فحوصات اختزال الحليب

ان هذه الفحوصات هي أيضاً من فحوصات استلام الحليب . ان نشاط وعدد الأحياء المجهرية في الحليب الذي يصل مراكز جمع الحليب أو معامل الألبان يدل على درجة جودة ذلك الحليب ويحدد فيما إذا كان الحليب طازجاً أم لا .

ان الطرق المستخدمة لتقدير عدد الأحياء المجهرية في نموذج الحليب هي :-

1- الطرق المباشرة Direct methods ومنها :

أ- الطريقة القياسية للعد البكتيري standard plate count .

ب- طريقة العد البكتيري للخلايا الحية Viable count .

جـ- الطريقة المايكروسكوبية المباشرة Direct microscopic count .

ان الطرق أعلاه توضح في دروس المايكروبيولوجي وبواسطة هذه الطرق يتم تقدير وتحديد عدد الأحياء المجهرية في حجم معين من الحليب وبشكل مباشر .

2- الطرق غير المباشرة Indirect methods .

والتي تعتمد في الأساس على عدد ونوع الأحياء المجهرية المتواجدة في نموذج الحليب والتي تعطي دلالة على عمر الحليب وظروف حفظه بعد الحلب . ومن هذه الطرق :-

أ- فحص المثيلين الأزرق Methylene blue test .

ب- فحص الريزازُرين Resazurin test .

أما أساس هذه الطرق فهو :-

تعتمد على اختزال صبغة معينة بسبب وجود الأحياء المجهرية في النموذج المراد فحصه . ان هذه الفحوصات لا تعطي عدد الأحياء المجهرية في النموذج ولكنها تعطي دلالة على مدى تلوث الحليب ببعض الأحياء المجهرية ونشاطها وبذلك يتم تصنيف الحليب إلى درجات مختلفة من ناحية الجودة .

ان وجود هذه الأحياء المجهرية في الحليب يؤدي إلى استهلاك كمية الأوكسجين في الحليب بحيث تسبب مثل هذه الظروف تغيير لون بعض الصبغات الحساسة لعمليات الأكسدة والاختزال في ثبات لونها .

ان الوقت اللازم لتغيير لون مثل هذه الصبغات نتيجة لاستهلاك الأوكسجين بسبب وجود الأحياء المجهرية يتناسب تناسباً عكسياً مع عدد الأحياء المجهرية الموجودة في نموذج الحليب .

ان الأعداد الكبيرة من بكتريا *Streptococcus lactis* تسبب الاسراع في عملية اختزال لون الصبغة المستعملة ولكن معظم الأحياء المجهرية المحبة للحرارة thermophilic تعتبر غير فعالة أو مؤثرة لمثل هذه الفحوصات .

American public health association 1972 . Standard methods for the examination of dairy products . Washington D. C. U. S. A.

فحص الريزازُرين Resazurin test .

إن الريزازُرين عبارة عن صبغة زرقاء تتحول إلى مادة عديمة اللون عند اختزالها (أي إزالة الاوكسجين واضافة الهيدروجين إلى هذه الجزيئة) علماً ان اختزال هذه الصبغة يتم عبر مرحلتين :

أ- المرحلة الأولى : وفيها يتم تحويل صبغة الريزازُرين إلى رزوريوفين resorufin عبر سلسلة من الألوان وبصورة متدرجة من اللون الأزرق إلى اللون الوردي ماراً باللون البنفسجي الفاقع والبنفسجي البراق ثم البنفسجي المائل للوردي . إن التغيير في هذه المرحلة يعتبر غير عكسي .

ب- المرحلة الثانية : وتتضمن تحويل الصبغة من اللون الوردي (رزوريوفين resorufin) الى مركب عديم اللون يدعى (dihydro resorufin) . ان التغيير في هذه المرحلة يعتبر عكسياً في حالة توفر الأوكسجين .

Resazurin $\xrightarrow{-O}$ **Resorufin** $\underset{+O}{\overset{-O}{\rightleftharpoons}}$ **Dihydroresorufin**

صبغة زرقاء اللون — وردية اللون — عديمة اللون

ونظراً لوجود عوامل اخرى تؤثر على اختزال الصبغة إضافة الى عامل نشاط الأحياء المجهرية في الحليب ومنها :

1- وجود كريات البيضاء .

2- كميات الأوكسجين المذابة في الحليب .

3- تعرض الحليب إلى الضوء أثناء التفاعل .

لذا يجب حساب الوقت اللازم لاختزال الصبغة كلياً من اللون الأزرق إلى المركب عديم اللون من أجل التعرف على درجة نظافة الحليب من الناحية البكتريولوجية .

ان الجهاز المستعمل لتحديد وتثبيت نسبة الريزازرين إلى المركبات المختزلة من هذه الصبغة يدعى بجهاز المقارنة (Comparator) . ان نموذج الحليب الحاوي على الصبغة يوضع بجانب النموذج الاخر الخالي من الصبغة بحيث يوجد مصدر ضوء على الاثنين . يحتوي الجهاز على قرص معدني قابل للدوران يحتوي على خمسة قطع زجاجية ملونة ومرقمة لغرض تحريكها فوق نموذج الحليب المراد فحصه وملاحظة اللون المقارب لنموذج الحليب خلال فترة زمنية معينة أما أن تكون عشر دقائق أو ساعة أو أكثر من ذلك .

أهم فحوصات الريزازرين :

أ- الفحص السريع (فحص عشرة دقائق) : وهي طريقة سريعة جداً تتلخص بالاتي :

1- إضافة 1 مللتر من الصبغة الى 10 مللتر من الحليب الممزوج جيداً في انبوبة معقمة ومزودة بغطاء .

2- يحكم الغطاء وتقلب الانبوبة ببطء الى الأسفل ثلاث مرات .

American public health association 1972 . Standard methods for the examination of dairy products . Washington D. C. U. S. A.

3- توضع الانبوبة في حمام مائي بدرجة حرارة 37.5 م وبعد وصول درجة حرارة النموذج الى درجة حرارة الحمام المائي يتم حساب الوقت .

4- بعد عشر دقائق يفحص النموذج الموجودفي الانبوبة في جهاز المقارنة للتعرف على جودة النموذج بالاستعانة بالجدول المرفق ، حيث يتم رفض استلام الحليب اذا كانت القراءة أقل من 2.5 .

جدول رقم (1) يبين العلاقة بين نسبة الريزازرين المختزل وتطور الالوان المختلفة .

اللون	قراءة جهاز المقارنة	Resazurin %	Resorufin %	Dihydroresorufin %	جودة الحليب
أزرق	6	100	صفر	صفر	ممتاز
بنفسجي فاتح	5	80	20	صفر	جيد جداً
بنفسجي براق	4	60	40	صفر	جيد
وردي مائل للبنفسجي	3	40	60	صفر	متوسط
بنفسجي مائل للوردي	2	20	80	صفر	غير مقبول
وردي	1	صفر	100	صفر	ردئ
عديم اللون	صفر	صفر	صفر	100	مرفوض كلياً

ب- فحص الساعتين : والطريقة كالاتي :

1- يوضع 10 مللتر من الحليب المراد فحصه في انبوبة مدرجة وتغلق جيداً وتوضع في الثلاجة الى اليوم التالي .

2- يضاف لها 1 مللتر من الصبغة ويمزج جيداً .

3- توضع الانبوبة في حمام مائي بدرجة حرارة 37.5 ^{o}م ولمدة ساعتين وخلال هذه المدة تفحص الانبوبة كل نصف ساعة بواسطة جهاز مقارنة الالوان ..

4- ان النموذج الذي يتغير لونه كلياً الى عديم اللون خلال ساعتين أو أقل يعتبر مرفوضاً . أما النموذج الذي لم يتغير لونه الى عديم اللون ولكنه يصبح بين الوردي والبنفسجي فانه يعاد ثانية الى الحمام المائي ويترك لمدة نصف ساعة اخرى ثم يفحص بعد ذلك ، فاذا كانت القراءة قدرها 2 أو أقل فيعتبر النموذج مشكوك به . وعلى ضوء ذلك يتم ابلاغ المنتج لتحسين طريقة انتاج الحليب في حقله .

American public health association 1972 . Standard methods for the examination of dairy products . Washington D. C. U. S. A.