جامعة البصرة

كلية الزراعة

قسم علوم الاغذية

كيمياء الالبان العملي

المرحلة الثالثة

مدرس المادة

م.م. رغد سعد موسى

الحليب Milk

الحليب هو الافراز اللبني الطازج الخالي من اللبأ والذي تم الحصول عليه بعد الحلب الكامل لبقرة واحدة او اكثر بحالة صحية جيدة بعد 5 ايام من الولادة يحتوي على البروتينات والدهون والسكريات والماء والمعادن والاملاح . يتصف الحليب الطازج بأنه حامضي بسيط ويتراوح الرقم الهيدروجيني pH له بين 6.5-6.7 وبمعدل 6.6 وتقدر نسبة الحموضة في الحليب الطبيعي بين 0.15-0.18 % مقدرة كحامض لاكتيك .

المحتوى الكيميائي للحليب

1- البروتينات proteins

وهي عبارة عن مواد نتروجينية معقدة التركيب ذات اوزان جزيئية عالية توجد بنسبة 3.5 % بالحليب تحتوي على الكاربون والهيدروجين والنيتروجين والاوكسيجين والكبريت . الوحدة البنائية الاساسية فيها هي الاحماض الامينية المرتبطة مع بعضها البعض من خلال ارتباط المجموعة الكربوكسيلية لحامض اميني بالمجموعة الامينية لحامض اميني آخر .

2- الدهون Fat

وهي عبارة عن خليط من الكلسريدات الثلاثية بنسبة 98-99 % و1-2 % من مواد دهنية اخرى متمثلة بالفوسفوليبيدات والستيرولات والكاروتينات والفيتامينات الذائبة بالدهون AEDK والاحماض الدهنية الحرة ويوجد بشكل مستحلب دهن في الماء بنسبة 3.7 % في الحليب .

3- سكر الحليب (اللاكتوز) Lactose

وهو سكر ثنائي يتكون من السكرين الاحاديين الكلوكوز والفركتوز المرتبطين مع بعضهما بواسطة الاصرة الكلايكوسيدية 1-4 β ويعد السكر الرئيسي في الحليب وتتواجد ايضا نسب ضئيلة من سكريات اخرى ويوجد بشكل محلول حقيقي بنسبة 4.9 % في الحليب .

4- المعادن والاملاح Mineral and salt

يحتوي الحليب على جميع العناصر المعدنية الضرورية للانسان والتي من ابرزها الكالسيوم كما يحتوي على الاملاح التي تتمثل بالكلوريدات والفوسفات والسترات بنسبة 0.7 % بشكل محلول حقيقي وبحالة غروية لأرتباطها بالبروتينات . تختلف الاملاح عن الرماد الذي يعرف بأنه المادة

البيضاء الناتجة عن عملية حرق الحليب حرقا كليا وان تركيب الرماد لايمثل حالة الاملاح في الحليب وذلك لحدوث تغيرات كبيرة اثناء عملية الحرق .

5- الماء Water

يشكل نسبة 87 % ويعد الوسط الذي تتوزع فيه كافة مكونات الحليب الاخرى بشكل محلول حقيقي او معلق او قد يكون مرتبط مع اللاكتوز والاملاح والبروتينات .

اسباب التغيرات في تركيب الحليب

1- التباين في تركيب الحليب الناتج عن الحلبات المختلفة : لا يتأثر الحليب بطول الفترة الزمنية مابين الحلبات عدا نسبة الدهن اذ يعطي اعلى نسبة دهن في الحليب بالفترة الزمنية القصيرة اما كمية الحليب فتتغير عكسيا مع نسبة الدهن .

2- التباين في تركيب الحليب الناتج عن ضرب الحيوان ويرتبط بالعوامل الفسيولوجية والوراثية والبيئية .

3- التباين الناتج في تركيب الحليب اثناء عملية الحلب : تزداد نسبة الدهن في الحليب اثناء عملية الحلب مما يتطلب حلب الضرع بشكل كامل للحصول على اعلى نسبة دهن .

4- التباين في تركيب الحليب من ارباع الضرع الاربعة : تعتبر ارباع الضرع الواحد وحدات انتاجية مستقلة عن بعضها البعض من الناحية الفسلجية والتشريحية والوظيفية ولكل ربع قابلية انتاجية معينة .

5- التباين في تركيب الحليب خلال مرحلة الحلب : يفرز في الايام الاولى من فترة الحلب اللبأ الذي يختلف تركيبه اختلافا كبيرا عن الحليب الطبيعي ويتميز برائحة قوية وطعم مر ولون اصفر مائل للاحمرار ويحتوي على نسبة عالية من بروتينات المناعة .

6- التباين الناتج في تركيب الحليب الناتج عن تأثير فصول السنة : تنخفض نسبة المواد الصلبة الكلية عند التغير في درجات الحرارة والذي يصحبه تغير في طبيعة الغذاء .

7- تأثير العليقة ومستوى التغذية على تركيب الحليب : ان اعطاء الحيوان غذاء يزيد عن حاجته لايؤدي الى زيادة كمية الحليب المنتج ولا تحسين نوعيته وانما زيادة وزن الحيوان اما تغذيته اقل من حاجته يؤدي الى انخفاض قابلية الانتاج .

8- تأثير درجة الحرارة المحيطة على تركيب الحليب : تتراوح افضل حرارة لأنتاج حليب ثابت التركيب بين -1 – 23 مْ للحيوانات من الاصل الاوربي .

9- تأثير الامراض على تركيب الحليب : يؤثر مرض التهاب الضرع على تركيب الحليب وينتج حليب ذو تركيب اقرب الى تركيب الدم .

10- العوامل الاخرى التي تؤثر على تركيب الحليب منها النظام الغذائي للحيوان والعمر والموسم والظروف الجوية .

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

بروتينات الحليب Milk proteins

تعرف البروتينات بأنها مركبات عضوية تتكون من الكاربون والهيدروجين والاوكسجين والنتروجين وبعضها يحتوي على الفسفور والكبريت . يعد الحليب من المصادر المهمة للبروتينات الحيوانية ، والوحدة البنائية الاساسية للبروتينات هي الاحماض الامينية التي ترتبط مع بعضها بواسطة الاواصر الببتيدية ويختلف تسلسلها في البروتينات من بروتين لأخر كما تختلف الاحماض الامينية عن الدهنية بوجود المجموعة الامينية بدلاً من ذرة الهيدروجين ، ونتيجة لوجود كل من المجموعة الامينية والمجموعة الكاربوكسيلية في الحامض الاميني لذلك فأن البروتينات تسلك سلوك امفوتيري وتعمل بدرجة قليلة عمل المحلول المنظم اذ تقاوم التغير في الرقم الهيدروجيني في الوسط وتقسم بروتينات الحليب الى قسمين:

1 -بروتينات الكازين Cassein proteins

هي مجموعة البروتينات الفسفورية والرئيسية والتي تقدر نسبتها بحوالي 80% من مجموع بروتينات الحليب والتي تترسب عند 4.6 PH .وتوجد على شكل حبيبات تدعى بالجسيمات وتنتشر هذه الجسيمات على شكل غروي وتحتوي على كميات ملحوظة من الكالسيوم وكميات قليلة من المغنسيوم والسترات ويتراوح قطرها بين (30- 300) مليمايكرون ونتيجة لصغر حجم هذه الجسيمات فأنها تظهر الحركة البروانية (أي الحركة الاهتزازية في موقعها) .وتقسم الى الفا-اس كازين(50-55) % والبيتا كازين (25-30) % والكاما كازين (3) % .

طرق فصل الكازينات

1- الترسيب الملحي Salting out

حيث تضاف كبريتات الامونيوم بمقدار 26.4 غم / 100 مل من الحليب حيث تعمل الشحنات الموجبة للملح على معادلة الشحنات السالبة للكازين مما يؤدي الى وصولها الى نقطة التعادل الكهربائي وبذلك تترسب ومن عيوب هذه الطريقة ترسب نسبة ضئيلة من بروتينات الشرش مع الكازين .

2- الترسيب الانزيمي Enzymatic precipitation

وذلك بأضافة انزيم الرنين او الانزيمات المشابه له اذ تمر عملية الترسيب بمرحلتين الاولى انزيمية تشطر بروتينات الكابا الكازين الى مكونين احدهما غير ذائب ويدعى بارا كابا كازين الحساس للكالسيوم والأخر ذائب ويحتوي على جزء كاربوهيدراتي والمرحلة الثانية كيميائية اذ يرتبط الكالسيوم بنتائج التحلل الانزيمي مكونا الخثرة وهو اصعب انواع الكازينات اذابة بالماء .

K-Casein ⟶ Para K-Casein + Glycomacropeptide

3- الفصل بالطرد المركزي الفائق Ultra centrifugation

تترسب الجسيمات الكازينية بأكملها مع محتوياها من الكالسيوم والفسفور والاملاح الاخرى وذلك بتعريض الحليب الى قوة الطرد المركزي بدرجة حرارة 37 مْ وفي هذه الطريقة تبقى نسبة من الكازين غير الجسيمي (الذائب) في الوسط دون ان تترسب وتقدر نسبتها 5-20 % من الكازين الكلي.

4- الترسيب الحامضي Acidic precipitation

تؤدي اضافة الحامض للحليب الى تحول ايونات الكالسيوم المرتبطة بالكازينات وفوسفات الكالسيوم الغروية التي تربط الكازينات مع بعضها البعض الى الحالة المتأينة وبشكل ذائب ثم تنفصل عن البروتينات التي تترسب بدورها بسبب حصول التعادل الكهربائي اي ان محصلة الشحنات الموجبة والسالبة تساوي صفرعند الرقم الهيدروجيني 4.6 نتيجة اضافة الحامض مثل HCL الذي تتعادل شحناته الموجبة مع شحنة البروتينات السالبة ويحصل التخثر .

<u>طريقة العمل :</u>

1- تؤخذ كمية من الحليب حوالي 0.5 لتر وتعدل درجة الحرارة الى 20 م

2- يضاف بالتدريج بواسطة السحاحة 1 مولاري من حامض HCl ولحين وصول ال PH الى 4.6 وباستخدام PH meter

3- يترك الحليب ساكناً لمدة ربع ساعة للحصول على أكبر كمية ممكنة من الخثرة.

4- يصفى الشرش بواسطة قطعة من قماش الململ بعد ذلك تغسل الخثرة الموجودة على القماش بماء بارد درجة حرارته 10 م وتكرر هذه العملية 3 مرات .

5- ثم تغسل الخثرة مرتين بالماء المقطر ومرتين بمزيج الايثانول والايثر البترولي بنسبة 1:1 حجم / حجم ثم يغسل مرتين بالايثر البترولي .

6- وبعد التخلص من الايثر يفرش الكازين على لوح معدني ويترك لفترة معينة ثم يجفف في فرن تحت ضغط 25 ملم زئبق بدون استعمال الحرارة ثم يوزن الكازين ويقدر وزنه كنسبة مئوية .

2- بروتينات الشرش whey proteins

وهوالجزء المتبقي من الحليب بعد إزالة الكازينات منه فاذا رسب الكازين بالحامض يطلق عليه بالشرش حامضي واذا رسب الكازين بالأنزيم يطلق عليه بالشرش الحلو وهنالك اختلافات طفيفة بين الاثنين **اذ** يمتاز الشرش الحامضي بكونه خالي من بروتينات الكازين بينما الشرش الحلو يحتوي على كمية من الاحماض الامينية كما ترتفع نسبة الكالسيوم في الشرش الحامضي مقارنة بالشرش الحلو وتشكل بروتينات الشرش حوالي ٢٠% من بروتينات الحليب وتمتاز هذه البروتينات بكونها لا تترسب بالحوامض ولا انزيم الرنين ولا الانزيمات المشابه له وهي حساسة جداً للمعاملات الحرارية حيث تعاني تغيراً في صفاتها حتى في ظروف البسترة العادية . وتمتاز بروتينات الشرش بقيمتها التغذوية وكذلك صفاتها المناعية كما تدخل في العديد من الصناعات الغذائية كما هو الحال في صناعة المرطبات والاجبان والمعجنات كبروتينات مدعمة للقيمة الغذائية.

تصنيف بروتينات الشرش

1- البيتالاكتوجلوبيولين β-lactoglobulin 2- الفالاكتاالبيومين α-lactalbumin

3- جلوبيولينات المناعة Immunoglobulins 4- اللاكتوفرين lactoferrin- (LF)

5-لاكتوبيروكسيديز Lactoperoxidase(Lp) 6-اللاسيوزايم Lysozyme

7- البيومين سيرم الدم Bovine Serum Albumin 8- عوامل نمو

فصل بروتينات الشرش

يعامل الشرش المستحصل بواسطة ملح فوسفات الصوديوم sodium hexametaphospat الى أن يصبح تركيز الملح في الشرش 0.5%ويعادل الرقم الهيدروجيني الى 3.5 ويفصل الراسب بواسطه الطرد المركزي بسرعة 5000 دورة/دقيقه لمدة15 دقيقه ثم بعد ذلك تؤخذ الطبقه الرائقة العلوية ويحتفظ بها لتقدير اللاكتوز لاحقا.أما الراسب فيوضع في كيس الديلزة للتخلص من الملح حيث يوضع الكيس داخل ماء مقطر بارد لمدة أسبوع مع أجراء عدة تبديلات للماء ثم يجمد محلول بروتينات الشرش و يجفد.

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

طرق تقدير البروتين في الحليب protein determination

تقدير البروتين الكلي Total Protein

أن مهمة المحلل الغذائي غالبا ما تنحصر في معرفة كمية البروتين الكلية للغذاء بغض النظر عن كون هذا البروتين من نوع واحد أو مزيجا ولتحقيق ذلك هناك طرق مختلفة في تحضير النموذج الغذائي للتحليل منها عملية الهرس بالهاون والطواحين وأجهزة التجنيس أو باستعمال طرق أخرى في تفكيك خلايا الأنسجة كالتجميد و الانصهار أو باستعمال مصادر اهتزازية معينه أما الاستخلاص فيتم باستعمال المحاليل المحلية المخففة او العضوية أو الماء اما التنقية فتتم بأستعمال طرق الترشيح الهلامي والتبادل الايوني والتأكد من درجة نقاوة البروتين المستخلص باستعمال طرق الهجرة الكهربائية (Electrophoresis) ومن هذه الطرق :

١- تقدير النايتروجين البروتيني Nitrogen Determination

تعتمد على كمية N_2 في النموذج وهي تفترض بأن هذه كمية من N_2 في البروتينات الأغذية هي عموما متشابهة وتبلغ(16%) و تضرب النتيجة في العامل البروتيني وهو 6.25 وتستثنى بعض المواد الأخرى مثل الألبان (6.38) والحبوب (5.7) لكي نحصل على كمية البروتين في الغذاء ومن الطرق الشائعة في تقدير النايتروجين هي :

أ- طريقة دوماس Dumas Method

تعتمد هذا الطريقة على اساس تحطيم النموذج الغذائي الممزوج مع أوكسيد النحاس على درجة حراره 750- 700C° والحصول على النايتروجين المتحرر مباشرة حيث يمكن قياس حجمه بواسطة النايتروميترNitrometer .

ب- تقدير البروتين الخام – بطريقة كلدال Kjeldahl Method

تشتمل طريقة كلدال على أكسدة المواد العضوية وهضمها بواسطة الحامض وتحويل النيتروجين إلى أمونيا تتفاعل هذه الأمونيا مع الزائد من الحامض لتكون كبريتات الأمونيوم. يحول الوسط إلى قلوي بإضافة هيدروكسيد الصوديوم وتمتص الأمونيا المتحررة في حامض البوريك وتعاير مع حامض الهيدروكلوريك القياسي.

هنالك ثلاث مراحل لتقدير البروتين بطريقة كلدال :

المرحلة الاولى : مرحلة الهضم Digestion

370-410 C

$$Protein + H_2SO_4 \longrightarrow Co_2 + H_2O + SO_2 + NH_4^+$$

$$NH_4 + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4 + H_2$$

لمرحلة الثانية : مرحلة التقطير Distilation

$$(NH_4)_2SO_4 + 2\ NaOH \longrightarrow Na_2SO_4 + 2\ NH_4OH$$

$$NH_4OH \longrightarrow NH_3 + H_2O$$

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-$$

جذر البورات او ملح البورات

لمرحلة الثالثة : مرحلة التسحيح Titration

$$NH_4^+ + H_2BO_3^- + HCl \longrightarrow NH_4Cl + H_3BO_3$$

طريقة العمل

1- يؤخذ 1غم من الحليب وينقل الى دورق كلدال سعة 100مل ويضاف الى الدورق العامل المساعد (Catalyst) وهو عبارة عن خليط من 97% كبريتات البوتاسيوم او الصوديوم مع 3% كبريتات النحاس حيث يوزن 0.8 غم منه ويضاف الى الدورق ثم يضاف 2مل من حامض الكبريتيك المركز.

2- يوضع الدورق على مصدر التسخين ويبدأ بالتسخين بصورة تدريجية الى أن تهضم معظم المادة ثم تزيد التسخين وتستمر على ذلك الى ان تتحول جميع محتويات الدورق الى مادة عديمة اللون او ازرق فاتح.

3- يبرد الدورق ويضاف له 10 مل من الماء المقطر ويغسل عنق الدورق بواسطة الماء المقطر لنزول المواد العالقة فيه واذابة المواد الصلبة أذا كانت موجودة .

4- يُجعل المحيط قاعدياً باضافة 100 مل من محلول 50 % هيدروكسيد الصوديوم ثم يتم التقطير حيث تستقبل الامونيا في 10 مل من حامض البوريك بتركيز 4% مضافاً اليه بعض قطرات من دليل المثيل

الأزرق والمثيل الأحمر وتستمر بالتقطير حتى جمع 15 مل من المتقطر في حامض البوريك وتستمر بعد ذلك بالتقطير لمدة 5 دقائق .

5- يوقف التقطير ويغسل عنق المكثف بكمية من الماء المقطر ويضاف ماء الغسيل الى حامض البوريك.

6- يسحح المتقطر مع محلول مخفف من حامض HCl تركيز 0.02 عياري لحين الوصول الى نقطة انتهاء التفاعل . ثم تطبق المعادلة التالية :

$$\text{Total } \boldsymbol{N}\% = \frac{Ml\ of\ \boldsymbol{HCl}\ for\ sample - Ml\ of\ \boldsymbol{HCl}\ for\ Blank \times \boldsymbol{N} \text{ الوزن الذري ل}}{Wt.of\ sample\ (mg)} * 100$$

$$\text{Protein\%} = \text{Total N\%} \times 6.38$$

2- الطرق الكولورومترية والسبكترومترية

تمتاز غالبية البروتينات بأظهار خاصية الأمتصاص العالي للاشعة فوق البنفسجية على طول موجي قدره 280 نانوميتر وان مقدار هذا ألامتصاص يتوقف على كمية بعض الحوامض الأمينية ذات المجاميع الحلقية مثل (التايروسين و التربتوفان و والفنيل الينين) بواسطة جهاز Spectrophotometer بينما يستعمل أطوال موجية بين (400 - 700) نانوميتر في تقدير بعض البروتينات الملونه والتي تسمى (Chromoproteins) مثل هيوكلوبين الدم .

3- الطرق اللونية لتقدير البروتين

أ- طريقة برادفورد Bradford Method

تعتمد هذه الطريقة على حقيقة أن صبغة الكوماسي بريلينت بلو Coomassie Brilliant Blue 250 توجد بلون أحمر ولكن عند ارتباطها بجزيء البروتين تتحول إلى اللون الأزرق.

ب- طريقة البايوريت Biuret Method

يعتمد أساس هذه الطريقة على أن المركبات التي تحتوي على أواصر ببتيدية Peptide Bonds عددها من أثنان أو أكثر تكون معقدا ذو لون أرجواني أو بنفسجي عندما تتحد هذه الببتيدات مع املاح النحاس في وسط قاعدي وهذا اللون يمكن قياسة بجهاز Colorimeter.

ت- طريقة الفورمالين Formaldehyde or Formalin Method

أن الحموضة الحليب تزداد عند أضافة الفورمالين له وهذه الزيادة هي ناتجة من اتحاد الفورمالين مع المجاميع الأمينيه الحرة أو المجاميع الأمينيه للاحماض الامينية القاعديه وبذلك تبقى المجاميع الكاربوسيليه وبقية المجاميع

الحامضيه مما يؤدي الى رفع حموضة الحليب لذلك هنالك علاقه بين المحتوى البروتيني وبين زيادة الحموضة الناتجه عن أضافة الفورمالين.

طريقة العمل

1- يؤخذ 10مل من الحليب بواسطة ماصة وينقل الى دورق مخروطي ثم يضاف لة 1مل من دليل الفينولنفثالين ثم يضاف 0.4 مل من محلول أوكزلات البوتاسيوم ويترك المزيج لمدة دقيقتين.

2- يعادل المزيج مع محلول 0.1 عياري هيدروكسيد البوتاسيوم لحين الوصول الى اللون الوردي.

3- يضاف للمزيج 2 مل من الفورمالين ثم يعاير مع محلول 0.1 عياري هيدروكسيد الصوديوم لحين الوصول الى نفس اللون السابق.

4- يهمل حجم هيدروكسيد الصوديوم في المعايرة الاولى ثم يسجل حجم هيدروكسيد الصوديوم اللازم للمعايرة الثانية.

5- تجري التجربه على (البلانك)Blank بأخذ 2 مل من الفورمالين ويضاف لها 10مل ماء مقطر ويضاف 1مل من دليل الفينولنفثالين ثم يعاير مع محلول 0.1 عياري هيدروكسيد الصوديوم ويسجل حجم القاعدة ثم تطبق المعادلة التالية:

$$\text{Protein \%} = \text{ml of NaOH (0.1N) for sample} - \text{ml of NaOH (0.1N) for Blank} \times 1.7$$

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

كروموتوغرافيا الورقة (Paper Chromatography (PC

وهي احدى طرق فصل المواد الكيميائية عن بعضها اعتمادا على سرعة هذه المواد التي تتحرك على طول الورقة تستعمل الورقة (شريط ورقي) كمرحلة ثابتة للفصل وهي غير مكلفة فضلا عن انها طريقة تحليلية قوية تستعمل كميات صغيرة من المواد الكيميائية .

أساس الفصل

يسمى كروموتوغرافيا الورق بالكروماتوغرافيا التقسيمية partition Chromatography وكروماتوغرافيا الامتزاز Adsorption Chromatography لأن المواد مقسمة او موزعة على طورين هما :

1- الطور المتحرك (Mobile phase) ويكون مادة سائلة عادة

2- الطور الثابت (Stationary phase) ويكون في الغالب سائل أيضاً ممتز على الألياف السليلوزية للورقة

أقسام كروماتوغرافيا الورقة

تنقسم هذه الطريقة إلى قسمين حسب اتجاه سريان المذيب على الورقة إلى :

1- الطريقة التصاعدية Ascending حيث يتجة سريان المذيب من أسفل إلى اعلي

2- الطريقة التنازلية Descending حيث يتجة سريان المذيب من أعلى إلى أسفل الورقة

أساسيات الكروماتوغرافيا الورقية

1- تفصل مكونات المخاليط على أساس اختلاف معامل التوزيع.

2- يكون الوسط المتحرك إما مذيب واحد أو خليط من المذيبات.

3- تستعمل أشرطة ورق كروماتوكرافيا.

4- يتحرك الوسط الثابت خلال الوسط المتحرك اما بالخاصيه الشعريه من مركز الدائرة إلى محيطها او بالجاذبيه الأرضية . يسمى الشكل الناتج بعد ترك الورقة لتجف كروماتوغرام اما المسافه التي يقطعها المكون على الورقة بمعامل الاعاقة (Rf) .

أنواع الورق المستعملة في الكروماتوغرافيا الورقية

1. الأوراق المشبعة بالمحاليل العضوية .
2. أوراق التبادل الأيوني.
3. أوراق كارهة للماء.
4. Whatman No.1 هذا النوع standard paper ويستخدم لفصل الحوامض الأمينه والسكريات

أختيار المذيب Choice of solvent

أن أختيار المذيب يعتمد على معامل التوزيع للمركبات بين مذيبات الطور المتحرك والثابت والمستعمل في التحليل. وعلى الباحث أجراء تجارب تمهيديه للتوصل الى معرفة المذيبات المناسبة. وأعلاها قطبيه هو الماء أما أوطأها قطبيه هو زيت البارفين. والمركبات التالية أذابتها 100% في الماء هي :

1. كحول البيوتانول المشبع بحامض الهيدروكلوريك .
2. استيل أسيتون المشبع بالماء .
3. حامض الخليك الثلجي الحاوي على (5%) من كحول الميثانول
4. اثيل - مثيل كيتون .
5. كحول الميثانول .

أما المذيبات ألاخرى فتختلف درجة ذوبانها بالماء n-butyl acetale 0.5% , Phenol 6.7%

Hexane 0.01%

ويمكن أستخدام مخاليط لهذه المذيبات لانجاح عملية الكروموتوغرافي الورق فمثلا عند فصل الاحماض الأمينة والببتيدات والفيتامينات الذائبه بالماء والمضادات الحيويه والحوامض العضويه والفلافونات يمكن أستخدام مزيج من

n-butanol + Acetic acid + Water (4+1+5 v/v)

تشخيص المركبات المفصوله

يستفاد من تقنية كروماتوغرافيا الورق في تشخيص المركبات العضوية فقط ، حيث يمكن معرفة قيمة عامل الإعاقة (f R) للمركبات ، ومن ثم مقارنته مع عامل الإعاقة للمركب القياسي (المعروف الهوية) فإذا تطابق كان المركب مماثل للمركب القياسي أي إن عامل الإعاقة(f R) هو مقياس لسرعة حركة المكون نسبة إلى الطور المتحرك ويتم قياس المسافة اعتبارا من خط الابتداء أي من مركز البقعة.

$$R_f = \frac{D_{sample}}{D_{solvent}}$$

*Distance=D المسافه التي تقطعها العينة والمذيب

في عملية الفصل نضع قليلا من المخلوط الذي نود فحصه وذلك على الجزء الثابت، ومن ثم نضع هذا الجزء الثابت في سائل يكون عبارة الجزء المتحرك. حيث يقوم السائل بالسريان اخذا معه المخلوط . بطبيعة الحال ليست كل المواد ذات نفس سرعة الحركة على الجزء الثابت وذلك يرجع إلى عاملين اثنين رئيسيين:

1- ميل المادة إلى الالتصاق بالجزء الثابت.

2 - ميل المادة إلى الذوبان في الجزء المتحرك.

إذا لم تكن المادة قابلة للذوبان في الجزء المتحرك ، أو إنها لا تلتصق بالجزء الثابت فإن عملية الفصل الكروماتوغرافي مستحيلة. وبما أن المخلوط المراد فحصه عبارة عن مواد ذات الفة كيماوية (ميل للالتصاق) مختلفة للجزء الثابت، وذات قدرة مختلفة على الذوبان في المذيبات المختلفة، فإن النتيجة تكون الفصل الفيزيائي بين المواد المكونة للمخلوط وذلك على سطح الجزء الثابت . وهكذا يمكن جمع المواد كل على حدة وفحص صفاتها وكمياتها.

خطوات العمل

1- يتم عمل خط بقلم الرصاص على ورق الترشيح على بعد 5 سم من حافة الورقة ثم ضع إشارات × على مسافات متساوية بعدد المحاليل المجهولة والتي يراد فصل مكوناتها مع كتابة اسم كل محلول أسفل هذه الإشارة

2- ارفع طرف الورقة من جهة الخط باستخدام ساق زجاجية مثلاً بحيث لا تلامس أي سطح أثناء وضع العينات عليها .

3- باستخدام ماصة (ميكروبيبيت) خذ 3 ميكروليتر من المحلول المجهول وضعه عند العلامة الخاصة به واتركها حتى تجف تماماً . كرر العملية عدة مرات لنفس المحلول مع وضع القطرات على نفس المكان .

4- كرر الخطوة الثالثة لبقية المحاليل الموجودة لديك مع التأكد من وضع كل محلول على العلامة الخاصة به .

يمكن ثني الورقة على شكل اسطوانة ثم تدبيس أطرافها . بحيث يكون الخط المرسوم باتجاه الفتحة السفلى للأسطوانة .

5- ضع المذيب في الوعاء الزجاجي على ارتفاع 3 سم من قاع الوعاء ثم ضع ورقة الفصل بحيث تكون الجهة المرسوم عندها الخط مغموسة في السائل المذيب .

6- أغلق الوعاء واتركه لمدة 12 - 14 ساعة ثم أخرج الورقة وانزع الدبابيس عنها وعلم على المنطقة التي وصل إليها السائل .

7- اترك الورقة حتى تجف تماماً ثم رش الورقة بالمحلول المظهر بواسطة رشاش ثم ضع الورقة في فرن تجفيف عند 80 م لمدة 3 دقائق

تحديد مواقع البقع المفصولة على الورقة

بعداتمام عملية الفصل سيكون من السهولة تحديد المركبات الملونه ولكون اكثر المركبات البايلوجية غير ملونه فقد استخدمت عدة طرق فيزياوية و كيميائية .

طرق تحديد البقع

الطرق الفيزيائية : تتميز الطرق الفيزياوية بأنها لا تؤثر على المركبات المفصولة حيث تبقى كما هي دون ان تتحول الى مركب اخر .

1- الفلورة

ان العديد من المركبات العضوية لها القدرة على امتصاص الاشعة فوق البنفسجية ذات الاطوال الموجية (240-260) نانومتر وبتالي يمكنها ان تشع طول موجي مرئي والذي يمكن من خلاله تحديد البقع المعتمه من خلال رسم حدود حول محيط تلك البقع .

2- النشاط الاشعاعي

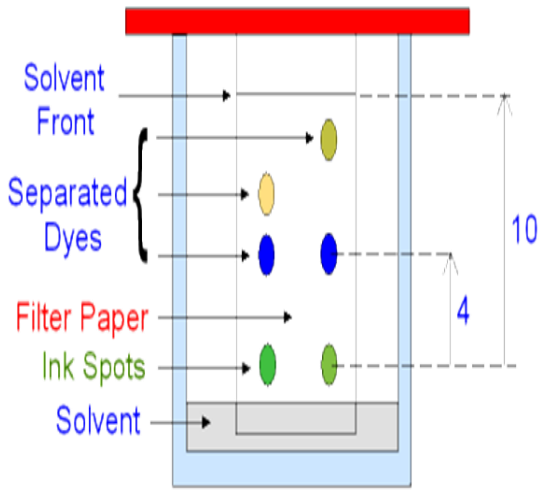
بعض البقع المفصولة تحتوي على مركبات مشعة والتي يمكن الكشف عنها بسهولة بواسطة اجهزة تحسس اشعاعية مثل عداد كايكرمللر.

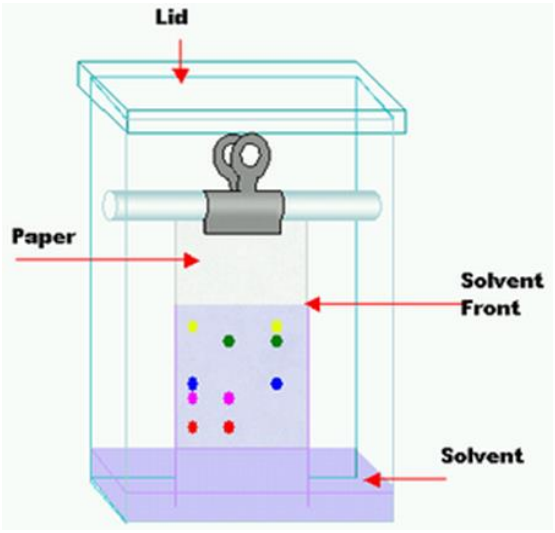
الطرق الكيمياوية

وهي الاكثر شيوعاً حيث تتحول المركبات العديمة اللون على ورقة الكروموتوغرافي الى ونواتج ملونة عند رشها بكاشف من فوهة بخاخ حيث يحدث تفاعل كيمياوي بين الكاشف والبقعة فيظهر لون مميز عن موقع وشكل البقعة . ومن الكواشف المستخدمة هي غاز كبريتيد الهيدروجين للكشف عن الايونات الفلزية و النهدرين وهو عبارة عن مادة بيضاء صلبة تذوب في مذيب مناسب كالاسيتون بتركيز 0.1-0.2 % وترش على الورقه حيث تستخدم للكشف عن مواقع الاحماض الامينية .

كما تستخدم نترات الفضة للكشف عن المواد المختزلة مثل الكلوكوز والمالتوز حيث تغمس الورقة في البداية في محلول قاعدي (NaOH 0.5 N) وبعد ذلك تغمس في محلول نترات الفضة حيث تختزل النترات على البقع المحتوية على السكر المختزل وتترسب الفضة معطية بقع قهوائية واضحه.

Paper chromatography





مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

تقدير النسبة المئوية للدهن في الحليب

تقدير الدهن Fat Determination

يعد الدهن من أهم مكونات الحليب التي تحدد درجة جودة الحليب وهو الأساس في تقدير سعر الحليب كما يتوقف عليه المنتجات اللبنية المختلفة وتختلف نسبة الدهن في الحليب باختلاف مصادره حيث تتراوح بين 3 - 4 % في الحليب البقري بينما تصل إلى 5.5- 9 % في الحليب الجاموس وانخفاضها عن هذه الأرقام قد يكون دليلا على غش الحليب.

أهمية الدهن من الناحية الغذائية

1- معرفة القيمة الغذائية للحليب حيث يعتبر دهن الحليب مصدرا ممتاز للطاقة الحرارية أضافة الى احتواءه علي الاحماض الدهنية الاساسية.

2- مصدر للفيتامينات الذائبة في الدهن مثل A,D,E,K ،

3- أن معرفة نسبة الدهن في الحليب تساعد على عمل منتجات مختلفة من الحليب .

4- يوجد دهن الحليب منتشراً في الوسط المائي في صورة مستحلب دهني.

5- يستفاد من معرفة نسبة الدهن في الحليب كل بقرة لضبط وحفظ السجلات اليومية والشهرية والتي على اساسها تحديد كمية الغذاء المعطاة للحيوانات.

طرق قياس نسبة الدهن

اولاً : الطريقه الحجميه Volumetric methods

وفيها يتم فصل الدهن بأستعمال المواد الكيمياوية كالأحماض الغير العضوية المركزة والتي تؤدي الى تشقق جدار الحبيبة الدهنية وتحرر المواد الدهنية ومن ثم قياسها حجمياً مثل طريقة بابكوك و كيربر.

1- طريقة بابكوك Babcok method:

والتي يتم فيها معاملة الحليب بكمية من حامض الكبريتيك المركز حيث تترسب بروتينات الحليب الغروية وتذوب بسرعة مع جميع المواد الأخرى كأملاح فوسفات الكالسيوم والمغنيسيوم بعد ان تجتاز نقطة التعادل الكهربائي (Isoelectric point) تاركه وراءها المواد الدهنية للصعود بسبب الفرق الكبير في كثافة الوسطين (الوسط المائي الحامضي و الوسط الدهني) وبعد ذلك تعرض القنينة ومحتوياتها الى قوة الطرد المركزي ومن ثم تقاس كمية الدهن من خلال قراءة عمود لدهن في عنق القنينة المدرجة .

ان الحرارة الناتجة من تفاعل حامض الكبريتيك المركز مع مكونات الحليب تساعد على :

- اسالة محتويات الحبيبات الدهنية
- تقليل لزوجة الوسط
- تسهيل تجمع المواد الدهنية في الطبقة العلوية من عنق بابكوك.

2- طريقة كيربر Gerber method:

أن أساس هذه الطريقة يشمل أضافة كمية محدودة من حامض كبرتيك المركز الذي يعمل على أذابة جميع مكونات الحليب غير الدهنية وتحرر المادة الدهنية عن باقي مكونات الوسط الحامض. أن الخليط الناتج يعرض لجهاز الطرد المركزي وبذلك تنفصل الطبقة الدهنية كليا وتحتل الجزء العلوي من القنينة الفحص. وتقاس كمية الدهن في قنينة كيربربأخذ القراءة مباشرة من على عنق القنينة مقدرة بالنسبة المئوية. وتتميز عن طريقة بابكوك بأضافة كمية من الكحول الاثيلي أثناء الفحص لغرض منع احتراق المواد الدهنية وبذلك تسهل قراءة عمود الدهن المتكون.

يتم تقدير نسبة الدهن باستخدام أنابيب كربر الخاصة بالحليب كما يلى:

1- يتم وضع10 مل حامض كبرتيك المركز وزنه النوعي 1.825-830 فى أنبوبة كربر.

2- تؤخذ عينة الحليب بعد تدفئتها وتقليبها لتجانسها ثم بواسطة ماصة يؤخذ 11 مل الحليب توضع على جدار الانبوبة الداخلي وفوق سطح الحامض باحتراس بحيث يتكون سطح انفصال بين الحليب والحامض.

3- يضاف **1مل** كحول الاميلي الى محتويات أنبوبة كربر ثم نجفف رقبة الأنبوبة بالقطن ثم نحكم قفلها بواسطة السدادة المطاطية الخاصة بذلك.

4- تمسك القنينة من نهايتها الرفيعة وترج بحركة دورانية لغرض مزج محتويات القنينة واذابة الخثرة المتكونة بحيث يصبح لون المحلول غامقاً .

في هذه المرحلة يجب عدم تواجد قطع بيضاء في الخليط لان ذلك يعني ضعف الحامض المستعمل او تغير كميته. كما يجب الاحتراس الشديد في هذه المرحلة من انسكاب الحامض اثناء رج القنينة .

5- توضع القنينة في جهاز الطرد المركزي وبصورة مقلوبة (الفوهة متجه نحو الاسفل والنهاية الرفيعة نحو الاعلى) ومن ثم يدار جهاز الطرد المركزي على سرعة 1100دورة / الدقيقة لمدة 4 - 5 دقائق .

6- تخرج القنينة من جهاز الطرد المركزي وتوضع في حمام مائي درجة حرارته 65 م لمدة 3 دقائق على ان يكون ساق القنينة متجها الى الأعلى .

7- تخرج القنينة من الحمام المائي ويعدل عمود الدهن في نهايتها بتحريك السداد المطاطي مستعيناً بالمفتاح الخاص حتى يصبح التقعر السفلي للدهن بمحاذات الصفر ويقرأ الرقم الذي يقابل اسفل التقعر .

ملاحظات مهمة

- ان عمود الدهن يجب ان يكون شفاف وذو لون اصفر ذهبي وخالي من المواد العالقة الظاهرة.
- ان ظهور عمود الدهن بلون فاتح او تواجد بعض القطع البيضاء في اسفل العمود دلالة على استعمال حامض ضعيف او كميات غير كافية من الحامض او ان الحليب بارد جداً عند إضافة الحامض اليه.
- ان ظهور عمود الدهن بلون غامقا او احتواءه على مواد عالقة دلالة على إضافة كميات عالية من الحامض او استعمال حامض قوي وعالي التركيز.

ثانياً : الطرق الوزنية Gravimetric methods

وفيها يتم فصل الدهن باستعمال مذيبات عضوية ومن ثم تبخير المذيب العضوي وقياس وزن المادة الدهنية المتبقية في النموذج مثل طريقة ماجونير .

طريقة ماجونير Mogonner method

تعتبر هذه الطريقة اكثر دقة لتقدير نسبة الدهن في معظم منتجات الالبان الغنية بالمادة الدهنية مثل الحليب المكثف وخليط المثلجات اللبنية والجبن والحليب المجفف.

ثالثاً : الطرق الغير مباشرة Indirect methods

وهي الطرق التي تعتمد على بعض خواص دهن الحليب الفيزياوية وأيجاد علاقة بين هذه الخواص ونسبة الدهن في الحليب مثل استعمال خاصية معامل الانكسار لدهن الحليب من محلول الايثر وغيرها مثل جهاز Milko-tester

طريقة جهاز Milko-tester

تعتبر من اسهل الطرق واسهلها حيث لا يستغرق الفحص الواحد اكثر من بضع أجزاء الدقيقة واساس الطريقة استعمال جهاز Milko-tester الذي يحتوي على عدة أجزاء للخلط وتكسير الحبيبات الدهنية ووحدة ضوئية لقياس شدة اللون .

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

بلورة سكر اللاكتوز وطرق تقديره في الحليب والجبن

سكر اللاكتوز Lactose

هو عبارة عن سكر ثنائي مختزل يتكون من جزيئة كلوكوز وجزيئة كالاكتوز ويعتبر حليب اللبائن المصدر الطبيعي الوحيد لهذا السكر حيث يتواجد بشكل محلول حقيقي وبنسبة 4.8 % من الحليب البقري . وله تأثير كبير في ثبات الضغط الازموزي ودرجة الانجماد والغليان الحليب ويمتاز بمقاومته للتحلل الحامضي مقارنة بالسكريات الأخرى وهو يتخمر بفعل البكتريا الى حامض اللاكتيك وحوامض أخرى واللاكتوز المتبلور يوجد بعدة صور منها :

1- الفا لاكتوالمائية α - Lactose hydrate

2- بيتا لاكتو اللامائية β – Lactose anhydrate

3- مزيج غير متبلور من (α وβ) ويدعى Amorphous lactose وصورة أخرى تنتج تحت ظروف تصنيعية خاصة وعملية بلورة اللاكتوز هي عملية معقدة في منتجات الالبان نتيجة لعدم نقاوة اللاكتوز في هذه المنتجات ، وتتواجد كميات أخرى قد تسبب إعاقة تكون البلورات فينتج عنها عدم انتظام شكل البلورات وتجمعها بينما تكون البلورات متجمعة بشكل منتظم في محاليل اللاكتوز النقية وتمر عملية البلورة بمرحلتين :

الاولى :عملية تكون النواة

وتتضمن تنشيط جزيئات الصغيرة غير الثابتة لغرض تكوين شكل جديد وثابت ويمكن ان يحدث ذلك نتيجة لرجة ميكانيكية او إضافة بلورات صغيرة من أنواع مرغوبة او تواجد بعض الشوائب التي تعمل كمراكز لنمو البلورات وعند زيادة تركيز المحلول يزداد احتمال تكون النوى .

الثانية : نمو النواة الى حجم اكبر

فتصبح البلورات بمرحلة نمو ويعتمد ذلك على سرعة انتقال المادة المذابة الى أوجه البلورة المتكونة وسرعة ترتيب هذه الجزيئات على أوجه البلورات.

وتعتمد سرعة نمو البلورات على درجة تشبع المحلول والمساحة السطحية المتوفرة لغرض الترسيب .ان العامل الرئيسي للسيطرة على عملية التبلورهو ضغط الترسيب (اي النسبة بين التركيز الفعلي الى قابلية الذوبان) فعندما يكون هذا الضغط عالياً وعند توفر ظروف البلورة السريعة فأن البلورات تأخذ بالنمو بشكل منشوري والتي لا تلبث ان تأخذ اشكال أخرى عند زيادة سرعة نمو البلورات .

تحضير اللاكتوز تجارياً بصورة الفا – لاكتوز مع وجود جزيئة ماء

وذلك بتركيز المحلول المائي لسكر اللاكتوز الى درجة فوق الاشباع ثم اجراء عملية البلورة على درجة حرارة اقل من 93.5 مْ وذلك للحصول على سرعة تبلور معتدلة ويساعد الاس الهيدروجيني على سرعة التبلور. حيث يعتقد ان انخفاض ال PH يؤثر على التفاعل السطحي للبلورات المتكونة بشكل الذي يزيد من سرعة التبلور وتعتمد عملية التبلور على عوامل عديدة منها :

1- لزوجة المحلول تحريكه 2- درجة حرارته 3- إضافة بعض المواد التي تشجع عملية البلورة .

طريق العمل

تؤخذ الطبقة العلوية المستحصل عليها في خطوة فصل بروتينات الشرش وتبرد الى درجة حرارة 10 م ويعدل الرقم الهيدروجيني الى 4.5 بواسطة محلول عياري من هيدروكسيد الصوديوم ويركز بالتبخير الى (1 -10) حجمه ثم تخفض درجة حرارته الى 10 م ويضاف له كمية من بلورات اللاكتوز المتكونة ثم يحفظ المحلول المركز للاكتوز بالثلاجة لمدة أسبوع، بعد ذلك تفصل البلورات المتكونة بالطرد المركزي ويتم التخلص من الطبقة العلوية الرائقة . اما الطبقة السفلية فتذوب بأقل كمية من الماء حرارته 70 م ثم يبرد المحلول الى حرارة الغرفة وتضاف له كمية من بلورات اللاكتوز ، بعد ذلك يوضع في الثلاجة لكي يتبلور المحلول ثم تتخلص من الطبقة العلوية الرائقة وتغسل البلورات المتكونة بواسطة محلول مشبع من سكر اللاكتوز ثم تجفف البلورات في فرن مفرغ على حرارة اقل من 90 م

طرق تقدير اللاكتوز في الحليب والجبن

1- طريقة الفينول

a- تحضير المنحنى القياسي : يذوب 50 غم من اللاكتوز النقي في لتر من الماء المقطر وينقل هذا المحلول الى خمسة انابيب بحجوم مختلفة وهي (0 / 0.5 / 1 / 1.5 / 2) مل ثم يكمل الحجم في كل انبوبة الى 2مل ثم يضاف الى كل انبوبة 6 قطرات من محلول 80% فينول ثم يضاف لكل انبوبة 5 مل من حامض الكبريتيك المركز حيث يظهر بعد اضافة الحامض لون قهوائي مصفر ويبقى هذا اللون لمدة ساعة واحدة ثم يتم قراءة الامتصاص لكل انبوبة على طول موجي 490 نانوميتر باستخدام جهاز Spectrophotometer ثم بعد ذلك يتم رسم المنحنى القياسي بأخذ العلاقة بين التركيز اللاكتوز والامتصاص حيث يظهر بشكل خط مستقيم .

b- تحضير العينة : يوزن(1) غم من الحليب في وعاء حجمي سعة (1) لتر ويكمل الى العلامة وترشح محتويات الدورق خلال ورقتين من أوراق الترشيح (واتمان رقم 42) للحصول على راشح رائق . اما

بالنسبة للجبن فيؤخذ (1) غم وينقل الى هاون خزفي ويضاف له (15) مل ماء ويسخن ثم ينقل الجزء الرائق منه الى دورق حجمي سعة (1) لتر و تكرر عملية السحق على المتبقي غير الرائق من الجبن الى ان تذوب تقريباً كل عينة الجبن واخيراً يغسل الهاون الخزفي وينقل ماء الغسيل الى دورق الحجمي ثم يكمل الدورق الى العلامة بالماء المقطر وترشح محتويات الدورق خلال ورق ترشيح (واتمان رقم 42) ونكتفي بكمية قليلة من الراشح بحدود (5) مل ، ثم يؤخذ (2) مل من كل نموذج من نماذج الجبن والحليب الجاهز للتقدير ويضاف له (6) قطرات من محلول 80% فينول و (5) مل من حامض H_2SO_4 المركز ، ثم يتم قراءة الامتصاص على طول موجي (490) نانومتر وبالرجوع الى المنحنى القياسي يمكن الحصول على تركيز اللاكتوز الموجودة في نموذج الحليب او الجبن .

2- طريقة الانثرون : يتفاعل الأنثرون مع جميع أنواع الكربوهيدرات ليعطي لون ازراق مثل السكريات الأحادية والثنائية والديكسترينات والنشأ والصمغ والكلايكوسينات.

a- تحضير المنحنى القياسي : تؤخذ (6) أنابيب ويضاف لكل أنبوبة حجم معين من محلول اللاكتوز الذي سبق تحضيره بحجوم (0 /1/ 2/ 3/ 4 / 5) مل ثم يكمل الحجم في كل انبوبة الى 5 مل بالماء المقطر ، بعد ذلك يضاف لكل انبوبة (15) مل من محلول الانثرون الذي يحضر بأذابة (2) غم من الانثرون وتذاب في (1) التر من محلول حامض H2SO4 المركز95% ويحضر بإضافة (1) التر من الحامض المركز الى 50 مل من الماء وتتم لإضافة بحذر مع التبريد المستمر اثناء الإضافة بعد ذلك تخلط محتويات كل انبوبة بحركة دائرية ثم يوضع في حمام مائي مغلي لمدة (3) دقائق ثم يبرد ويقاس الامتصاص لكل انبوبة على طول موجي 620 نانوميتر .

b- تحضير العينة : يؤخذ (2) غم من الحليب وينقل الى دورق حجمي سعة 100 مل ويضاف له (10) مل من الماء ثم (5) مل من محلول 5% Tri chloro acetic acid (TCA) لترسيب البروتينات ثم يخفف المحلول الى (100) مل بالماء المقطر وتخلط محتويات الدورق جيداً وترشح لفصل البروتينات المترسبة ثم يؤخذ (2) مل من الراشح ويكمل الى (100) مل بالماء المقطر ثم يؤخذ (5) مل منه ويضاف لها 10 مل من محلول الانثرون ويخلط المزيج بعد الاضافة مباشرة بحركة دائرية ثم يوضع الانبوب في حمام مائي مغلي لمدة (3) دقائق بعد ذلك يبرد ويقاس الامتصاص له على طول موجي 620 نانوميتر.

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

تأثير المنفحة والا ملاح على عملية التخثر

المنفحة

وهي المستخلص الملحي للمعدة الرابعة للعجول الرضيعة والتي توجد في الغشاء المخاطي المبطن للمعدة وتوجد على شكل سائل او مسحوق او اقراص .

تأثير انزيم الرنين على عملية تخثر الحليب

1- مرحلة التغيرات الكيميائية التي يسببها عمل الانزيم

وتشمل هذه المرحلة بشكل رئيسي على تحلل كازينات الحليب (الكابا كازين) بفعل الانزيم الى جزئين الاول غير ذائب ويدعى باراكاباكازين والاخر ذائب ويحتوي على جزء كربوهيدراتي . حيث يعمل انزيم الرنين على ضرب آصرة البروتين الوقائي (الكابا كازين) في الموقع 105-106 مسببا فتح الجزيئة الكازينية وبالتالي تكون بروتينات الحليب الحساسة جدا لأيونات الكالسيوم في تماس مباشر مع الكالسيوم مسببة ترسب الكازينات كما في المعادلة :

$$\text{K-Casein} \longrightarrow \text{Para K-Casein} + \text{(Glyco) macropeptide}$$

2- حصول التجبن في الحليب

يحدث التجبن نتيجة ترابط الجسيمات الكازينية مع بعضها البعض بسبب تحلل البروتين الواقي لهذه الكازينات ثم تترابط الكازينات بنظام معين نتيجة وجود ايونات الكالسيوم في الوسط ثم تتجمع حبيبات الدهن في وسطها لينتج التجبن الكلي .

العوامل المؤثرة على تجبن الحليب بالرنين

1- تأثير الاملاح

تضعف بعض الاملاح عمل المنفحة مثل املاح الفوسفات والسترات والكربونات وبعضها تحسن من عمل المنفحة مثل املاح الكالسيوم خاصة كلوريد الكالسيوم الموجود بالحليب بصورة ذائبة ولايمكن حدوث التخثر بدون وجود الكالسيوم ونظرا لأفتقار الحليب احيانا لهذا العنصر لذا يجب اضافة كلوريد الكالسيوم بكمية قليلة لاتتجاوز 0.05 % لتسريع عملية التخثر .

2- تأثير درجة الحرارة

اذا اضيفت المنفحة للحليب وهو مرتفع في درجة الحرارة سوف تتكون خثرة جامدة اما اذا اضيفت ودرجة الحرارة منخفضة مسوف تتكون خثرة لينة بعد فترة طويلة ، وتعد درجة الحرارة المثلى 30-35 م افضل درجة حرارية لعمل المنفحة .

3- تأثير كمية المنفحة

تؤثر كمية المنفحة على سرعة التخثر فزيادة كميتها تسرع من تخثر الحليب وتتكون خثرة جامدة متماسكة وان زيادتها عن الحد اللازم يسبب طعما مراً اما قلة كميتها فتكون خثرة ضعيفة ولينة وطرية .

4- تأثير درجة حموضة الحليب

ان الرقم الهيدروجيني المناسب لعمل المنفحة هو 6.6 فأذا انخفض عن هذا الحد ضعف تأثير المنفحة وتغلب تأثير حامض اللاكتيك وتحصل خثرة حامضية تختلف عن الخثرة المنفحية وتقصر المدة اللازمة لأتمام التجبن وتصبح الخثرة متماسكة كلما انخفض الرقم الهيدروجيني . ان الرقم الهيدروجيني الامثل للمرحلة الاولى الانزيمية هو 5.4-5.7 وعند انخفاض الرقم الهيدروجيني عن هذا الحد يعمل على زيادة ايونات الكالسيوم في الوسط مما يساعد على اتمام المرحلة الانزيمية الثانية من التجبن .

5- تأثير المعاملة الحرارية السابقة

تنخفض سرعة حدوث التجبن وصلابة الخثرة عند تسخين الحليب الى 65 م او اعلى ثم تبريده واضافة المنفحة اليه مباشرة (عند البسترة) بسبب زيادة نسبة الفقد في الدهن في الشرش عند ارتفاع الحرارة وارتفاع الرطوبة .

الاملاح وتأثيرها على عملية التخثر

تعد الاملاح الموجبة كالكالسيوم فضلا عن المغنيسيوم والصوديوم ضرورية لعملية التخثر الا ان تأثيرها ابطأ من الكالسيوم اما الاملاح السالبة الشحنة كالفوسفات والسترات والاوكزالات يكون تأثيرها عكسي اذ تعادل الشحنة الموجبة للكالسيوك وتقلل من تأثيرها ، نلاحظ ان اي عامل يساهم في زيادة الكالسيوم يزيد من سرعة التفاعل كما في الحموضة والعكس صحيح لذلك فأن الاملاح السالبة والحرارة العالية تقلل من ايونات الكالسيوم . من المعروف ان املاح الحليب بصورة عامة تكون كميتها قليلة اذ تشكل 0.7 % الا انها تلعب دورا فعالا في ثبات البروتينات كما تعتبر مهمة جدا لاحتياجات الجسم فضلا عن دورها الكبير في فعالية الانزيمات ومنها الرنين .

- ان اضافة املاح الكالسيوم والاملاح الموجبة الشحنة للحليب سوف تقلل من وقت التخثر حيث تعمل على تكون تشكيلات كبيرة مع الكازين لذلك تحتاج الى وقت اقصر لكي تعمل الانزيمات عليها . كما ان شحنة الكازينات سالبة عند الرقم الهيدروجيني الطبيعي وان اضافة ايونات الكالسيوم تعادل هذه الشحنة وبالتالي تقلل من ثباتها وتسرع عملية التخثر .
- ان اضافة الاملاح السالبة كالفوسفات تعمل على الاتحاد مع الكالسيوم وتجعلها ايونات غير حرة مما يؤدي الى عدم ترسيب البروتينات فضلا عن ان تواجد هذه الاملاح بصورة كبيرة تحدث تغير في الرقم الهيدروجيني للحليب .
- يكون تأثير السترات اكثر من الفوسفات اذ تزيد من فترة التخثر ووجودها بتراكيز عالية يزيد من فترة التخثر .
- اما املاح الاوكزالات فأنها تتسبب بأنشقاق فوسفات الكالسيوم الغروية وبالتالي انطلاق ايونات الفوسفات مما يزيد القاعدية وبالتالي انتشار الكازين وعدم ترسبه كما ان ازالة فوسفات الكالسيوم الغروية سوف تقلل من حساسية الكازينات لايونات الكالسيوم .

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

انواع الانزيمات المجبنة وتقدير قوة المنفحة

المجبنات

المنفحة عبارة عن مستخلص المعدة الرابعة للعجول الرضيعة وهي تتكون من نسبة عالية من انزيم الرنين مع نسبة واطئة من انزيم الببسين. وعند اضافة المنفحة الى الحليب يعمل الرنين على انفصال جزء من كابا كازين الحليب مما يؤدي الى اتاحة الفرصة للكالسيوم الحر الموجود في الحليب الى ترسيب الفا كايزين وبيتا كايزين الحساسة للكالسيوم وبذلك تكون الخثرة وينفصل الشرش بعد تقطيع هذه الخثرة . هناك مصادر اخرى للانزيمات المجبنة للحليب لها دور مشابه مثل انزيم الببسين والتربسين.

وقد جربت بدائل اخرى عديدة لأنتاج الاجبان المختلفة سواء كانت مصادر نباتية كانزيم Papain اوميكروبية كالأنزيم المستخلص من بكتريا Bacillusاو من فطريات Aspergillusاو Mucor او غيرها حيث اصبحت تباع في الاسواق تحت اسماء تجارية مختلفة وتسمى المنفحة المايكروبية Microbial rennet .

اهم المنفحات التجارية المتوفرة حاليا في الاسواق والميكروب المستعمل في تحضيرها وبلد المنشأ

البلد	الميكروب المستعمل	الاسم التجاي
الاتحاد السوفييتي	Bacillus mesentericus	Mecenterin
اليابان	Bacillus polymyxa	Milcozyme
جيكوسلوفاكيا	Bacillus subilis	Milrozym
امريكا	Endothia parasitica	Sure Curd
ايطاليا	Endothia parasitica	Suparen
امريكا	Mucor miehei	Narzyme
الدانمارك	Mucor miehei	Rennilase
فرنسا	Mucor miehei	Fromase
انكلترا	Mucor miehei	Rapidase
انكلترا	Mucor miehei	Hannilase
اليابان	Mucor pussilus lindt	Noury
اليابان	Mucor pussilus lindt	Meito
الاتحاد السوفيتي	Mucor spuies Renninus	Mukor

تقدير قوة المنفحة

عرف Soxhelt قوة المنفحة بانها عدد السنتمترات المكعبة في الحليب التي تتخثر في فترة 40 دقيقة بأضافة سم3 واحد من المنفحة السائلة او غرام واحد من المنفحة الجافة وعلى درجة حرارة مقدارها ٣٥م .

عملية التقدير

يستعمل 5 سم3 من المنفحة السائلة وتخفف بالماء المقطر الى 100سم3 وبعد خلطها جيدا يؤخذ بواسطة ماصة 10سم3 من هذا المحلول او ما يعادل 0.5 سم3 من المنفحة ويضاف الى 500 سم3 حليب طازج درجة حرارته 35 م بالضبط ويسجل وقت الاضافة بالثواني او يضغط على زر ساعة التوقيت لحساب الوقت اللازم لظهور بداية التخثر يتم اضافة سائل المنفحة بهدوء وعلى جدار الانبوبة ويمزج جيدا لضمان توزيع المنفحة في عينة الحليب توزيعا منتظما وبواسطة المحرار الذي يتم وضعه في العينة قبل اضافة المنفحة يحرك الحليب بأتجاه جدار الاناء لملاحظة بداية ظهور كتل صغيرة من التخثر وعندها نوقف ساعة التوقيت ويحتسب الوقت الذي استغرقته عملية التخثر.

يجب المحافظة على درجة حرارة الحليب ثابتة على 35م طيلة الفترة وذلك باستعمال حمام مائي لهذا الغرض .

ولحساب قوة المنفحة نفرض ان الحليب تخثر بفترة 5.45 دقيقة . واننا اضفنا 0.5سم3 منفحة الى 500سم3 حليب فانه يعني ان سم3 واحد من المنفحة يستطيع ان يخثر 1000سم3 حليب في نفس المدة المذكورة اعلاه .

وبهذا نستطيع ان نحسب قوة المنفحة حسب تعريف Soxhlet كما يلي :

1000 س

40 5.45

س = 7338

فان قوة المنفحة هي 7338:1

هذا يعني ان سم3 واحد من المنفحة يكفي لتخثير 7338غرام من الحليب في مدة 40 دقيقة .

ان المنفحة الجافة اقوى بكثير من المنفحة السائلة ولذلك تقدر قوتها بالطريقة التالية :

يذاب غرام واحد من المنفحة الجافة بماء مقطر ويكمل الحجم الى 200سم3 ويترك 15 دقيقة على الاقل ثم ترج جيدا ويؤخذ من المحلول 5 او 10 سم3 ويضاف الى 500 سم3 حليب درجة حرارته 35م ويحسب الوقت اللازم للتخثر بنفس الطريقة اعلاه .

وجد ان ادق النتائج هي التي عليها عندما يكون وقت تخثر الحليب في حدود 5 دقائق لذلك تضاف الكمية اللازمة من المنفحة المجففة لتعطي التخثر في هذه الحدود، وبمعرفة قوة المنفحة نستطيع ان نحسب مقدار المنفحة المطلوب اضافتها الى الحليب المتوفرلدينا المراد تصنيعه الى جبن.

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

انواع التجبنات

التجبن الانزيمي

تؤثر بعض انواع الانزيمات على بروتينات الحليب وتؤدي الى ترسيبها ومن هذه الانزيمات الببسين والتربسين وغيرها . ان تاثير هذه الانزيمات على الحليب هو تاثير كيميائي حيث يؤدي الانزيم المضاف الى فصل جزء من كابا كايزين وبذلك تفقد حبيبة الكازين قابليتها على البقاء بشكل غروي بسبب تعرض الفا كايزين الحساس لأيونات الكالسيوم الحرة الموجودة في الحليب وتكون النتيجة هي ترسيب الكازين وتكون الخثرة . ولغرض ملاحظة دور الكالسيوم الحر في عملية التخثر يجرى الاختبار الاتي :

طريقة العمل

تؤخذ عينتين من الحليب في كأس حجمي ويضاف الى العينة الاولى محلول المنفحة اما الثانية فيضاف لها كمية قليلة من اوكزالات الامونيا ثم تضفا المنفحة اليها بعد ذلك . تترك العينتين فترة من الزمن سنلاحظ ان العينة الاولى قد تخثرت في حين ان الثانية لم تتخثر . يضاف لها بعد ذلك كمية قليلة من كلوريد الكالسيوم فنلاحظ حدوث التخثر في الحال . ان اوكزالات الامونيا في العينة الثانية قد تفاعلت في البداية مع ايونات الكالسيوم لذا لم يحدث التخثر وبعد اضافة كلوريد الكالسيوم توفرت ايونات الكالسيوم مما ادى الى اتمام عملية التخثر .

التجبن الحامضي

عند ترك الحليب لفترة زمنية بدون تبريد فأن حموضته تزداد حتى تصل حدا يتخثر عندها الحليب وينفصل الشرش وكذلك نصل الى نفس النتيجة عند اضافة الحوامض المخففة الى الحليب بشكل تدريجي وهذا النوع من التخثر يسمى (التخثر الحامضي) وهو يختلف عن الانزيمي .

ان اساس التخثر الحامضي هو وصول الكازين الى نقطة التعادل الكهربائي عند الرقم الهيدروجيني 4.6 ومن صفات هذا التخثر بأنه لا انزيمي ولغرض ملاحظة ذلك عمليا يجرى الاختبار الاتي :

تؤخذ اربعة انابيب اختبار وترقم ثم توضع فيها كمية من الحليب ويضاف الى الانبوبة الاولى حامض مخفف تدريجيا ثم يقاس الرقم الهيدروجيني حتى يصل الى 5.2 او اكثر قليلا ويلاحظ التخثر في هذه المرحلة . اما الانبوبة الثانية فيضاف لها حامض مخفف حتى يصل الرقم الهيدروجيني الى 4.6 ويلاحظ التخثر . الانبوبة الثالثة يستمر اضافة الحامض المخفف حتى تذوب الخثرة المتكونة . وفي الرابعة يضاف الحامض لحين وصول الرقم الهيدروجيني الى 4.6 ومن ثم تضاف القاعدة المخففة حتى تذوب الخثرة .

الاستنتاج

- في الانبوبة الاولى يبدأ الحامض المضاف بالتفاعل مع الكازين مكونا كازينات الكالسيوم فيترسب الكازين جزئيا ولذلك فأن السائل المحيط بالخثرة يكون عكر اللون .
- في الانبوبة الثانية فأن ترسيب الكازين يكون كاملا عند نقطة التعادل الكهربائي لذا فأن السائل المحيط بالخثرة يكون رائقا .
- في الانبوبة الثالثة يحدث ذوبان جزيئات الكازين في الحامض حيث يتفاعل الكازين مع الحامض مكونا Acid Caseinate والتي تذوب بالوسط الحامضي .
- اما الانبوبة الرابعة فأن اضافة القاعدة تؤدي الى اختفاء الكازين المترسب تدريجيا حيث يعود لون الحليب الابيض الى الظهور نتيجة تكون الكازينات القاعدية والتي لها القابلية للذوبان بالماء .

التجبن الحامضي الحراري

يحدث هذا التجبن نتيجة خفض الرقم الهيدروجيني للحليب الى 5.9 اما بأضافة بكتريا حامض اللاكتيك او بأضافة حامض مخفف مثل حامض الخليك وبعد ذلك يعامل الحليب معاملة حرارية حتى يتخثر ويترسب الكازين .

طريقة العمل

تؤخذ انبوبتين اختبار ويوضع فيهما كمية قليلة من الحليب ثم يضاف الى الانبوبة الاولى كمية قليلة من البادئ وتقاس الحموضة حتى تصل الى الرقم الهيدروجيني 5.9 ثم تسخن في حمام مائي 80 م ويلاحظ ترسب الكازين .
اما الانبوبة الثانية فيضاف لها حامض الخليك المخفف حتى يصل الى الرقم الهيدروجيني 5.9 ثم تعامل حراريا ويلاحظ ترسب الكازين ايضا .

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

تقدير الكالسيوم والمغنسيوم في الحليب

يمكن فصل الاملاح والمعادن بعملية الترميد Ashing وهي عملية بسيطة اذ بالإمكان اخذ كمية من المعادن وتعريضها الى حرارة عالية للحصول على الرماد وهو عبارة عن اوكسيدات المعادن الموجودة في الحليب الا انه قد يحتوي على مواد كاربونية واوكسيدات وفوسفات قد لا تكون موجودة في المادة الاصلية نتيجة لبعض التغيرات الكيمياوية التي تصاحب عملية الاحتراق ، فبعض المركبات الفسفورية والكبريتية مشتقة من مواد بروتينية ، حيث يعتبر حامض الستريك مصدر لبعض المواد الكاربونية في الرماد ، وعليه فأن كمية الاملاح الحقيقية تختلف عن كمية الرماد المتبقية وكما هو مبين في الجدول التالي:

معدل مكونات الاملاح للحليب ورماده

ت	العنصر	الكمية كنسبة مئوية في الحليب	الكمية كنسبة مئوية في الرماد
1	البوتاسيوم	0.14	20
2	الكالسيوم	0.125	17.4
3	الكلوريد	0.103	14.5
4	الفوسفور	0.046	13.3
5	الصوديوم	0.056	7.80
6	المغنيسيوم	0.012	1.45
7	الكبريت	0.025	3.60

حيث ان للحليب القدرة على اذابة كميات قليلة من المعادن التي يلامسها ، اما النحاس والحديد والنيكل والقصدير فهي قليلة الذوبان في الحليب وتزداد هذه القدرة مع زيادة حموضة الحليب وخاصة الزنك والرصاص والالمنيوم. وتوجد في الوقت الحاضر طرق لقياس الاملاح والمعادن ولكنها ليست ببساطة عملية الترميد ، وتمتاز هذه الاملاح والمعادن بما يلي :

1- اهميتها التغذوية وخاصة الكالسيوم والفسفور ، حيث يعتبر الحليب هو المادة التي تعمل على سد النقص في هذه الاملاح ويعمل على التوازن بين هذه الاملاح في جسم الرضيع .

2- تلعب الاملاح الحليب دوراً مهماً في الثبات الحراري للبروتينات ويتم ذلك خلال التوازن الملحي للحليب Salt Balance هو عبارة عن التوازن بين القسم الفعال من ايونات الفوسفات والسترات السالبة الشحنة من جهة وبين القسم الفعال من ايونات الكالسيوم والمغنسيوم الموجبة الشحنة من جهة أخرى ، حيث تعمل ايونات الكالسيوم والمغنسيوم على عدم ثبات بروتينات الكازين تجاه الحوامض والمعاملات الحرارية بينما تساعد ايونات الفوسفات والسترات على ثبات بروتينات الكازين تجاه الحرارة والحوامض .ويمكن علاج عدم ثبات المنتوج بإضافة قليل من املاح السترات او الفوسفات حيث ان هذه الظاهرة مهمة جداً في صناعة الحليب المكثف. حيث ان فقدان هذا النوع من التوازن يتسبب في تعرض الحليب للتخثر حتى في ابسط المعاملات الحرارية كالبسترة .

3- ان زيادة املاح الحليب عن الحد الطبيعي يتسبب في نتائج غير مرغوبة كما هو الحال في الحليب المكثف حيث تحصل له عملية جلتنه .

4- تلعب بعض املاح الحليب كأيونات الكالسيوم دوراً هاماً في بعض صناعات الالبان كما هو الحال في صناعة الجبن .

5- ان لبعض الاملاح والمعادن اثار سلبية على الحليب مثل املاح النحاس والحديد التي تعتبر من العوامل المشجعة لحدوث التزنخ التأكسدي.

تعتمد معظم الطرق الموجودة لتقدير الكالسيوم على ترسيب الكالسيوم اما بصورة أوكسيد الكالسيوم او بصورة اوكزالات الكالسيوم ، فبعد الترميد الجاف يذوب الرماد ثم تضاف له اوكزالات الامونيا وترسب اوكزالات الكالسيوم اما الامونيا فتتبخر اثناء التسخين وبذلك نحصل على راسب لا يمكن مرورة خلال ورقة الترشيح ، والترسيب البطيء عامل مهم جداً للحصول على راسب حبيبي من اوكزالات الكالسيوم وبعد الحصول على الراسب هنلك طريقتين لمعاملة الراسب وهي :

a- يغسل الراسب ويجفف ويوزن ويحرق ويوزن مرة ثانية وبذلك يمكن تقدير الكالسيوم بصورة أوكسيد الكالسيوم .

b- يذوب الراسب مع حامض الكبريتيك المخفف الساخن حيث تتحول اوكزالات الكالسيوم الى حامض اوكزالنيك و من ثم يقدر حامض اوكزاليك وذلك بتسحيح مع برمنكنات البوتاسيوم.

$$CaCl_2 + (NH_4)_2C_2O_4 \longrightarrow CaC_2O_4 + 2\ NH_4Cl$$

$$CaC_2O_4 + H_2SO_4 \longrightarrow H_2C_2O_4 + CaSO_4$$

$$H_2C_2O_4 + 2K_2MnO_4 + 3\ H_2SO_4 \longrightarrow MnSO_4 + K_2SO_4 + 10\ CO_2 + 8\ H_2O$$

ان من اهم املاح الحليب هي املاح الكالسيوم حيث توجد بنسبة 120ملغم/ 100مل حليب وايونات الكالسيوم من الايونات الثنائية الشحنة وهذا التواجد يجعلها فعالها في نظام الحليب والسبب في ذلك يعود الى المعادلة التالية :

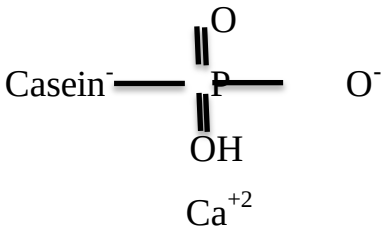
$$CaCl_2 + H_2O \longrightarrow HCl + Ca(OH)_2$$

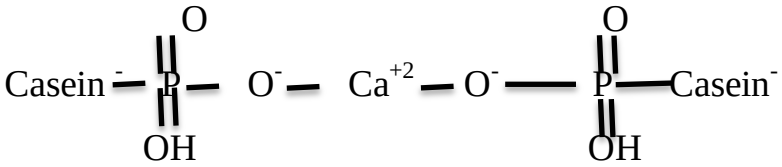
نلاحظ من نواتج هذا التفاعل ما يلي :

1- وجود الشحنات الموجبة على الكالسيوم تعمل على معادلة شحنة بروتينات الكازين السالبة مما يؤدي الى تقليل ثبات هذه البروتينات .

2- حامض HCl هو حامض قوي جدا وتأينه تام لذلك يجعل الوسط حامضي

3- ربط وحدات الكازين اذ نلاحظ ان الكازين بروتين فسفوري أي ان احتمال ارتباط الكالسيوم مع الكازين يكون وارداً وذلك لوجود الفسفور وان ارتباطه مع جسيم الكازين لا يلغي دوره حيث يمكنه ان يرتبط مع جسيمه أخرى .





مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى

التفاعلات البنية Browning Reaction

نتيجة للاستهلاك المتزايد في العالم للأغذية فقد أصبحت مسألة المحافظة على لون الغذاء الطبيعي من المسائل المهمة من قبل المستهلكين حيث ان الحصول على اللون المفضل للأغذية المصنعة اصبح تحدياً يواجه تكنولوجيا اللاغذية لذلك تجري الجهود الى التفنن في حفظ الأغذية بهدف التخلص من التفاعلات التي تؤدي الى حدوث تغيرات عديدة في طبيعة الأغذية ومن هذه التفاعلات هي التفاعلات البنية التي قد يكون البعض منها مرغوباً كما هو الحال عند تكوين الون البني للسطح الخارجي للخبز والمعجنات وكذلك عند تحميص القهوة والحبوب وشرائح اللحم والاسماك وشرائح البطاطا حيث تتكون النكهة المميزة لتلك المواد الغذائية مع تقدم عملية التفاعل البني وعلى العكس من ذلك فأن التفاعلات البنية التي تحدث للالبان اثناء البسترة او التعقيم او التجفيف اوالتي تحدث للفواكه والخضروات وغيرها من الأغذية المجففة او المجمدة تكون غير مرغوبة حيث تؤثر على جودة الأغذية وتقلل من قيمتها الغذائية ويمكن تقسيم التفاعلات البنية الى نوعين :

1- التفاعلات البنية الانزيمية Enzymetic Browning Reaction

ويحدث هذا النوع من التفاعل على سطح بعض ثمار الفواكة والخضروات كالتفاح نتيجة حدوث خدش او قطع مما يؤدي الى تكوين بقع بنية اللون وذلك بسبب تعرض المركبات الفينولية في تلك الثمار للاكسدة بواسطة اوكسجين الهواء ونتيجة لنشاط الانزيمات الفينوليز حيث تتحول المركبات تدعى Quinone التي تتكاثف مع بعضها لتكوين صبغة بنية تدعى بالميلانين Melanine.

2- لتفاعلات البنية الغير الانزيمية Non enzymetic Browning Reaction

a- تفاعلات الكرملة Caramilization

هي عبارة عن تفاعلات تحدث نتيجة تعرض السكريات الى الحرارة في وسط يحتوي على الماء او عند تسخين محاليل مركزة من السكريات مروراً بسلسلة من التفاعلات مؤدية في النهاية الى تكوين صبغة الكراميل ففي المرحلة الأولى من هذه التفاعلات تتكون السكريات المائية فمثلاً عند تسخين الكلوكوز ينتج مركب يدعى بالكلوكوزان ومركب اخر ليفو كلوكوزان ، حيث يتكرمل السكروز على درجة حرارة حوالي 200 م و يذوب على درجة حرارة 160 م وعند رفع درجات الحرارة الى 200 م تحدث سلسلة من التفاعلات وتكون على ثلاث مراحل حيث ان التسخين على 200 م ولمدة 35 دقيقة ينتج خسائر بالوزن بسبب فقدان جزيئة ماء لكل جزيئة سكروز وعند زيادة التسخين ل 55 دقيقة إضافية يزداد النقص بالوزن وتتكون صبغة تدعى بالكراميلان وهذه الصبغة تذوب بالماء والايثانول ولها وطعم مر وبعد التسخين ل 55

دقيقة إضافية أخرى يزداد النقص بالوزن بسبب فقد 8 جزيئات ماء من كل 3 جزيئات سكروز وعندها ينتج ما يسمى بالكراميلين وهذه تذوب بالماء فقط وعند الاستمرار بالتسخين تتكون صبغة غامقة اللون لا تذوب بالماء وتدعى بالهيومين تساعد في إعطاء النكهة الخاصة بالكاراميل ويمكن ان تحدث هذه التفاعلات بالحليب عند استخدام الحرارة الاعتيادية لمدة طويلة او عند استعمال المعاملات الحرارية العالية والتي يمكن ان تحدث في صناعة الحليب المعقم والمكثف والمجفف .

b- تفاعلات ميلارد Maillard reactions

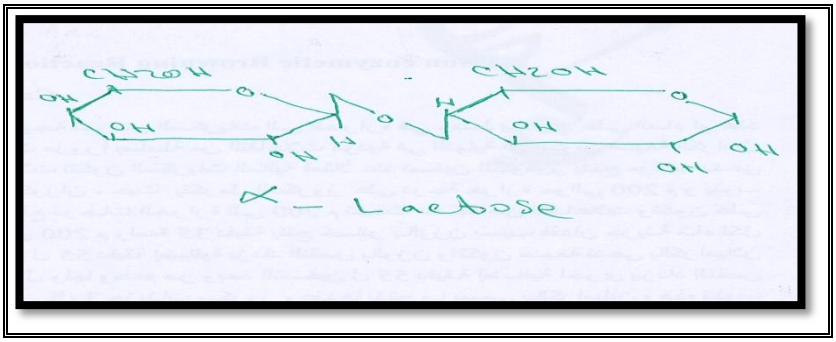
اشير الى هذا النوع من التفاعلات اول مرة من قبل العالم الفرنسي ميلارد عام 1912 م وهي سلسلة من التفاعلات تبدأ بتفاعل مجموعة الأمين الموجودة في الاحماض الامينية الحرة والاحماض الامينية القاعدية الموجودة في سلسلة البيبتيدات والبروتينات مع المجموعه المختزلة للسكريات

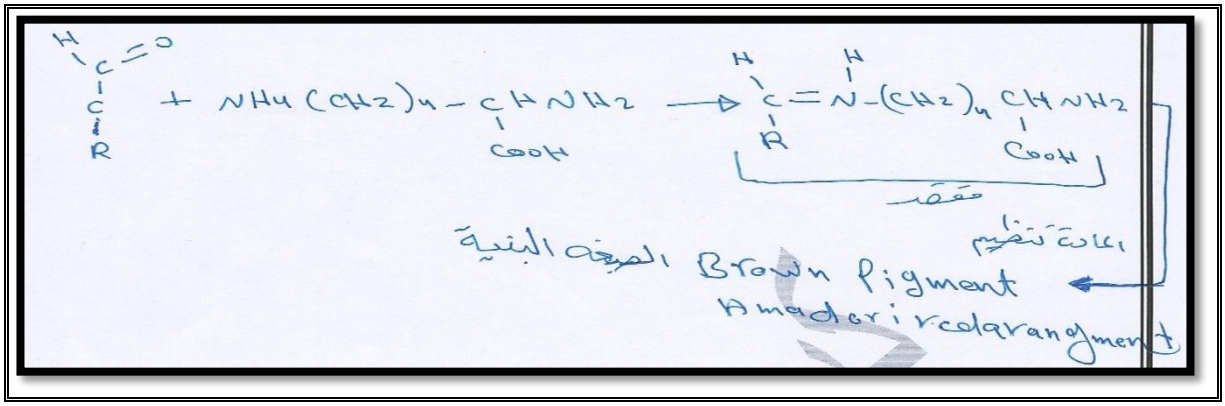
R

COOH -C- NH2

H

والتي تؤدي الى تكوين مركبات نايتروجينية بنية تدعى بالميلانويدين Melanoids والتي تتسبب في هدم السكريات المختزلة وخفض القيمة الغذائية عن طريق هدم الاحماض الامينية وخاصة حامض اللايسين الذي يعتبر من الاحماض الامينية الأساسية والذي يلعب دوراً كبيراً من الناحية الحيوية حيث ان فقدانه يتسبب نقص في القيمة الغذائية وقد وجد ان الحامض الاميني اللايسين من انشط الاحماض الامينية في تفاعلات ميلارد وخاصة عند وجود نسبة عالية من السكريات المختزلة . ففي الحليب يحدث هذا التفاعل بسبب وجود الكازين الذي يحتوي على الحامض الاميني اللايسين فعدما يكون الاس الهيدروجيني قاعدي حوالي (8) يكون تفكك الكازين بصورة أكثر مما يؤدي الى سير التفاعل بسهولة كما يحتوي الحليب على سكر اللاكتوز الذي يشترك مع الحامض الاميني اللايسين لحدوث هذه التفاعلات.





معقد اللاكتوزكازين Lactose – Casein Complex

لقد بات معروفاً لسنوات طويلة ان حموضة الحليب تزداد عند تسخينه حيث وجد الباحثون عند تسخين الحليب لمدة ساعتين على درجة حرارة 65 م او 70 م او 80 م تزداد الحموضة التسحيحية بمقدار (1-2)% حيث ان إضافة مجموعة الفورمالديهايد للبروتينات او السلاسل البيبتيديه الطويلة او الاحماض الامينية تسبب زيادة الحموضة وذلك الارتباطها مع مجاميع الأمين القاعدية الحرة وتبقى فقط المجاميع الكاربوكسيلية التي تسبب رفع حموضة الحليب حيث ان تسخين الحليب لمدة ساعتين على 90 م او 100م فأنها تزيد من كمية الفومالديهايد ونتيجة لذلك تزداد الحموضة المسححه بدرجة كبيرة كما ان الحرارة تسبب دنترة البروتينات وبتالي زيادة في مجاميع الأمين القاعدية التي تتفاعل مع اللاكتوز والفورمالديهايد . وقد تبين ال التلون البني يظهر فوق 80 م أي ان معقد اللاكتوزكازين هو المسؤول الرئيسي على التلون البني للحليب المعامل بالحرارة كما بين اخرون ان جزء من المعقد يكون غي ثابت اتجاه الحرارة كما انه يعمل كعامل مساعد لتفكك اللاكتوز بالحرارة وقد لوحظ عدة مركبات تنتج من تفكك اللاكتوز منها مركبات حامضية كحامض الفورميك والخليك وكذلك مركبات كحولية مثل الاسيتول والمانيتول ومركبات حلقية مثل هيدروكسي مثيل فور فورال .

وهنالك مجموعة من العوامل التي تساعد على سرعة تفاعلات ميلارد منها زيادة الحرارة وزيادة الرقم الهيدروجيني وكمية الاوكسجين وتركيز المواد الصلبة الكلية وخواص وتركيب الحليب والرطوبة النسبية .

مدرس مادة العملي

م . م . رغد سعد موسى