدة المنفحة1	قوة المنفحة1
0(بعد التجفيف)	489F	0.204A	44.711A
2	512F	0.195AB	42.669AB
4	542EF	0.184AB	40.37AB
6	547EF	0.182B	39.97B
8	572EF	0.174B	38.22B
10	689DE	0.145C	31.728C
12	727CD	0.138C	30.342C
14	864C	0.116D	25.528D
16	1024B	0.098D	21.444D
18	1383A	0.072E	15.827E

*تم استخدام اختبار **Tukey** للمقارنة المتعددة بين تأثير فترة التخزين على زمن التخثر والفعالية التخثيرية للأنزيم. تشير الأحرف المختلفة إلى فروق معنوية بين القيم، بينما تعني الأحرف المشتركة أن الفروق غير معنوية بين قيم الأسابيع المختلفة.



الشكل (7): تغير نشاط التخثر المتبقي1 لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيف تحت التفريغ (40°م، 200 ملي بار) خلال فترة التخزين

وأعطت نتائج أفضل بالنسبة لجميع المتغيرات درجة الحرارة **35°م**، ونستنتج أنه كلما ارتفعت درجة الحرارة التجفيف كلما كان لها تأثير سلبي على الفعالية التخثيرية للأنزيم ببسين الدجاج وزمن التخثر. بحسب (Benyahia-Krid *et al.*,2015) الأنزيمات في الوسط المائي غير مستقرة، لذلك يوصى غالبا التجفيف تحت التفريغ أو بالتجفيد لحفظ مثل هذه الأنزيمات، ومع ذلك فإن عملية التجفيف نفسها يمكن أن يسبب ضرر لهياكل البروتين المختلفة، وبحسب (Kozelková *et al.*,2012) تنخفض قوة المنفحة عندما يتم التعامل مع المادة وتخزينها بشكل غير صحيح، حيث يؤدي الضوء والحرارة والاهتزاز الى تأثيرا ضارة وواضحة على المنفحة.

– ***نتائج تقييم الفعالية التخثيرية لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيد خلال فترة التخزين:***

يؤدي التجفيف إلى تغيير البنية الثانوية للبروتين نظرًا لفقدان الماء جزئيًا. يمكن تجديد هذا الترطيب عن طريق استبدال الماء بمادة حاجزة، على سبيل المثال السكريات والأملاح والمحاليل المنظمة (الجلوكوز، الفركتوز، اللاكتوز، المالتوز، السوربيتول، ملح كلوريد الصوديوم، الغليسيرين ...)، والتي تكون قادرة على تكوين روابط هيدروجينية مع البروتين. هذه المواد لها تأثير مثبت وتأثير وقائي لأنها تحافظ على البنية الأصلية للبروتين ضد فقدان الماء أثناء التجفيف. (Adoui,2017)

كما يجب مراقبة عمليات التجانس الميكانيكي والطرد المركزي بشكل خاص، لأنها غالبًا ما تسبب ارتفاع درجة حرارة المستخلص، ويؤدي العمل في درجات حرارة منخفضة للتجفيف والتخزين إلى إبطاء عمليات تمسخ والتغير الطبيعي للأنزيمات. (Saied,2012)

وبحسب الدراسات السابقة إن الاستخدام الصناعي للمستخلصات الأنزيمية الخام بدلا من الأنزيمات النقية أكثر ملاءمة من الناحية الاقتصادية، ويبرر ذلك حقيقة أن تكلفة استعادة المستخلص الخام تشكل حوالي **1%** من تكلفة الأنزيم النقي، كما أن الأنزيم النقي يتأثر بالعديد من العوامل الخارجية وتركيز الأملاح والرقم الحموضة ودرجة الحرارة وغيرها، بالمقابل المستخلص الخام في نفس الظروف يكون أكثر استقرارا ووجدوا أن هذا المستوى من النقاوة لأنزيم التخثر البديل لاستخدامه في تصنيع الأجبان كافي. (Benyahia-krid,2013)

الجدول (4): نتائج زمن التخثر 1 ووحدة المنفحة1 وقوة المنفحة1 لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيد (0.1 ميلي بار)

رقم الأسبوع	زمن التخثر1 (ثانية)	قيمة 1وحدة المنفحة	قوة المنفحة1
0 (بعدالتجفيد)	425G	0.235A	51.495A
2	428G	0.233A	51.066A
4	443FG	0.225AB	49.3AB
6	461EF	0.216B	47.41B
8	491E	0.203C	44.493C
10	529D	0.188D	41.283D
12	590C	0.169E	37.05E
14	614BC	0.162 EF	35.594EF
16	633AB	0.158F	34.573F
18	645A	0.155F	32.640F

*تم استخدام اختبار **Tukey** للمقارنة المتعددة بين تأثير فترة التخزين على زمن التخثر والفعالية التخثيرية للأنزيم. تشير الأحرف المختلفة إلى فروق معنوية بين القيم، بينما تعني الأحرف المشتركة أن الفروق غير معنوية بين قيم الأسابيع المختلفة.

الشكل (8): تغير نشاط التخثر المتبقي1 لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفف بالتجفيد (0.1 ملي بار) خلال فترة التخزين

نلاحظ من الشكل (8) يتناقص نشاط التخثر المتبقي لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفد بازدياد فترة التخزين كل أسبوعين بدرجة حرارة25°م، وهذا ما توصل إليه الباحثين (Saied,2012) (Benyahia-Krid et al.,2015).

بناء على تحليل التباين الإحصائي **(ANOVA)** عند مستوى ثقة P≤0.05، وجد تأثير معنوي مهم **لفترة التخزين (كل أسبوعين)** على متغيرات مثل وحدة المنفحة، وقوة المنفحة، وزمن التخثر، ونشاط التخثر المتبقي لمسحوق أنزيم ببسين الدجاج المجفد (0.1

ملي بار ثابت) وكذلك لمسحوق الأنزيم المجفف تحت التفريغ عند درجتي حرارة تجفيف (35 و40 °م، و200 ملي بار ثابت)، وذلك أثناء التخزين لمدة 4 أشهر وأسبوعين عند درجة حرارة25°م.

وبناء على الجدول (3) أظهرت النتائج أن مستخلص أنزيم ببسين الدجاج بعد التجفيد يحتفظ بأعلى فعالية تخثيرية مباشرة بعد عملية التجفيد (الأسبوع 0)، حيث سجل أقل زمن تخثر وأعلى قيمة لوحدة المنفحة وقوة المنفحة. مع مرور فترة التخزين، لوحظ تراجع تدريجي في نشاط الأنزيم، كان طفيفًا خلال الأسابيع 2–4، وأصبح أكثر وضوحًا بعد الأسبوع 6، بينما سجلت أدنى الفعالية عند الأسبوع 18، مع ذلك، تظل قوة المسحوق جيدة وقادرًا على تخثير الحليب، ما يشير إلى إمكانية استخدامه لفترة تخزين أطول رغم انخفاض نشاطه التخثري مقارنة بالفترة الأولى بعد التجفيد.

بناء على نتائج الاختبار الإحصائي Independent two-sample t-test وذلك عند مستوى ثقة P≤0.05، حيث تم مقارنة زمن التخثر 1 بواسطة المسحوق المجفف بالتجفيد والمسحوق المجفف عند 35°م، أظهرت النتائج فرقًا معنويًا بين المجموعتين (P = 0.003)، حيث سجل المسحوق المجفد زمن تخثر أقل، وقيمة وحدة المنفحة (حيث P=0.003) وقوة المنفحة (P=0.004) أعلى ونشاط تخثر متبقي أعلى بعد التجفيد وخلال فترة التخزين مقارنة بالمسحوق المجفف عند35°م، مما يدل على أن **التجفيد** كان أكثر فعالية لحفظ مستخلص الأنزيم.

طريقة التجفيد عند ضغط 0.1 ملي بار ثابت أعطت **نتائج أفضل بالنسبة لجميع المتغيرات**، وحيث حافظت على نشاط تخثر متبقي أعلى بعد التجفيد وخلال فترة التخزين، مقارنة بطريقة التجفيف تحت التفريغ سواء عند 35 وضغط 200 ملي بار ثابت، **وتعد هذه الطريقة أفضل وأهم تقنية تجفيف لحفظ الأنزيمات الحيوية مثل أنزيمات التخثر** كونها تتيح الحصول على منتجات مستقرة قادرة على إعادة الترطيب على الفور، كما أنه يقلل من التغيرات الحاصلة الناتجة عن العوامل المحيطة والتي تؤثر على جودة الأنزيم.

الاستنتاجات:

1. يُظهر مستخلص أنزيم ببسين الدجاج من غشاء الكاولين بتركيز 1% حمض البوريك، و10% كلوريد الصوديوم ورقم حموضة pH=5.51 فعالية تخثيرية أعلى واستقراراً أفضل لمستخلص الأنزيم ومسحوق الإنزيم خلال فترة التخزين، مقارنة بالمحلول ذي التركيز 3% حمض البوريك، و10% كلوريد الصوديوم ورقم حموضة pH=5.02.
2. تبين أن أفضل شروط التجفيف تحت التفريغ لتحقيق أعلى نسبة من النشاط التخثر المتبقي هي درجة حرارة 35 مئوية وضغط 200 ملي بار، مما يتيح إمكانية حفظ مسحوق الأنزيم للمدة المدروسة عند درجة حرارة المختبر (25 °م).
3. تُعد تقنية التجفيد عند ضغط 0.1 ملي بار الطريقة الأكثر كفاءة لحفظ مسحوق أنزيم ببسين الدجاج، حيث تفوقت في الحفاظ على نشاط التخثر المتبقي مقارنة بالتجفيف تحت التفريغ، مما يسمح بتخزينها للمدة المدروسة عند درجة حرارة المختبر (25 °م).

التوصيات:

1. يوصى بتحسين شروط الحفظ بدراسة التجفيد والتجفيف تحت التفريغ تحت ضغوط مختلفة، لضمان استقرار أكبر ونشاط تخثر متبقي أعلى، وأيضا متابعة مراقبة مسحوق الأنزيم لمدة زمنية أطول.

2. يقترح تحسين طريقة وشروط الاستخلاص، وتحديد الظروف المثلى للحصول على أعلى كفاءة لأداء أنزيم ببسين الدجاج، مما يسهم في تحقيق استفادة أكبر في التطبيقات الصناعية، وتطبيقه بصناعة الأجبان.

المراجع:

اسكندر، محمد زيارة. (2017). استخدام الببسين المبطن لقانصة الدجاج في تصنيع الجبن الأبيض الطري. المجلة السورية للبحوث الزراعية 4(4): 49-58.

الصالحي، عباس عبد الوهاب جمعة. (2004). استخلاص أنزيم الببسين من المعدة الرابعة للأبقار وتنقيته جزئيا. أطروحة ماجستير، جامعة بغداد، العراق.

السراجي، عمار ياسر جاسم ومحمد زيارة اسكندر. (2012). إمكانية استعمال إنزيم الببسين المستخلص من معدة أسماك الهامور في تصنيع الجبن الأبيض الطري. مجلة أبحاث البصرة 38(3): 72-81.

عطرة، رمضان. (2016-2017). تقانة الألبان 2 (الجزء النظري). مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، جامعة حمص، سورية.

الميدع، الياس. (2007-2008). الألبان (الجزء العملي). مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص، سورية.

اليونس، زينة كاظم عيسى ومنير عبود جاسم. (2014). استخلاص وتنقية وتوصيف وربط ببسين الدجاج واستعماله في صناعة الجبن الأبيض الطري. مجلة البصرة للعلوم الزراعية 27(1): 143-158.

المواصفة القياسية السورية. (2002). رقم 2561، المنفحة والمخثرات الشائعة وأنزيماتها. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية.

Adoui, F. (2017). Extraction d'enzyme Coagulant le lait à partir de proventricules de poulet. Université Mentouri, p. 35.

Aouissi, L., and Brinet, H. (2016). Extraction de la Pepsine à partir des Proventricules des Volailles et Aptitude à la Coagulation du Lait. Université 8 mai 1945 – Guelma.

Bentiba, G. (2023). Essai de fabrication d'un fromage traditionnel frais type « Jben » en utilisant la pepsine de poulet. Université de Chahid Chikh Larbi Tébessa.

Benyahia-Krid, F. (2013). Extraction de la pepsine et utilisation dans la coagulation du lait en vue d'une valorisation des proventricules de volailles au profit de la filière lait en Algérie. Université Mentouri, Algérie.

Benyahia-Krid, H. Attia, and M. N. Zidoune. (2011). Milk coagulation with chicken pepsin: proteolytic benefits of substituting rennet in cheese making and recycling of forestomachs in Algeria. Journal of Agriculture, Biotechnology & Ecology 4(2): 51-63.

Benyahia-Krid, F., Kechkar A., Kotomale A., Saoudi Z., Bouhamed S., et Zidoune N. (2015). Essai de conservation de l'extrait brut de pepsine de poulet par séchage sous vide partiel ou par

lyophilisation. Onzièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, les 25 et 26 Mars.

Bourahla, H. (2019). Effet de la substitution de la présure par la pepsine de poulet dans la coagulation des laits destinés à la transformation fromagère. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Algérie.

Djaballah, I., Chelbi R., Henka F., Mehrig A. (2021). Fabrication d'un fromage à pâte molle type camembert à base du lait camelin et du lait caprin avec la pepsine de poulet. Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-oued.

Djermoume, F. Z., Bouhadja, H. (2021). Succédané de la présure traditionnelle en Algérie. Université Ziane Achour – Djelfa.

M Hamidi, M Hachi, A Lahrech et A Choukri (2018). Production fromagère par un extrait de kaolin du gésier de poulet avec du lait de vache, de brebis ou de chèvre dans la steppe Algérienne. Livestock Research for Rural Development 30(11).

Huifang C., Huabin L., Elke S., Guido S. and Etske B. (2024). Effect of chymosin/pepsin ratio on milk coagulation and physical properties of model cheese. Food Hydrocolloids 156.

Hattem, H. E., R. M. Hassabo and A. S. El-Shwatfe (2016). Maximization of production and stability of rennin during preparation and storage of liquid rennet. Journal of Agricultural Research, Kafr El-Shaikh University 42(2): 83-90.

Jacob M., Jaros D. and Rohm H. (2011). Recent advances in milk clotting enzymes. International Journal of Dairy Technology 64(1).

Kozelková M., Jůzl M., Lužová T., Šustová K., et Bubeníčková A. (2012). Changes of quality of rennets during storing. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis 24(6).

Messaoudi, S., and Tabouri, W. (2019). Caractérisation de l'extrait pepsique coagulant le lait obtenu à partir des proventricules de poulet. Université Abderrahmane Mira - Béjaia.

Saied, M. (2012). Conservation par lyophilisation de la couche de Kaolin en vue de son application dans la coagulation du lait camelin. Université Ziane Achour - Djelfa

A study of extraction and drying methods of chicken pepsin from gizzards and its storage

Yassmin Ghassan Abd Alhamed[1*] and Ramadan Suliman Atra [1]

[1] Department of Food Engineering, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Homs University, Homs Syria.

(*Corresponding author: Yassmin Abd Alhamed, Email: yasminabdulalhamid@gmail.com, Tel: 0994299379)

Received: 18/ 8/ 2025 **Accepted:** 14/ 10/ 2025

Abstract

Chicken pepsin extracted from proventriculi represents a promising alternative to animal rennet, as studies have demonstrated its effectiveness in milk coagulation and the production of cheeses with quality comparable to traditional rennet. Its utilization also contributes to expanding sources of milk-clotting enzymes and meeting the needs of the cheese industry. This study focused on extracting chicken pepsin from the kaolin-coated membrane of the chicken proventriculus using two different solutions: the first containing 1% boric acid and 10% sodium chloride (pH = 5.51), and the second containing 3% boric acid and 10% sodium chloride (pH = 5.02). The results indicated that the first solution provided superior extraction efficiency. Two preservation methods for the enzyme extract were evaluated: vacuum drying (at 35 and 40 °C, 200 mbar) and freeze-drying at 0.1 mbar, followed by storage at room temperature (25 °C) for 4 months and 2 weeks. Results showed that freeze-drying was the most efficient preservation method, achieving higher residual coagulation activity (80.59% and 53.09%) at the end of the storage period. Moreover, storage duration, extraction solution pH, and drying temperature significantly affected the enzyme's milk-clotting activity ($P \leq 0.05$).

Keywords: Chicken pepsin enzyme, extraction, vacuum drying, coagulation activity, clotting time, freeze-drying.