طرق اخذ عينات الحليب التحاليل المختلفة

ان اهم مايجب مراعاته عند اختبار الحليب هو الحصول على عينة ممثلة للكل تمثل الحليب المراد فحصه .

العينة : هي جزء من الكل يحمل جميع صفاته .

أهمية أخذ العينة من الحليب

ان جودة المنتج النهائي والحكم على صفاته تتوقف على نتائج التحليل سواء التحاليل الكيميائية او الحسية والطبيعية والمايكروبيولوجية ، ونظرا لان الحليب خليط من المركبات المختلفة سوف يختلف في كثافته ، اذ ان حبيبات الدهن تصعد الى السطح مكونة طبقة القشدة فعند اخذ العينة من الطبقة العليا او السفلى سوف تعطي نتائج غير مضبوطة لذا يجب تقليب الحليب جيدا قبل اخذ العينة .

طرق تقليب الحليب

1. **اذا كانت** كمية الحليب قليلة في اناء واحد يجري صب الحليب من اناء الى اخر عدة مرات لضمان توزيع مكونات الحليب بانتظام .
2. اذا كانت كمية الحليب كبيرة في عدة اواني تستخدم مقلب خاص وهو عبارة عن ساق معدني خاص به قرص معدني يدفع المقلب الى القاع ويسحب الى الاعلى عدة مرات لضمان توزيع مكونات الحليب المتجانس .
3. اذا كانت كمية الحليب موجودة في خزان الحليب في هذه الحالة يزود الخزان بمقلب ميكانيكي ويدار عدة مرات قبل اخذ العينة .

انواع العينات

هناك نوعين من العينات تؤخذ من الحليب عند الاستلام

عينة بسيطة

تؤخذ عينة من الحليب الوارد الى المصنع لكل مورد وتوضع في اناء اخذ العينات وتجري التحاليل اللازمة في نفس اليوم وهذه الطريقة تحتاج الى جهد وكيمياويات اكثر من الطريقة الثانية .

عينة مركبة

تؤخذ عينة من الحليب لكل مورد وتوضع في اناء اخذ العينات ، ثم تؤخذ عينة في اليوم الثاني وتضاف الى عينة اليوم السابق وهكذا لمدة اسبوع او اسبوعين ويجري التحاليل في نهاية الفترة لمرة واحدة ، في هذه الحالة لابد من اضافة مادة حافظة للعينة ، حيث تحفظ العينات المركبة باضافة المواد الحافظة المثبطة لنمو المايكروبات حتى لاتتغير نتائج التحليل وهذه المواد منها الفورمالين وهو عبارة عن محلول ذو تركيز 40 % فورمالديهايد ويضاف نقطة واحدة لحفظ العينة 160 – 180 مل لمدة اسبوع ويراعى عدم زيادة كمية الفورمالين في العينة المحفوظة

حيث يتحد الفورمالين مع مجموعة الامين الحرة في البروتين ويسبب تصلب للكازين وعدم الذوبانية اثناء تقدير نسبة الدهن .

فصل مكونات الحليب واختبارتها

يتم فصل مكونات الحليب بعدة اختبارات التي منها

اولا : استخلاص الدهن من الحليب

أ – نضع10 مل من الحليب في انبوبة اختبار ونضيف اليها 20 مل من الايثر ثم ترج الانبوبة جيدا وتتركها لينفصل الايثر ، نضع الطبقة الايثرية في جفنة وتتركها في مكان دافئ حتى يتبخر الايثر .

ب – ناخذ 10 مل من الحليب في انبوبة اختبار ثم نضيف اليها 1 مل من محلول الامونيا المركزة ونمزجها جيدا ثم نضيف 10 مل كحول مع 10 مل من الايثر ونرج الانبوبة جيدا ونتركها فترة حتى تنفصل طبقة الايثر ثم نقارن النتيجة في كل من التجربتين .

على الرغم من ان الايثر مذيبا جيدا لدهن الحليب فانه عند الرج فان الايثر لايلامس كريات الدهن لسببين هما

1. تحاط حبيبات الدهن بطبقة واقية من البروتينات .

2. ان الدهن يسبح في مصل الحليب الذي لايختلط به الايثر بسهولة وان اضافة الامونيا تعمل على كسر الرابطة الشديدة بين كريات الدهن والغشاء المحيط بها .

ويذيب الايثر الدهن بمساعدة الكحول الذي يعمل كمذيب للماء والدهن .

ثانيا : فصل الكازين من الحليب

1. نضع 200 مل من الحليب الفرز الخالي من الدهن في كاس ثم تخفف باضافة 600 مل من الماء وتسخن حتى تصل درجة الحرارة الى 35 م .

2. نضيف 20 مل من حامض الخليك 10 % وتقلب بلطف لمدة 10 دقائق ثم نضيف 20 مل من محلول خلات الصوديوم 1 عياري ، قلب المحلول ثم نتركه تؤدي اضافة الحامض والخلات الى تحميض المحلول الى نقطة تعادل الكازين وهي ph 4.6 .

3. تصب اكبر كمية من السائل الرائق ثم تنقل الباقي الى ورق الترشيح.

4. نغسل الراسب (الكازين) مرة واحدة باستخدام الماء البارد .

5. تجري الاختبارات التالية على الكازين المبتل .

أ. الاستدلال على وجود عنصر النتروجين في الكازين

اخلط قليل من الكازين مع محلول الصودا الكاوية 50 % في جفنة ثم بتعرض ورقة زهرة الشمس الحمراء الى الابخرة المتصاعدة ونلاحظ تغيير لونها الى اللون الازرق نتيجة انفراد الامونيا من جزئ الكازين وبذلك يمكن الكشف عن عنصر النتروجين الداخل في تركيب الكازين .

ب . الاستدلال على وجود عنصري الكبريت والفوسفور في الكازين

تخلط كميتين متساويتين من كاربونات الصوديوم اللامائية ونترات البوتاسيوم على قطعة من الخزف ، تضع عليها قليل من الكازين وتخلط جيدا ، ثم تسخن على لهب خفيف اولا بعدها يزيد من شدة التسخين ويشتعل الكازين وعندما يتم احتراق الكازين ولايتخلف كاربون سوف نحصل

على رماد الكازين ، نبرد ثم نذيب هذا الرماد بماء ساخن بعدها يتم تحميض المحلول باضافة محلول حامض الهيدروكلوريك 4 % ، ترشح بعدها ويقسم الراشح الى قسمين .
1. نضيف الى القسم الاول محلول كلوريد الباريوم 5 % فيتكون راسب ابيض من الكبريتات هذا دليل على وجود الكبريت في الكازين .

2. نضيف الى القسم الثاني محلول مولبيدات الامونيوم 50 % يتكون راسب اصفر من الكبريتات ، دليل على وجود الفوسفور في الكازين .

الاستدلال على ان الكازين مادة بروتينية
نأخذ قليل من الكازين المترسب ويذاب في محلول مركز من الصودا الكاوية 50 % ثم نضيف نقطة او اثنين من محلول كبريتات النحاس المخففة 2 % ، قارن بين الالوان الازرق والبنفسجي الداكن المتكون ولون تجربة بلانك . يعد هذا الاختبار خاص بالكشف عن البروتينات

الخاصية الامفوتيرية للكازين
يتم تقدير الخاصية بالاتي :
1. نضع 5 غم من الكازين في هاون ونضيف اليه 20 مل من هيدروكسيد الصوديوم NaoH 0.1 عياري ، ثم نقلب المحلول حتى يذوب الكازين وتوضع المحتويات في الجفنة A .
2. نضع 5 غم اخرى من الكازين في الهاون ونضيف اليها 10 مل من حامض الهيدروكلوريك HCL المركز ونقلب حتى يتم الذوبان ثم تنقل المحتويات الى الجفنة B .

تعادل **الجفنة A** باستعمال حامض HCL المخفف 4 % بعد اضافة دليل الفينولفثالين . وتخفف محتويات **الجفنة B** بالماء ، ثم تعادل باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم 0.1 عياري بعد اضافة الدليل .
نلاحظ ترسيب الكازين مرة اخرى في كلا الحالتين وهذا دليل على ان الكازين يملك صفة الامفوتيرية اذ يذوب في كلا من الحامض والقاعدة ويترسب مرة ثانية .

تقدير المواد الصلبة الكلية والمواد الصلبة اللادهنية في الحليب

المواد الصلبة الكلية (Total Solids (TS هي كل مكونات الحليب فيما عدا الماء وتتكون اساسا من الدهن والبروتينات واللاكتوز والاملاح المعدنية ، اما مجموع هذه المكونات فيما عدا الدهن فتعرف بالمواد الصلبة اللادهنية Solids Non Fat (SNF) وتبلغ نسبة المواد الصلبة الكلية في الحليب 13 % ، اما نسبة الماء فتبلغ 87 % ، لكن في حالات إضافة الماء للحليب أو نزع المواد الدهنية فإن هذه النسب تتغير حيث ترتفع نسبة الماء عن 87 % . **ان الهدف من تقدير المواد الصلبة الكلية في الحليب** هو لاهمية هذا الاختبار الكبيرة في معرفة القيمة الغذائية والاقتصادية للحليب ، كما انها تفيد في حساب المردود التصنيعي لمنتجات الحليب بالاضافة الى انها تستخدم في كشف غش الحليب في حالة اضافة الماء اليه وحساب نسبة هذا الغش .

الاساس العلمي لتقدير المواد الصلبة الكلية : يعتمد على تجفيف عينة من الحليب معلومة الوزن للتخلص من كل الماء الموجود بالحليب باستخدام فرن التجفيف وحساب النسبة المئوية للمواد الصلبة الكلية عن طريق فرق الوزن قبل التجفيف وبعده .
هناك عدة طرق لتقدير المواد الصلبة الكلية في الحليب

1 .طريقة التجفيف التي منها :
أ. طريقة التجفيف التقليدية
ب. طريقة التجفيف تحت التفريغ
ج. طريقة التجفيف بالاشعة تحت الحمراء

2. الطريقة الحسابية ومنها
أ. باستخدام مسطرة جربر
ب. باستخدام قرص اكرومان
ج. المعادلات الحسابية

تعتبر **طريقة التجفيف التقليدية** من اهم الطرق لسهولتها والسرعة الممكنة لتقدير المواد الصلبة الكلية في الحليب اذ تتم هذه الطريقة بالاتي :

1. زن 3 مل من الحليب بعد مزجه جيدا في طبق خزفي سبق تجفيفه ووزنه .
2. تنشر العينة في قاع الطبق على هيئة طبقة رقيقة منتظمة ويوضع في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة 10-15 دقيقة .
3. ضع الطبق في فرن التجفيف على درجة حرارة 105 م لمدة ساعتان .
4. يرفع الطبق من الفرن ويوضع في المجفف حتى يبرد ثم يوزن الطبق وتحسب النسبة المئوية للمواد الصلبة الكلية في الحليب .

% للمواد الصلبة الكلية = **وزن العينة مع الطبق قبل التجفيف _ وزن العينة مع الطبق بعد التجفيف × 100**

وزن العينة

= وزن المواد الصلبة الكلية × 100

وزن العينة

تقدير نسبة الدهن في الحليب

يعتبر الدهن من اهم المكونات التي تحدد درجة جودة الحليب والثمن الذي يشترى به ، كما يتوقف عليه محصول المنتجات اللبنية مثل القشطة والزبدة والسمن والجبن فضلا عن ان نسبة الدهن في الحليب تفيد في تحديد الكفاءة الانتاجية للماشية واساسا لانتخابها . تختلف نسبة الدهن في الالبان المختلفة فهي تتراوح بين 3-6 % في الحليب البقري ، بينما تكون في حليب الجاموس من 5.5 – 9 % ، وان انخفاضها عن هذه الارقام يكون دليلا عن غش الحليب .

وترجع اهمية تقدير نسبة الدهن في الحليب الى :

1. معرفة القيمة الغذائية للحليب ، اذ يعتبر الدهن مصدر مهم للطاقة اضافة الى وجود الاحماض الدهنية الاساسية .
2. تقدير كلفة الحليب .
3. المساعدة على انتاج منتجات البان مختلفة من الحليب ذات نسبة دهن مختلفة .
4. اجراء الابحاث العلمية المختبرية .
5. ضبط نوعية الحليب ومنتجات الحليب السائل .

طرق قياس نسبة الدهن في الحليب : هناك ثلاث طرق رئيسية

اولاً : الطرق الحجمية Volumetric methods

وتعتمد على أساس فصل الدهن باستخدام مواد كيميائية مثل الحوامض العضوية المركزة والتي تؤدي إلى تمزيق الأغلفة وبالتالي تحرر المادة الدهنية ثم تقاس حجميا . أهم هذه الطرق-:

1. طريقة كيربر Gerber method 2. طريقة بابكوك Babcock method

ثانياً : الطرق الوزنية Gravimetric methods

وتشمل على فصل المادة الدهنية بواسطة مذيبات عضوية ثم يتم تبخير المذيب وقياس وزن

المادة الدهنية ومن اهم هذه الطرق :

1. طريقة ماجونيير Majonnier **2.** طريقة روز كوتلب Rose – Gottlieb

ثالثاً : الطريقة غير المباشرة Indirect methods

وهذه الطريقة تعتمد على استخدام بعض خواص الحليب الفيزيائية وايجاد العلاقة بين هذه الخواص ونسبة في الحليب مثلاً استعمال خاصية معامل انكسار دهن الحليب في محلول الإيثر أو الاعتماد على الوزن النوعي أو مجموع المواد الصلبة وعلاقتها بنسبة الدهن في الحليب . أو استعمال قابلية الحبيبة الدهنية على انعكاس الضوء والتي يعتمد عليها جهاز Milko – Tester المستخدم في تقدير نسبة الدهن في الحليب.

طريقة كيربر Gerber method

ان اساس هذا الاختبار يعتمد على : إضافة حامض الكبريتيك المركز الذي يعمل على إذابة جميع مكونات الحليب غير الدهنية وبالتالي تحرر الدهن ثم انفصاله في ساق قنينة كيربر اعتماداً على فرق الكثافة وقوة الطرد المركزي . ثم تقاس كمية الدهن كنسبة مئوية بأخذ القراءة من على عنق قنينة كيربر ، في هذه الطريقة تضاف كمية من الكحول الأثيلي أثناء الفحص وذلك لغرض منع احتراق المادة الدهنية وبذلك يسهل قراءة عمود الدهن المتكون.

طريقة العمل :

1. وضع 10 مللتر من حامض الكبريتيك المركز في داخل قنينة كيربر بواسطة جهاز خاص أو بواسطة ماصة .

2 . يضاف لها 11 مللتر من الحليب بواسطة ماصة وتضاف بهدوء وببطئ على عنق القنينة

3 . يضاف 1 مللتر من الكحول الاثيلي بواسطة جهاز خاص .

4 .تقفل القنينة بسداد مطاطي بواسطة مفتاح خاص

5. يتم رج القنينة بحركة دورانية لغرض مزج المحتويات واذابة الخثرة المتكون .

6. إجراء الطرد المركزي بسرعة 1100 دورة في الدقيقة ولمدة 4 دقائق .

7. توضع القنينة في حمام مائي 65 م لمدة ثلاث دقائق على أن يكون الساق إلى الأعلى

8 . يعدل عمود الدهن بواسطة المفتاح ثم تؤخذ القراءة والتي تمثل نسبة الدهن في الحليب.

ان اضافة الفورمالين الى الحليب لحفظه تؤدي الى صعوبة تقدير نسبة الدهن حيث يعمل الفورمالين على تصليب الكازين مما يصعب معه اذابته تماما في حامض الكبريتيك ، كما قد تتولد بعض الغازات التي ينتج عنها فوران اثناء الرج مما يتسبب في دفع سدادة انبوبة كيربر الى الخارج وتتطاير محتويات الانبوبة في وجه القائم بالعمل ، ويتغلب على ذلك بان تؤخذ عينة من الحليب وتخفف بحجم مساوي تماما لحجمها بالماء المقطر وبعد خلطها جيدا يؤخذ 11 مل من الحليب ويجرى عليها اختبار الدهن كالمعتاد بالماء المقطر مع ضرب قراءة عامود الدهن المتحصل عليه ×2 فنحصل على نسبة الدهن في العينة .

اسباب دكانة او كربنة عمود الدهن في انبوبة كيربر

1. حامض الكبريتيك المستخدم اكثر تركيزا أي كثافته اعلى من 1.825 .

2. درجة حرارة الحليب اعلى من 21 م .

3. ترك انابيب كيربر بعد هضم محتوياتها مدة اطول من اللازم قبل اجراء عملية الطرد المركزي

اسباب وجود قطع الكازين دون اذابة في عمود الدهن

1. حامض الكبريتيك المستخدم اقل تركيزا اي مخفف اذ تكون كثافته 1.820 .

2. درجة حرارة الحليب اقل من 15.5 م .

3. عدم رج محتويات انابيب كيربر تماما لهضم كل الكازين الموجود في القنينة .

عند تقدير الدهن بهذه الطريقة يلاحظ مايلي (ميكانيكية الطريقة)

1. يتحد الحامض مع الماء الموجود بالحليب فترتفع درجة الحرارة في الانبوبة وتعمل على اسالة الدهن فيسهل جمعه .

2. يؤثر الحامض على كازين الحليب فيجبنه اولا ثم يذيبه وبالتالي تتحرر حبيبات الدهن ولا تبقى في حالة غروية معلقة .

3. يؤثر الحامض على سكر الحليب Lactose فيكربنه ويتلون به محتويات الانبوبة .

4. يتفاعل الحامض مع املاح الحليب فتكون كبريتات الكالسيوم وتظهر على صورة راسب كما تتكون كبريتات الصوديوم ولكنها تظل ذائبة .

طريقة بابكوك Babcock method

ان اساس هذا الاختبار هي طريقة سريعة ودقيقة وتعتمد على معاملة الحليب بكمية من حامض الكبريتيك المركز حيث تترسب بروتينات الحليب الغروية وتذوب بسرعة بعد اجتياز نقطة التعادل الكهربائي Iso electric point **ان** إذابة البروتينات مع بعض مكونات الحليب يترك المادة الدهنية حرة للصعود اعتماد اً على فرق الكثافة بين الوسط المائي الحامضي والوسط الدهني حيث يتم قياس كمية الدهن في قنينة بابكوك الخاصة من خلال عنق القنينة المدرجة بعد تعريضها الى فعل الطرد المركزي تحت درجة حرارة ثابتة.

ان الحرارة الناتجة من تفاعل حامض الكبريتيك المركز مع باقي مكونات الحليب تعمل على

1. المساعدة على إسالة محتويات الحبيبات الدهنية وبالتالي السماح لها بالتجمع.
2. المساعدة على تقليل لزوجة الوسط وتسهيل تجمع المادة الدهنية في الطبقة العلوية من قنينة بابكوك .

تقدير الوزن النوعي للحليب Specific gravity of milk

تعرف الكثافة النسبية او الوزن النوعي للحليب بانها النسبة بين الكثافة المطلقة لاي مادة بدرجة حرارة معينة وكثافة الماء بنفس تلك الدرجة (كثافة الماء تساوي 1)

الكثافة المطلقة = الكتلة/ الحجم

الوزن النوعي للحليب = كثافة الحليب / كثافة الماء

ان الوزن النوعي للحليب هو محصلة الاوزان النوعية لمكوناته وكما في أدناه:

المكون	النسبة	الوزن النوعي
الماء	% 87	1.000
الدهن	% 4- 3.5	0.93
اللاكتوز	% 5	1.666
البروتينات	% 3.3	1.346
الاملاح	% 0.7	4.120

علما ان معدل الوزن النوعي للحليب البقري هو1.032 (1.029 – 1.034) وفي الحليب الفرز 1.036 وللقشطة المحتوية على 30 % دهن يساوي 1.000

الهدف من تقدير الوزن النوعي للحليب :

1. الكشف عن حالة الغش بالماء : حيث ان نقصان الوزن النوعي عن 1.027 دليل قاطع على اضافة ماء الى الحليب كما ان نزع الدهن من الحليب يزيد الوزن النوعي وكذلك فان اضافة المواد الصلبة سوف يزيد من الوزن النوعي للحليب .

2. كما يستفاد من تقدير الوزن النوعي في احتساب المواد الصلبة الكلية والمواد الصلبة غير الدهنية في الحليب وذلك باستعمال بعض المعادلات الخاصة .

وتقاس الكثافة على درجة حرارة 17 م ، اذ يختلف الوزن النوعي للحليب تبعا لعدة عوامل اهمها نوع وجنس الحيوان وعلى العموم فان متوسط الوزن النوعي للحليب بدرجة حرارة 17 م هو 1.032 (قراءة اللاكتوميتر هي 32) وهذه النسبة تكون للحليب الماخوذ من عدة حيوانات ، بينما تختلف هذه النسبة للحليب الماخوذ من حيوان واحد يتراوح بين 1.039 – 1.013 (قراءة اللاكتوميتر هي 19–28)

طرق تقدير الوزن النوعي:

1. استخدام المكاثيف Lactometers

2. استخدام قنينة الكثافة Pycnometer

3. استخدام ميزان وستفال Westphal balance

من اكثر الطرق شيوعا واستخدام في معامل الالبان هو استخدام اللاكتوميتر نظرا لسهولة وسرعة اجراءه ، اللاكتوميتر عبارة عن انبوبة زجاجية مدرجة تدريجا خاصا وتنتهي بالاسفل بانتفاخ به مادة ثقيلة كالزئبق او الرصاص لضمان ثبات قراءة اللاكتوميتر ، يوجد به انتفاخ اخر يطفو في الجزء العلوي عبارة عن ساق مدرجة .

أما أساس عمل المكثاف فهو ان الجسم الذي يطفو في سائل يرفع الى الاعلى بقوة مساوية لوزن السائل الذي يزيحه ذلك الجسم وعليه فان الجسم يغطس الى عمق أكثر في السائل الأقل كثافة عما هو عليه في السائل الأكثر كثافة . ان المكثاف عادة مصنوع من الزجاج ويتكون من ساق طويل ضيق متصل بجسم عبارة عن فراغ هوائي يساعده على الطوفان وينتهي الجسم بانتفاخين أحدهما صغير وهو عبارة عن قاعدة محرار والاخر كبير يحتوي ، أما على الرصاص أو على كرات زئبقية ويعمل على تغطيس المكثاف الى العمق المطلوب وطوفانه بصورة عمودية على الحليب ، اما ساق المكثاف فيحتوي على تدريجان احدهما علوي ويمثل تدريج المحرار أما السفلي فيمثل تدريج الكثافة (15–45) عادة تكون قراءة مكثاف الحليب الاعتيادي هي 32 بدرجة حرارة 60 ف .

طريقةالعمل:

1. نأخذ عينة من الحليب المراد اختبارها ورجها جيدا لمنع تكوين الفقاعات الغازية .

2. نضع عينة الحليب باحتراس على جدار اللاكتوميتر بامالته قليلا حتى لاتكون رغوة ويملئ ثلثي الاسطوانة المدرجة (السلندر) بالحليب .

3. نغمر اللاكتوميتر في الحليب الموجود في الاسطوانة المدرجة واتركه يطفو حتى يثبت ، ثم نقرأ التدريج الموازي لسطح الحليب ونظيف درجة واحدة صحيح لتعويض جذب الشد السطحي .

4. نقدر درجة الحرارة بواسطة المحرار فاذا كانت درجة حرارته اكثر من 17 م يجب اجراء تصحيح لقراءة اللاكتوميتر باحدى الطرق التالية :

أ . استخدام مسطرة ريتشموند Ritchmond

ب . نستخدم الطريقة الحسابية وذلك باضافة عشر درجات 0.1 لقراءة اللاكتوميتر لكل زيادة في درجة الحرارة .

5. تكون قراءة اللاكتوميتر بعد تعديله عبارة عن الرقم العشري الثاني والثالث من الوزن النوعي للحليب مع اضافة واحد صحيح فمثلا اذا كانت قراءة اللاكتوميتر 35 فتصبح 1.035 .

تقدير حموضة الحليب Milk acidity

تعتبر عملية تقدير حموضة الحليب من اهم فحوصات استلام الحليب في مراكز جمع الحليب وفي مصانع الالبان المختلفة ، اذ ان الحليب الطازج Fresh milk أي الناتج بعد الحلب مباشرةً يمتاز بالصفة الامفوتيرية للتفاعل ، وذلك يعود بشكل رئيسي إلى وجود البروتينات في الحليب والتي تعمل كمواد قاعدية أو حامضية تحت ظروف الحموضة الطبيعية للحليب الطازج.

توجد نوعان من الحموضة في الحليب

1. الحموضة الطبيعية Natural acidity او الحموضة الظاهرية Apparent acidity

ان حليب البقر الطازج إذا ما سحح مع قاعدة قياسية مثل هيدروكسيد الصوديوم بوجود كاشف (دليل) الفينولفثالين فان النسبة المئوية للحموضة فيه قد تتراوح بين 0.13 – 0.17 % محسوبة على أساس حامض اللاكتيك ، وتنتج الحموضة الطبيعية من المركبات الطبيعية في الحليب ومن المركبات الطبيعية هي

1. –بروتينات الحليب وخاصة الكازينات .
2. بعض الاملاح الحامضية الموجودة بشكل طبيعي في الحليب .
3. بروتينات الشرش وخاصة الالبومين .
4. ثاني أوكسيد الكربون Co2 الذي بوجود الماء يتحول إلى حامض الكاربونيك .

من الملاحظ انه كلما ارتفعت نسبة المواد الصلبة غير الدهنية في الحليب كلما ارتفعت نسبة الحموضة الطبيعية في الحليب ، بصورة عامة يعتبر معدل نسبة الحموضة الطبيعية في الحليب حوالي 0.14 % .

2. الحموضة المتطورة Developed acidity

ان الحليب بعد عملية الحلب يتعرض لعوامل التلوث المختلفة ومنها التلوث البكتيري الذي يؤدي إلى تحويل سكر اللاكتوز الموجود طبيعيا في الحليب الى حامض اللاكتيك Lactic acid مع العلم ان البكتريا المسؤولة عن هذا التخمر (التخمر اللاكتيكي) تسمى بكتريا حامض اللاكتيك

lactic acid bacteria ، ان التلوث عادة يحصل عند عدم الاعتناء بالطرق الصحية الواجب اتباعها اثناء الحلب والنقل والخزن والمعاملات التي تجري على الحليب قبل التصنيع

ان اساس تقدير الحموضة في الحليب : يعتمد على تقدير حموضة الحليب بالمعادلة أي انه اذا اضيف محلول قلوي او قاعدي الى الحليب فانه يستنفذ من هذا المحلول قدرا معين حتى يصل الى نقطة التعادل التي نتعرف عليها باحد الادلة وتدل كمية القاعدة المستعملة على حموضة الحليب بالتعادل ويعبر عنها كنسبة مئوية لحامض اللاكتيك .

اهمية تقدير الحموضة في الحليب

1. لمعرفة صلاحية الحليب لعملية البسترة والتعقيم .

2. يعتبر كدليل مهم لمدى اتباع الطرق الصحية في انتاج الحليب .

3. يعتبر من الخطوات الرئيسية اثناء العمليات التصنيعية لبعض منتجات الالبان مثل صناعة الجبن وصناعة الالبان المتخمرة .

من التغيرات التي تطرا على الحليب واسبابها

هي تغييرات تسببها بعض انواع البكتريا والاحياء الدقيقة التي يتلوث بها الحليب فتعمل على تحلل البروتين والدهن وتنتج طعوم وروائح غير مرغوبة .

توجد هناك علاقة عكسية بين الحموضة ورقم الـ ph اي انه كلما ارتفعت الحموضة يقل رقم الـ ph ، اذ ان رقم الحموضة للحليب الـ ph يساوي 6.6 عندما ينخفض هذا الرقم عن 6.6 يزداد نشاط بكتريا حامض اللاكتيك ويتحول جزء من سكر اللاكتوز الموجود في الحليب الى حامض اللاكتيك ويحدث هذا التحول عند ترك الحليب فترة من الزمن ، حيث تقوم المايكروبات الموجودة في الحليب طبيعيا بتكسير اللاكتوز وتكوين حامض اللاكتيك وهذا يسمى بالحموضة المتولدة او المتطورة .

طريقة العمل :

1. ضع بواسطة ماصة 10 مل من نموذج الحليب في دورق زجاجي نظيف وجاف .

2. اضف 3-5 قطرات من دليل الفينونفثالين الذي نسبته 0.01 .

3. اضف محلول NaOH الموجود في السحاحة قطرة قطرة وباحتراس شديد الى ان نحصل

على لون وردي فاتح دلالة على معادلة القاعدة للحامض .

4. احسب كمية القاعدة المستهلكة .

5. اعد الخطوات لغرض الحصول على قراءة ثانية واحتساب معدل القراءتين .

6. احسب مقدار الحموضة في النموذج مقدرة كحامض لاكتيك ، عن طريق المعادلة التالية :

$$\textbf{الحموضة الكلية \%} = \frac{\text{عدد مليلترات محلول NaOH} \times \text{عيارية NaOH} \times 90 \times 100}{\text{وزن العينة} \times 1000}$$

الكتلة المولية لحامض اللاكتيك في الحليب تساوي 90 غ / مول وهو الوزن المكافئ للحليب .

تقدير البروتين الكلي في الحليب

تعد طريقة فورمل من الطرق المستعملة لتقدير نسبة البروتين في الحليب ومنتجاته ومن الحقائق الثابتة ان اضافة الفورمالديهايد المتعادل للحليب تزداد حموضته بالتعادل القلوي ويرجع ذلك الى اتحاد مجاميع الالديهايد مع مجموعة الامين الموجودة في البروتين وذلك يظهر التأثير الحامضي لمجموعة الكربوكسيل وتتفاعل مع القلوي ، على ذلك فانه من المتوقع ان توجد علاقة بين نسبة البروتين ومقدار الزيادة في الحموضة الناشئة عن اضافة الفورمالديهايد . وقد امكن للكثير من الباحثين ايجاد عامل ثابت للعلاقة بين بروتين الحليب ومقدار الحموضة الناتجة من اضافة الفورمالديهايد ، الا ان هذه الطريقة تعتبر طريقة تقريب لتقدير البروتين في الحليب . وهي طريقة تسحيحية سهلة وسريعة يمكن استعمالها في التقديرات التقريبية للبروتين .

اساسها العملي : يعتمد اساسها العلمي على السلوك المتذبذب للاحماض الامينة نظرا لاحتوائها على مجموعة قاعدية واخرى حامضية وبالتالي يسلك سلوك الحامض والقاعدة ، ان اضافة الفورمالديهايد الى محلول يحتوي على البروتين فانه يرتبط بمجموعة الالفا امين NH_2 – وهي الموجودة فقط في احدى نهايتي السلسلة الببتيدية او مجاميع الامين التي تبرز من جوانب السلسلة الببتيدية (مجاميع امين اخرى) ، نتيجة لهذا الارتباط تتحرر ايونات الهيدروجين من مجموعة الامين الى المحلول فترتفع حموضة الوسط .

• ان مقدار الارتفاع في الحموضة يتناسب مع عدد مجاميع الامين فكلما كانت الحموضة اكثر دل ذلك على ارتفاع عدد من هذه المجاميع في المحلول وهذا دليل على ارتفاع كمية البروتين .

طريقة العمل :

1. ضع 10 مل من الحليب بواسطة ماصة في دورق مخروطي ويضاف اليها 1 مل من دليل الفينونفثالين (3-5) قطرات .

2. تعادل حموضة الحليب بالتنقيط بمحلول NaOH 0.1 عياري حتى يظهر اللون الوردي مع الاحتراس الشديد من زيادة القلوي عن نقطة التعادل .

3. يضاف 2 مل من محلول الفورمالين 40% الى الحليب ثم يعاير مع محلول NaOH 0.1 عياري لحين الوصول الى نفس اللون السابق .

4. يهمل حجم هيدروكسيد الصوديوم في المعايرة الاولى ، ثم يسجل حجم هيدروكسيد الصوديوم في المعايرة الثانية .

5. تعمل تجربة بلانك للمقارنة وذلك باستعمال 2 مل من الفورمالديهايد 40 % ، واضافة 10 مل من الماء المقطر مع 1 مل من دليل الفينونفثالين وتعادل بمحلول NaOH 0.1 عياري . تطرح كمية القلوي التي لزمت في التجربة المقارنة من الكمية التي لزمت معادلة الحموضة التي نتجت بعد اضافة الفورمالديهايد لعينة الحليب المتعادلة فينتج رقم فورمل .

6. تحسب نسبة البروتين والكازين في الحليب كما ياتي :

أ. % كازين (بقري) = رقم فورمل × 1.36

ب. % بروتين (بقري) = رقم فورمل × 1.67

ج. % كازين (جاموسي) = رقم فورمل × 1.42

د. % كازين (جاموسي) = رقم فورمل × 1.66

• **ان تقدير الحموضة الزائدة** يكون عن طريق تسحيحها مع قاعدة معلومة التركيز ثم تستخرج نسبة البروتين بضرب حجم القاعدة بمعامل معين .

في المرحلة الاولى من التسحيح : يتغير لون الدليل الى اللون الوردي وبهذا التسحيح نتخلص من الحموضة الطبيعية للحليب .

في المرحلة الثانية من التسحيح : يضاف الفورمالين الذي يحتوي على الفورمالديهايد فيلاحظ اختفاء اللون الوردي مما يدل على ارتفاع حموضة الحليب بسبب تحرر ايونات +H من البروتين فيجري التسحيح مرة اخرى حتى ظهور اللون الوردي من جديد .

فحوصات ثباتية الحليب

اولا : اختبار التجبن بالغليان

تلجأ كثير من مصانع الالبان الى استخدام هذا الاختبار كأساس لرفض او قبول الحليب بالاضافة الى الاختبارات الحسية الخاصة بالطعم والرائحة ، من المعروف ان الحليب يتجبن بالغليان اذا كانت حموضته حوالي 0.25 % او اكثر ولكن تختلف درجة الحموضة التي عندها يتجبن الحليب بالغليان اختلافا كبيرا ويتوقف ذلك على تركيب الاملاح الموجودة في الحليب ويجري هذا الاختبار كما يلي :

بوضع حوالي 5 مل من الحليب في انبوبة اختبار وتغمر في حمام مائي يغلي لمدة 5 دقائق ثم يلاحظ الجدار الداخلي للانبوبة فاذا وجدت قطع من الكازين المتجبن على جدار الانبوبة الداخلي دل هذا على ان الاختبار موجب ويرفض الحليب تبعا لذلك .

عادة يتجبن الحليب بالغليان في احدى الحالات التالية :

1. اذا وصلت حموضة الحليب الى 0.25 % او اكثر .
2. اذا وجد في الحليب انواع من البكتيريا التي تفرز انزيما مشابها لانزيم الرنين الذي يستخدم في تجبين الحليب عند صناعة الجبن ، وفي هذه الحالة يتجبن الحليب بالغليان رغم ان حموضته تكون عادية حوالي 0.16 % .
3. اذا كان الحليب ناتجا بعد الولادة (السرسوب) .
4. عدم توازن الاملاح في الحليب وذلك لزيادة نسبة الكالسيوم والمغنيسيوم (الموجبة الشحنة) الى نسبة املاح الفوسفات والسترات (السالبة الشحنة) .

ثانيا : اختبار التجبن بالكحول

بدا استخدام هذا الاختبار في سنة 1890 كمقياس لحموضة الحليب ويعتبر الالبومين والاملاح في الحليب من العوامل الهامة التي لها اهمية كبرى في هذا الاختبار ، لذلك فان هذا الاختبار قد لايعتمد عليه كثيرا في تحديد درجة جودة الحليب عند الاستلام في مصانع الالبان ويجري هذا

الاختبار كما يلي :

يضاف الى حوالي 2 مل من الحليب في انبوبة اختبار حجما مماثلا من كحول الايثانول قوته 68 % وترج الانبوبة جيدا بقلبها عدة مرات ثم يلاحظ تكون قطع متجبنة من الكازين على جدار الانبوبة من عدمه ، ويعتبر هذا الاختبار موجبا في حال ظهور هذه القطع المتخثرة على جدار الانبوبة وفي هذه الحالة يجب رفض استلام الحليب ويتجبن الحليب بالكحول في احدى الحالات الاربعة التي سبق ذكرها في التجبن بالغليان وان الحليب الذي يتجبن بالكحول لايتحمل عمليتي التكثيف والتعقيم اذ يتجبن اثنائهما .

ثالثا : اختبار التعكير

الغرض من هذا الفحص هو معرفة هل الحليب معامل بدرجات حرارية عالية ام لا ، الحليب الذي يباع تحت اسم الحليب المعقم يجب ان ينجح بهذا الاختبار، ويجري هذا الاختبار كما يلي خلط عينة الحليب المراد اختبارها جيدا ثم ينقل 20 مل منها الى دورق سعة 50 مل محتوية على 4 غم من كبريتات الامونيوم وترج محتويات الدورق حتى يتم ترسيب بروتينات الحليب ثم يترك الدورق بعد ذلك لمدة 5 دقائق ثم ترشح محتوياته باستخدام ورق ترشيح (رقم 12) ثم يؤخذ 5 مل من الراشح الرائق في انبوبة اختبار وتوضع الانبوبة في كاس فيه ماء مغلي وتترك لمدة 5 دقائق ثم تبرد بنقلها الى كأس به ماء بارد ثم تختبر محتويات الانبوبة من حيث التعكير او عدمه وذلك بالاستعانة بضوء مصباح كهربائي مع استخدام انبوبة مقارنة Blank التي تحضر بتسخين 20 مل من الحليب في حمام مائي على درجة الغليان لمدة 20 دقيقة بعد ان يصل الحليب الى درجة الغليان ثم تبرد الانبوبة كما سبق ذكره ، والحليب المعقم الذي لايظهر به اي علامة تعكير يعتبر فاشلا في هذا الاختبار ، اما الحليب الذي يظهر فيه التعكير فهو ناجح يعني ذلك وجود بروتينات الشرش مع الراشح والتي تترسب بفعل المعاملة الحرارية الاخيرة اما الحليب المعامل بحرارة عالية مسبقا سوف تترسب بروتينات الشرش نتيجة المعاملة الحرارية اذ انها تنفصل مع الكازين اثناء الترشيح وعليه فانه عند وضع الراشح في حمام مائي عند الاختبار فانها سوف لن تترسب لانها غير موجودة وسبق ان ترسبت مع الكازين اثناء المعاملة الحرارية السابقة وبذلك يكون الراشح غير عكر لخلوه من بروتينات الشرش اي ان الحليب سبق وان عومل بحرارة عالية .

الفحوصات البكتيرولوجية للحليب

يعتبر الحليب بيئة مناسبة جدا لتكاثر ونشاط الميكروبات عامة بما في ذلك البكتيريا المرضية وان الكثير من الميكروبات المتجرثمة لها القدرة على النمو في الحليب مع احداث الكثير من التغيرات الغير مرغوبة في الطعم والرائحة واللون التي تسبب فساد الحليب . لذلك فان دراسة ميكروبايولجية الحليب تهدف الى التاكد من خلوه من البكتيريا المرضية بالاضافة الى زيادة فترة حفظ الحليب .

اختبار المثيلين الازرق Methylene Test

يعتبر هذا الفحص طريقة سريعة وغير مباشرة تعطي فكرة تقريبية عن المحتويات المكروبيولوجية للحليب وبالتالي درجة جودته ودرجة النظافة المتعبة في انتاجه ، حيث ان هناك علاقة مابين الوقت الذي يختزل فيه المثيلين الازرق وبين محتويات الحليب المكروبيولوجية . يعتمد هذا الاختبار اساسا على ان البكتيريا تستخدم اثناء نموها في الحليب الاوكسجين الموجود فيه على حالة حرة ، وبذلك تتغير ظروف الحليب من حالة الاكسدة المعتدلة الى حالة الاختزال ويتوقف سرعة هذا التغيير على عدد البكتريا في الحليب ومعدل نموها ومقدرتها على استهلاك الاوكسجين الحر الموجود في الحليب . يمكن معرفة عدد البكتريا الحرة الموجودة في الحليب بصورة تقريبية وذلك بمعرفة الوقت الذي يحدث عندها هذ التغيير وان صبغة المثيلين تكون لونها ازرق عندما تكون تحت ظروف مؤكسدة وتصبح عديمة اللون عند ظروف الاختزال لهذا يتم استخدامها كدليل لمعرفة حدوث هذا التغيير في الحليب اي تحويله من حالة الاكسدة الى حالة الاختزال .

عيوب الاختبار : يعتمد هذا الاختبار على استهلاك الاوكسجين الحر في الحليب نتيجة نمو البكتيريا الموجودة في الحليب حتى يصل الاوكسجين في الحليب الى حد معين تختزل عنده ازرق المثيلين ، ومن الصعب معرفة عدد البكتيريا الموجودة اصلا في الحليب بواسطة هذا الاختبار لعدة اعتبارات اهمها :

1. تختلف البكتيريا الموجودة في الحليب من حيث معدل نموها .
2. الاختلاف في معدل استهلاك الاوكسجين بواسطة البكتيريا الموجودة في الحليب .
3. عدم تجانس توزيع البكتيريا الموجودة في الحليب حيث ان طبقة الكريم (الدهن) تحجز عدد كبير من البكتيريا الموجودة في الحليب .
4. الاختلاف في كمية الاوكسجين الذائب في الحليب حيث يتأثر بدرجة الحرارة ودرجة التقليب التي يتعرض لها الحليب قبل الاختبار مباشرة .
5. وجود بعض العوامل المختزلة في الحليب اولها القدرة على اختزال ازرق المثيلين ومن هذه العوامل المختزلة كريات الدم البيضاء وبعض انزيمات الحليب .

مميزات الاختبار : يمتاز اختبار ازرق المثيلين بما يلي

أ. بساطته وسهولته .
ب. يحتاج الى عدد قليل من الادوات مثل انابيب الاختبار وحمام مائي .
ج. كما انه يمتاز بالسرعة وتحديد جودة الحليب .

الحليب الردئ يختزل ازرق المثيلين في وقت قصير بينما الحليب الجيد يحتاج الى وقت طويل لاختزال ازرق المثيلين ويتوقف ذلك على البكتيريا الموجودة في الحليب .

طريقة العمل :

1. امزج جيدا عينة حليب بقلب الزجاجة عدة مرات .
2. بواسطة ماصة معقمة انقل (10) مل من الحليب في انبوبة اختبار معقمة .
3. اضف الى الانبوبة (1) مل من محلول ازرق المثيلين .
4. استبدل السدادة القطنية باخرى مطاطية معقمة ثم سجل البيانات على الانبوبة واقلبها عدة مرات لمزج الصبغة مع الحليب .
5. سجل الوقت ثم ضعها في حمام مائي على درجة حرارة 37 م بحيث يكون سطح الماء في الحمام اعلى من سطح الحليب في الانابيب .
6. لاحظ الانابيب في الحمام المائي كل نصف ساعة وسجل الوقت الذي يزول عنده لون الصبغة .
7. لسهولة التمييز بين الانابيب التي لم يتم اختزالها اي لم يتغير لونها او تغيير جزئيا او زال

لونها توضع معها في الحمام المائي انبوبة المقارنة التي تحتوي على (10) مل من خليط عينات الحليب التي نجري عليها الاختبار على ان تغمر هذه الانبوبة في ماء مغلي لبضع دقائق لايقاف فعل العوامل التي تسبب اختزال اللون ثم يضاف 1 مل من محلول ازرق المثيلين . ويلاحظ ان الوقت الذي يختزل فيه ازرق المثيلين يتناسب عكسيا مع العدد الكلي البكتيري في الحليب فكلما كان عدد البكتيريا كبير كانت الفترة اللازمة لاختزال ازرق المثيلين قصير .

يمكن تقسيم الحليب طبقا لنتيجة الاختبار حسب جودته الى ثلاث درجات على التالي .

درجة جودة الحليب	الوقت اللازم للاختزال	عدد البكتيريا في 1 مل / حليب
جيد	**اكثر من 4.5 ساعة**	**اقل من 200000**
متوسط	**من 2.5 –4.5 ساعة**	**من 200000 – مليونان**
ردئ	**اقل من 2.5 ساعة**	**اكثر من مليونان**

2. اختبار الريزازورين Resazurin Test

ظهر هذا الاختبار في المانيا سنة 1928 كطريقة بسيطة وسريعة لتدريج وتقييم جودة الحليب ، كما كان في اختبار ازرق المثيلين فانه يعتمد على اختزال لون الصبغة الى مركب عديم اللون بفعل عوامل اختزال اللون في الحليب ، ويرجع النظام المختزل اصلا الى نشاط البكتيريا الا انه توجد نظم مختزلة اخرى مثل تلك التي تنتج بواسطة الخلايا البيضاء وغيرها من الخلايا الجسمية فهي تؤثر على اختزال الصبغة ولكن بدرجة اقل نشاط .ولقد ادخلت على الاختبار الاصلي الكثير من التعديلات مثل التعديل المعروف باختبار الريزازورين لمدة عشرة دقائق .

نظرية الاختبار :

1. تجري نفس الخطوات في اختبار المثيلين الازرق 1 ، 2 ، 3، 4، 5 .

2. بعد 10 دقائق ارفع الانبوبة من الحمام المائي وقدر لون الحليب بها باستخدام صندوق مقارنة الالوان والقرص الخاص بالريزازورين مع المقارنة بانبوبة بها نفس الكمية من الحليب بدون دليل ، ويلاحظ ان درجة جودة الحليب يمكن الحكم عليها بهذا الاختبار على اساس الجدول التالي :

اللون بعد التحضين على 37 م / 10 دقائق	الرقم على القرص	درجة جودة الحليب
ازرق Blue	6	ممتاز
بنفسجي فاتح	5	جيدجدا
بنفسجي زاهي Mauve	4	جيد
وردي بنفسجي Mauve-Pink	3	متوسط
بنفسجي وردي Mauve-Pink	2	غير مقبول
وردي Pink	1	ردئ
عديم اللون Colorless	0	ردئ