فحوصات الثبات البروتيني

وهي من فحوصات استلام الحليب المهمة في معامل الألبان عامة ومعامل انتاج الحليب المعقم والحليب المكثف المحلى خاصة . ان هذه الفحوصات يستفاد منها في تحديد درجة ثبات الحليب للمعاملات التصنيعية وخاصة الحرارية .

ان السبب في كون الحليب لا يقاوم المعاملات الحرارية أثناء التصنيع يعود إلى :

1- وجود نسبة من اللبأ (Colostrum) في الحليب المنتج في الحقل (المزرعة) .

2- إصابة الحيوان بمرض التهاب الضرع (Mastitis) .

علماً أنه في السببين أعلاه فإن نسبة بروتين الكلوبيولين تكون مرتفعة في الحليب وهذا البروتين غير مقاوم للحرارة أي انه سوف يتخثر عند التسخين .

3- عدم التوازن للأملاح في الحليب : إذ ان عدم التوازن لهذه الأملاح يؤدي إلى تغيير حموضة الحليب .

4- ارتفاع نسبة الحموضة في الحليب والتي تؤدي إلى تخثر المكونات البروتينية في الحليب .

ان السبب يعود الى كون الحموضة العالية تؤدي إلى تعادل الشحنات السالبة الموجودة على الجزيئات البروتينية في الحليب مع الشحنات الموجبة للحامض . إن هذا السبب له علاقة بما يسمى نقطة التعادل الكهربائي (Iso electric point) .

إن أهم العوامل التي تؤدي إلى إحداث تغير في الصيغة التركيبية للجزيئات البروتينية (دنترة) هي أيضاً تسمى عوامل الدنترة (Denaturing agents) ومنها :-

1- الحرارة إضافة إلى عامل الحموضة :- حيث إن الحرارة ستساعد على تسهيل مهمة الحامض في ترسيب بروتينات الحليب . كما ان الحرارة العالية تؤدي إلى تحلل بعض مكونات الحليب كسكر اللاكتوز وانتاج بعض المركبات الحامضية وخاصة حامض اللاكتيك وحامض الفورمك (Formic acid) .

2- المذيبات العضوية مثل الكحول .

3- مواد التنظيف Detergents .

4- بعض الأملاح والمركبات العضوية .

من أهم الفحوصات الممكن استعمالها لغرض التأكد من ثبات بروتينات الحليب للمعاملات التصنيعية والمعاملات الحرارية :-

أ- فحص التخثر عند الغليان Clot-on-boiling test :-

<u>الغرض منه :</u> لمعرفة صلاحية الحليب للاستعمال من حيث تطور الحموضة فيه . إن الحليب ذو الحموضة المرتفعة لا يصلح لصناعات الألبان المختلفة نظراً لتخثره عند إجراء أية معاملة حرارية .

أساس الفحص : إن بروتينات الحليب وخاصة الكازينات يمكن أن تتخثر بارتفاع نسبة الحموضة عن الحد الطبيعي (الذي يقدر بحوالي 0.14 – 0.17 %) ويمكن الاسراع في عملية التخثر بالمعاملة الحرارية (تعتبر الحرارة عامل مساعد للحموضة في عملية التخثر والاسراع بها) لأنها تساعد في تحلل الحامض .

وللسبب أعلاه فإن الحليب ذو نسبة الحموضة المتطورة والأعلى من الحد الطبيعي وغير الكافية لإحداث عملية التخثر يمكن أن يتخثر أثناء المعاملة الحرارية التي بدورها تؤدي إلى زيادة نسبة الحموضة جزئياً في الحليب .

طريقة عمل الفحص :-

1- خذ كمية من الحليب وضعه في انبوبة اختبار .

2- ضعه في حمام مائي مغلي (100 م) أو على لهب ثم اتركه لمدة خمس دقائق .

3- امزج محتويات الانبوبة ولاحظ تخثر الحليب من عدمه وافحص أيضاً عن وجود دقائق مترسبة على جدران الانبوبة .

4- في حالة عدم حصول تخثر فيعتبر الحليب ذو حموضة طبيعية وان تخثر فانه حامض وان وجدت دقائق مترسبة على الجدران فالنتيجة مشكوك بها .

ب- فحص الكحول Alcohol test :-

يجرى هذا الفحص على الحليب لمعرفة صلاحيته للاستلام في مراكز جمع الحليب وفي معامل الألبان ولهذا الفحص أهمية كبيرة لمعامل تكثيف الحليب أو تعقيمه نظراً لكون الحليب الذي يتخثر بهذا الفحص سوف لا يصلح لأغراض التكثيف أو التعقيم لأنه سوف يتخثر بدرجات الحرارة العالية المستعملة في مثل هذه الصناعة .

أساس الفحص : إن إضافة محلول كحولي (تركيزه 68 %) إلى كمية مساوية من الحليب البقري الطازج لا يسبب أي تغيير في قوام الحليب ما لم يكن حامضياً أو إن الحليب غير طازج حيث تسبب تخثر الحليب وظهور حبيبات بروتينية على جدران الإناء الحاوي على الحليب أما تأثير الكحول فهو استخلاص الماء من البروتين مما يؤدي إلى دنترة البروتين (تغيير في طبيعته) . وهنالك أسباب اخرى قد تؤدي إلى تخثر الحليب ومنها :

1- الإصابة بالتهاب الضرع .

2- وجود اللبأ أو السرسوب حيث يحوي على كميات أعلى من الأملاح .

3- تلوث الحليب ببعض الميكروبات المسببة للتخثر الحلو (Sweet curdling) والتي تفرز أنزيمات مشابهة لأنزيم الرنين مثل بكتريا *Bacillus mycoides* علماً أن هذه الأسباب تؤدي إلى إعطاء نتيجة موجبة لفحص الكحول .

طريقة عمل الفحص :-

1- ضع 3 – 5 مللتر من الحليب في انبوبة اختبار ثم أضف له كمية مساوية من الكحول .

2- اخلط محتويات الانبوبة وذلك بإمالتها عدة مرات بهدوء .

3- يجب أن تكون درجة حرارة الكحول والحليب مساوية لدرجة حرارة الغرفة .

النتيجة : موجبة في حالة وجود تكتل بشكل كبير أو متوسط أو صغير على جدران الانبوبة . سالبة في حالة عدم حصول تغير في الحليب مما يدل على ثبات الحليب تجاه الحرارة .

علماً ان وجود الكتل الكبيرة يدل على ان حموضة الحليب أكثر من 0.20 % أو على أية حالة غير طبيعية .

جـ- فحص التعكير Turbidity test :-

استعمل هذا الفحص لمعرفة فيما إذا كان الحليب معامل بدرجة حرارة عالية أم لا وخاصة درجة حرارة التعقيم . يعتمد هذا الفحص على بعض البروتينات الموجودة في الحليب وخاصة بروتينات الشرش من الأنواع α-Lactalbumin ، β-Lactoglobolin .

أساس الفحص : ان بروتينات الشرش المذكورة أعلاه تتأثر بدرجة الحرارة 66 م^{o} وأكثر حيث تتخثر وتترسب وان نسبة الترسيب تزداد مع زيادة درجة الحرارة المستعملة في المعاملة الحرارية وان هذه الظاهرة تسمى بالدنترة (Denaturation) أي تغير طبيعة الجزيئة البروتينية من الناحية التركيبية . أما الكازينات فلا تتأثر بدرجات الحرارة العالية (خاصة درجة حرارة البسترة أو التعقيم) وعلى هذا الأساس يتم فصل الكازينات عن باقي مكونات الحليب في بداية الفحص وذلك بترسيبها بطريقة التشبع الملحي salting out من خلال إضافة كمية من كبريتات الأمونيوم التي تؤدي إلى ترسيب الكازينات فقط بسبب معادلتها للشحنات السالبة الموجودة على جزيئات الكازينات ثم يجري الترشيح لغرض فصلها . أما الراشح فسوف يحتوي على بروتينات الشرش (وهي عبارة عن بروتينات ذائبة في الحليب غير المعامل بالحرارة) . وعند معاملته بحرارة الغليان فانه سوف يتعكر . وفي حالة عدم تعكره فان ذلك يعني ان الحليب تحت الفحص سبق وان تمت معاملته بالحرارة مما أدى إلى فصلها مع الكازينات أثناء الترشيح .

طريقة عمل الفحص :-

1- ضع 4 غم من كبريتات الأمونيوم النقية في وعاء مخروطي .
2- أضف لها 20 مللتر من الحليب المراد فحصه .
3- اخلطها لمدة دقيقة واحدة لغرض إذابة الكبريتات وترسيب الكازينات .
4- اترك الوعاء لمدة 5 دقائق لإكمال عملية الترسيب .
5- رشح النموذج من خلال ورق ترشيح وباستعمال قمع زجاجي .
6- اجمع الراشح في انبوبة اختبار .
7- اغمر الانبوبة في حمام مائي أو ضعها على لهب مصباح لمدة 5 دقائق .
8- افحص النموذج لمعرفة تعكير السائل المترشح أو عدم التعكير .