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 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** و صورة 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 بلورة اللاكتوز بمرحلتين :

1. عملية تكون النواة: وتتضمن المرحلة الأولى 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 .

2. 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 **1- درجة تشبع المحلول 2- المساحة السطحية المتوفرة لغرض الترسيب**

ان العامل الرئيسي للسيطرة على عملية التبلور :هو ضغط الترسيب (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 .

ويمكن 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 م 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 ويعد ال الاس الهيدروجيني الى 4.5 بواسطة محلول عياري من هيدروكسيد الصوديوم ويركز بالتبخير الى (1 -10) حجمه ثم تخفض درجة حرارته الى 10 م ويضاف لهو 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

أ- 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 للون 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 .

ب- 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.

أ- **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 .

ب- **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% **(TCA) Tri chloro acetic acid** 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. علاء رياض