الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة جيجل

كلية العلوم

B.C.13 2003 035

مذكرة التخرج

لنيل شهادة الدراسات العليا في البيولوجيا

فرع بيوكمياء

* الموضوع *

معايرة الكازيين و الكشف عن الفوسفوبرتينات في أنواع مختلفة من الحليب المحلي

أعضاء اللجنة :

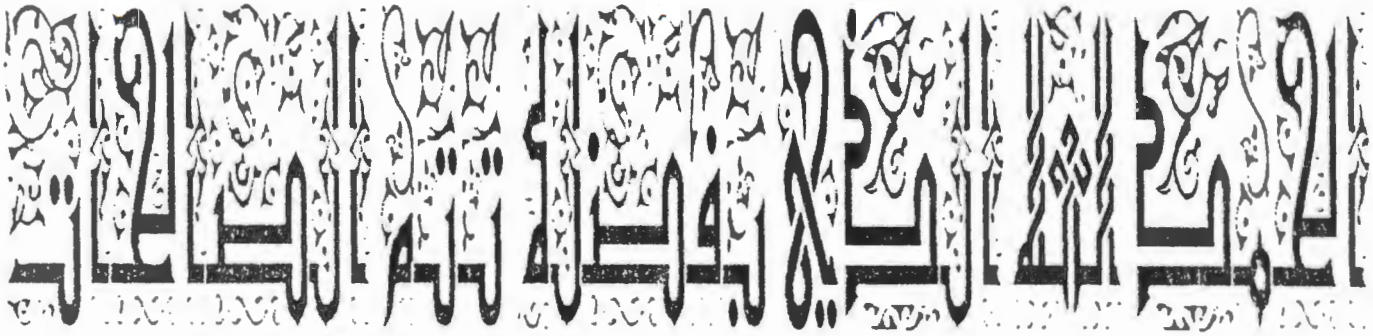
- الرئيس : كبيش محمد
- الممتحن : إيدوي الطيب
- المشرف: حنديس محمد الصادق

من إعداد الطالبات :

- فوغالية نبيلة
- سعيداني أمال
- غيشي نسيمة

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المكتبة المركزية
جامعة جيجل

دفعة 2003



تشكرات

أولا و قبل كل شيء نشكر الله عز وجل و نحمده كثيرا لأنه أمدنا بالقوة و العزم و الصبر و الشجاعة لإتمام هذا الموضوع.

و نتقدم بالشكر الجزيل و الخالص للأستاذ حنديس محمد الصادق على المساعدة الجبارة التي بذلها من إجل إتمام هذا البحث البسيط.

دون ان ننسى جميع أساتذة معهد البيولوجيا الذين قدموا لنا من خيرات هذا العلم ما يؤهلنا إلى طلب المزيد.

كما نشكر كل من ساعدنا من قريب أو بعيد لإتمام هذا العمل.

الفهرس

- المقدمة

I.التحليل النظري

– الفصل الأول: عموميات حول الحليب.

1- تعريف الحليب..... 2

2- مظهر الحليب..... 2

3- الخصائص الفيزيائية للحليب..... 2

4- الحليب المستعمل من طرف الإنسان..... 2

5- التركيب البيوكيميائي للحليب..... 3

5-1- التركيب الإجمالي..... 3

5-2- تركيب المادة الجافة 3

5-2-1- الغلوسيدات..... 3

5-2-2- المادة الذهنية..... 3

5-2-3- المادة الأزوتية..... 4

5-2-4- الأملاح المعدنية..... 4

5-2-5- المادة الملحية..... 5

5-2-6- الغازات المنحلة..... 5

5-2-7- الإنزيمات..... 5

5-2-8- الفيتامينات..... 5

5-2-9- الأصبغة..... 5

5-3- الماء المكون للحليب..... 5

6- الخواص الفيزيوكيميائية للحليب..... 6

6-1- الـ pH 6

6-2- الحموضة العيارية..... 6

6-3- الكثافة..... 6

6-4- اللزوجة..... 6

6-5- نقطة التجمد..... 6

6-6- القيمة الطاقوية..... 6

7- القيمة الغذائية للحليب..... 7

- الفصل الثاني: الجانب الميكروبيولوجي للحليب.

1- المجموعة الأصلية..... 8

2- المجموعة الملوثة..... 8

3- علاقة المكروبات بالحليب و منتجاته..... 8

- الفصل الثالث: دراسة حليب العنزة و النعجة.

1- حليب النعجة..... 9

1-1- تركيب حليب النعجة..... 9

1-1-1- الغلوسيدات..... 9

1-1-2- المادة الدهنية..... 9

1-1-3- المادة البروتينية..... 9

1-1-4- الأملاح..... 10

1-1-5- الفيتامينات..... 10

2- حليب العنزة..... 10

2-1- تركيب حليب العنزة..... 10

2-1-1- التركيب الكلي..... 10
2-1-2- مكونات المادة الجافة..... 10
- الفصل الرابع: الأطوار المميزة للحليب.
1- مصل الحليب..... 12
1-1- تعريفه..... 12
1-2- المكونات البيوكميائية لمصل الحليب..... 12
1-3- تركيب بروتينات مصل الحليب..... 13
1-4- مجالات استعمال مصل الحليب..... 14
2- الكازيين..... 15
2-1- تعريف الكازيين..... 15
2-2- تركيب الكازيين..... 15
2-3- مختلف بروتينات الكازيين..... 16
2-4- توضع جزيئات الكازيين..... 17
2-5- أنواع الكازيين..... 18
2-6- نوعية كازيين حايب النعجة و العنزة..... 19
2-6-1- كازيين حايب النعجة..... 19
2-6-2- كازيين حايب العنزة..... 19
2-7- طرق فصل كازيين الحليب..... 19
2-8- مختلف استعمالات الكازيين..... 21
II الأدوات و الطرق المستعملة.
1- الأدوات المستعملة..... 22
2- الطرق المستعملة..... 23
2-1- تقدير بروتينات كازيين الحليب..... 23
2-1-1- فصل كازيين الحليب..... 23
2-1-2- تقدير بروتين كازيين الحليب حسب طريقة بيوري..... 24
2-2- تحضير المنحنى القياسي..... 26
2-3- الكشف عن حمض الفوسفور..... 26
III النتائج
1- نتائج تقدير تراكيز بروتينات كازيين الحليب من عينات ثابتة..... 28
2- نتائج تقدير تراكيز بروتينات كازيين الحليب من عينات مختلفة..... 29
3- نتائج الكشف عن حمض الفوسفور..... 31
IV المناقشة
خلاصة عامة
المراجع

قائمة المختصرات

%	Pour Cent
Arg	Arginine
C	Degré Celsus
Cas	Caséine
Cys	Cystéine
D	Dalton
D°	Degré Dornic
DO	Densité Optique
g/l	Gramme par litre
ml	Millilitre
mn	Minute
nm	Nanomètre
pH	Potentiel hydrogene
pH i	pH isoélectrique
s	Seconde
ser	Serine
Thr	Théonime
Trp	Tryptophane
µm	Micromètre

قائمة الجداول:

الجدول رقم I : الخواص الفيزيوكمايائية للحليب..... ص06
الجدول رقم II : تركيب الحليب عند الثدييات المختلفة..... ص11
الجدول رقم III : تركيب مختلف أنواع مصل الحليب..... ص13
الجدول رقم IV : تركيب الحبيبات الغروية لكازيين الحليب..... ص16
الجدول رقم V : تراكيز الكازيين لعينات ثابتة ص28
الجدول رقم VI : تراكيز الكازيين عند مجموعة من الأبقار..... ص29
الجدول رقم VII : تراكيز الكازيين عند مجموعة من الماعز..... ص30
الجدول رقم VIII : تراكيز الكازيين عند مجموعة من النعاج ص30
الجدول رقم IX :نتائج الكشف عن حمض الفوسفور..... ص31

المقدمة

مقدمـــــة

يعتبر الحليب مادة هامة في غذاء الإنسان و الحيوان ، لما له من تركيب معقد وكامل ، مما أدى بالفزيولوجيين والكيميائيين إلى تحليل مكوناته،و محاولة معرفة الأهمية الإقتصادية و الغذائية لها، هذه الأخيرة التي تفصل عن بعضها إلى طورين حسب درجة الpHi ، حيث عند درجة الpH=4,6 تتكون خثارة الحليب والتي تمثل الكازيين الذي يفصل عن مصل الحليب . ولهذا فالمختصون في الميدان تنصب دراستهم حول كيفية الإستغلال الأمثل لكل من الكازيين ومصل الحليب في تغذية الإنسا ن والحيوان.فمصل الحليب ذو أهمية كبرى في المجال الصناعي و الزراعي إلا أنه غير مستغل بطريقة جيدة خاصة في الدول النامية بالرغم من غناه بالعناصر الضرورية للنمو، على عكس الكازيين الذي يستغل في مجالات عدة ؛هذا الأخير عبارة عن بروتينات فوسفورية والتي هي مركبات ضرورية لنمو وحياة الكائن الحي، مما يستوجب علينا تزويده بصفة مستمرة ومنتظمة بكميات كافية منها .

ومن أجل معرفة من بين مصادر الحليب الموجهة للإستهلاك المحلي أيها يحتوي على كميات كبيرة من هذه المركبات (الكازيين و البروتينات الفوسفورية) ، قمنا بدراستنا على ثلاثة أنواع حيوانية محلية كمصدر لهذه المركبات.

ولتحقيق ذلك قسمنا دراستنا إلى قسمين :

- **قسم نظري**: نتعرض من خلاله للدراسات السابقة في هذا المجال، والتي افتتحناها بعموميات حول الحليب وتركيبه ثم مكروبيولوجية الحليب ، أطوار الحليب ؛ مصل الحليب والكازيين و مجالات استعمال الكازيين.

- **قسم تطبيقي**: قمنا به على عينات حيوانية محلية، يعتمد عليها كمصدر لهذه العناصر الأساسية وقمنا في هذا الجزء بإنجاز تجارب تم من خلالها فصل الكازيين و تقدير كميته ، والكشف عن البروتينات الفوسفورية في حليب هذه الأنواع الحيوانية .

التحليل النظري

الفصل الأول
عموميات حول الحليب

1- تعريف الحليب:

الحليب هو المركب المفرز من طرف الغد د اللبنية للثدييات العادية،المتحصل عليه بعملية الحلب ، دون إضافة أو نزع لأي مركب . [2]

عرف الحليب الموجه لتغدية الإنسان سنة 1980 من طرف المؤتمر العالمي لمكافحة الغش الغذائي على أنه:<< مادة كاملة، نتحصل عليه من الأنثى عند الثدييات الحلوبة ،التي تتميز بصحة جيدة وذا ت تغذية كاملة،وغير مرهقة ، كذلك يجب أن نحصل على الحليب في حالة نظيفة وخالي من اللبا >> .[25]

يوجد في الطبيعة أكثر من 2000 نوع من الثدييات< من ا لفأرإلى البالين مرورا بالإنسان> .[07]

بدون الإشارة إلى النوع الحيواني لمصدر الحليب ، فالمقصود به هو حليب البقر.

2- مظهر الحليب :

يظهر الحليب كسائل عتيم ، ذو تركيب معقد ،أبيض داكن ،غالبا ما يميل إلى الصفرة ، وذلك حسب محتواه من الβ - كاروتين للمادة الدهنية ،ذوقه عذ ب و رائحته خفيفة ، لكنها مميزة له ومعروفة.[2]

ولعلف الحيوان والأدوية التي قد يعالج بها الأثر الكبير على إنتاج حليب ذو رائحة غريبة . لزوجته ضعيفة حيث أنه في الحالة العادية يكون مائعا ؛ وتزداد نتيجة الإصابة ببعض الأحياء الدقيقة.[15]

3 –الخصائص الفيزيائية للحليب:

من الناحية الفيزيائية، فإن الحليب يتكون من نظام معقد،عبارة عن معلق غروي للجزيئات ،منتشرة في طور سائل ، هذه الجزيئات عبارة عن كريا ت للمادة الدهنية، (قطرها يتراوح بين1µm و 8µm،من جهة، وكتل بروتينية (ذات قطر 1 µm) من جهة أخرى . تتشكل نتيجة لقوى التجاذب بين الكازيين وبروتينات أخرى فيما بينها،ومع الأملاح الموجودة في الطور السائل ؛ وهي الجزيئات المسؤولة عن القوام consistance و المظهر الداكن والصبغة البيضاء للحليب . هذه الأخيرة ناتجة أساسا عن إنعكاس الضوء في الكتل البروتينية . [2]

4- الحليب المستعمل من طرف الإنسان:

أهم أنواع الحليب المستهلكة من طرف الإنسان :الأتان ، النعجة ، أنثى الجاموس ،الناقة العنزة،الناقة وحيدة السنام ،الفرس ، البقر وحمار الزرد .[09]

لكن الإنتاج الحليبي لبعض الأنواع الحيوانية فقط لديه أهمية مباشرة في تغذية الإنسان ، حتى و لو كانت لباقي الأنواع الحيوانية نوعية غذائية ممتازة . [17]

5- التركيب البيوكيميائي للحليب:

5-1- التركيب الإجمالي:

التركيب الإجمالي للحليب ، لا يظهر سوى الفئات الكبرى لمكونات الحليب، والقيم المعطاة هي قيم وسطى.

فالمكونات الأساسية للحليب هي : الماء بمقدار 902 g/l؛ أما المادة الجافة فتمثل 130 g/l.[2]

5-2- تركيب المادة الجافة :

يزن لتر واحد من حليب البقر 1032 g [9]

5-2-1-الغلوسيدات: 49 g/l

السكر الرئيسي المكون للحليب هو اللاكتوز؛ سكر ثنائي ، يتكون من اتحاد جزيئة جلوكوز وجزيئة جلاكتوز . (β- galactosido(1→ 4) glucose) . يملك اللاكتوز قدرة تحلية ضعيفة مقارنة بتلك التي نجدها عند السكروزوالجلوكوز . [3]

يهدم اللاكتوز بعد الإماهة في وجود إنزيم اللاكتاز(*LACTASE*)على مستوى الأمعاء الدقيقة .

عند الثدييات ، إنتاج اللاكتاز يتوقف بين الفطم وسن المراهقة ، حيث أن وجود اللاكتاز عندالإنسان ناتج عن تكيف ظهر مع تآلف الماشية. ولا يظهر بصفة عامة سوى عند الشعوب الأ صلية لأروبا الشمالية . الأشخاص الذين لا يملكون بصفة كافية هذا الإنزيم ، ليس لهم القدرة على هضم اللاكتوز فيسبب لهم بذلك اظطرابات معوية . [2]

اللاكتوز سكر قابل للتخمر ، يهدم إلى حمض اللاكتيك بواسطة البكتيريا اللبنية

(lactobacilles et streptocoques) . الذي يسبب هبوط في قيمة الـ pH للحليب ،مؤد يا إلى تخثره .

هذه الخثارة تستعمل لصناعة الجبن و الحليب المخمر laits fermentés . [2]

5-2-2- المادة الدهنية :39 g/l

نسبتها تتغيرحسب ظروف التغذية والتربية ، توجد في الحليب على شكل كريات دهنية (ذات قطرمن 1 إ لى 8 µm).[2] تشكل مستحلب في الطور السائل ،نسبتها تتغير(حوا لي 10 مليار كرية في الملليتر الواحد) .

هذه المادة الدهنية تتشكل أساسا من مركبات ليبيدية (5 , 99 %) ، وجه الشبه مع الليبيدات ، وجود الأحماض الدهنية ا لتي تمثل(90 %) من كتلة الغليسريدات؛فهي إذن مركبات أساسية للمادة الدهنية .[2]

توجد الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة عند الحيوانات المجترة بنسبة كبيرة، تأتي من التخمر اللاهوائي للسكريات مثل: السيليلوز، بواسطة الأحياء الدقيقة الموجودة في الجهاز الهضمي للحيوانات[2].

5-2-3-المادة الازوتية la matiére azotée: 33 g/l .

نميز مجموعتين من المواد الازوتية في الحليب : البروتينات والمواد الازوتية غير البروتينية.

1-البروتينات (32.7 g/l) . من بين هذه البروتينات :

- الكازيين(80 %)
- البروتينات الذائبة :(الالبومين و الغلوبيولين) 19%
- البروتينات المختلفة (الإنزيمات) : 1 % .[17]

يمثل الحليب بالنسبة للإنسان مصدرا مهما للبروتينات خاصة بالنسبة للأطفال .و محتواه من حيث البروتينات هو ميزة أساسية لقيمته في السوق ، تمثل هذه البروتينات طورين مختلفتين هما :

- طور غير ثابت : يتكون من جزيئات صلبة في شكل معلق ، ينشر الضوء و يشارك مع الحبيبات الدهنية في إعطاء الحليب ،مظهره الأبيض العاتم ، ويمثل هذا الطور" الكازيين "
- طور ثابت ذائب : مكونا مختلف البروتينات الذائبة أو " بروتينات مصل الحليب.

يوجد الكازيين في الحليب ، على شكل مركب لمختلف أنواع الكازيين مرتبطة مع فوسفات الكالسيوم في شكل حبيبات غروية" colloidal " $Ca_3 (PO_4)_2$.

هذه البروتينات التي تحتوي على مجموعات وظيفية حمضية ومجموعات أمينية ، ذات خصائص قاعدية حساسة ل pH الوسط .

تحميض الوسط في درجة ال pH = 4, 6 ، يؤدي إلى تخثرهذه البروتينات التي تفصل عن الطور السائل . [2]

5-2-4:الأملاح المعدنية :

لا تشكل سوى جزء صغير من المادة الجافة ، لكنها تمثل مصدرا مهما من حيث محتواها من الكالسيوم (1.25 g/l)، الفوسفور (1g/l) التي تعتبر جد عالية مقارنة بنسبتها في الدم ، والنسبة 3/2 من كل من الملحين توجد على شكل غروي.

يعتبر الحليب مصدر مهم للكالسيوم في تغذية الإنسان ، فهو ضروري لبناء الهيكل العظمي والأسنان

يحتوي الحليب على(1.5 g/l) بوتاسيوم وهي ثلاثة أضعاف الصوديوم (0.5 g/l) . [2]

5 - 2 - 5- المادة الملحية :

معظمها تهدم أوتخرب خلال التزنخ ، تتكون من أملا ح معدنية وعضوية مثل الكلورير الذي يتطاير ، الفوسفات الذي يتحول إلى حمض الفوسفوريك و السترات الذي يختفي . [07]

5-2-6-الغازات المنحلة :(حوالي 5 %) .

يحتوي الحليب على غازات منحلة خاصة ثاني أوكسيد الكاربون (CO_2) ، ثنائي الازوت (N_2)

و ثنائي الأوكسجين (O_2) . [22]

5-2-7- الإنزيمات:

كجميع مكونات الحليب ، فإن إنزيماته كذلك تركب ابتداءا من مكونات الدم. أهم إ نزيمات الحليب هي: catalase ,lipase , peroxydase, phosphatase alcaline , protease ,lysosymes [14]

5 -2-8- الفيتامينات:

تركب بعض الفيتامينات على مستوى كرش الحيوانات المجترة ، من طرف أحياء دقيقة مثل:

1- فيتامين k أو phytominadione أو phylloquinone .

2- فيتامينات المجموعة B:

B2(riboflavine),B1(thiamine),B12(cyanocobalamine),B6(pyridoxine),

B9(acide folique), B5(acide pantothénique),

لكن الفيتامينات التي لاتركب في كرش المجترات فهي :

vitamine C(acide ascorbique),vitamineA(retinol),vitamine D(calciférol) ,vitamine E

تتكون كلها على مستوى أنسجة الجسم . [12]

5-2-9-الأصبغة :أهمها الβ-carotène [22]

5-3-الماء المكون للحليب :

عبارة عن سائل فيه تكون كل العناصر المذكورة سلفا على شكل معلق و منحلة ، هذا الماء يكون 90 % من الحليب . [07]

6-الخواص الفيزيوكيميائية للحليب :

يظهر الحليب خواص مرتبطة بطبيعته البيولوجية : التغير،التعقيد ،عدم التجانس و التبدل . [17]

6-1-ال pH :

قيمة pH حليب البقر الطازج يكون أقل بقليل من الpH المعتدل بين 6,6 و6,7، لكن تحت تأثير بكتيريا الحليب،فإن جزء من لاكتوز الحليب يهدم إلى حمض اللاكتيك ،الذي يؤدي إلى زيادة تركيز الحليب بشوارد الهيدرونيوم(H_3O^+) وبالتالي انخفاض في قيمة الpH . [2]

6-2-الحموضة العيارية :

يعبر عنها بكتلة حمض اللاكتيك في 1 l من الحليب وتقدر بحوالي 17D°.[17]

6-3-الكثافة :

ترتبط كثافة الحليب بمحتواه من حيث المادة الجافة ،فالحليب الفقير من حيث مكوناته تكون كثافته ضعيفة.[12]

6-4-اللزوجة:

الحليب ذو النوعية الجيدة ،يكون عبارة عن سائل جد مائع ،عندما يصبح لزج فهو إشارة لتغير ذو أصل ميكروبي ،هذا الحليب غير صالح للإستهلاك . [07]

6-5-نقطة التجمد :

تتراوح بين -0.52 و-0. 55 [22]

6-6-القيمة الطاقوية :

تقدر بـ 275 ± Kj($100\ ml^{-1}$) [22]

الجدول I : الخواص الفيزيوكيميائية للحليب : [18]

يمكن تلخيص أهم الخواص الفيزيوكيميائية للحليب في الجدول التالي :

الpH (20° c)	6,6إلى6,7
الحموضة العيارية	من 15إلى D°17
الكثافة عند (20°c)	1.028إلى1.033
اللزوجة عند(20° c) centipois	2.2
نقطة التجمد (C°)	من 0.52-إلى0.55-
القيمة الطاقوية	± 275kj($100ml^{-1}$)

7-القيمة الغذائية للحليب:

يعد الحليب مصدرا هاما للطاقة بالنسبة للإنسان ،حيث تشكل الدهون والسكريات المصدر الرئيسي للطاقة فيه.[4]

وكذلك فإن اللاكتوز يمتص ببطء من الأمعاء وهذا مايجعله كمادة للتخمرات البكتريولوجية التي تشتمل نواتجها النهائية على حموض عضوية متنوعة [18]

كما يعد الحليب مصدرا لأغلب البروتينات الضرورية لتغذية الإنسان ،حيث أن النوعية البيولوجية العالية لبروتينات الحليب هي السبب الرئيسي لتجميع مزارع إنتاج الحليب ، خاصة في البلدان التي ترتبط اقتصاديا بالإنتاج الزراعي [4]

بجانب كون الحليب غذاء كامل ، فإنه يعتبر دواء لكثير من الأمراض ،ويرجع ذلك لاحتوائه على العديد من المواد الطبية التي لا غنى عنها ؛ فالحليب الطازج يعطى ليساعد الأطفال على النمو ويمد الجسم باحتياجاته من العناصر الغذائية الأساسية، علاوة على مايعطيه للجسم من فيتامينات و أملاح .ويعطى للمرضعات والحوامل ليحمي الأم من لين العظام ، ويساعد على نمو جنينها أثناء الحمل .

أما اللبن الحامضي فهو أحد مستحضرات الحليب الحيواني ،فهو مادة طبية هامة ، يعطى في دور النقاهة لسرعة هضمه وفي عدوى الأمعاء لتطهيرها من المكروبات . [15]

الفصل الثاني
الجانب المكروبيولوجي للحليب

1-المجموعة الأصلية :

يحتوي الحليب على نسبة قليلة من الأحياء الدقيقة ، إذا تحصلنا عليه في شروط جيدة ، من حيوان سليم (أقل من5000 microb/l). تتمثل أساسا في جراثيم الضرع غير الممرضة gèrmes saprophytes والقنوات الثديية canaux de trayon ، والتي مصدرها هو الوسط الخارجي

بعض الأحياء الدقيقة يمكن أن تتواجد في الحليب إذا كان مصدره حيوان مصاب بعدوى أو التهاب الضرع . في هذه الحالة عدد الجراثيم يرتفع قليلا ، وهي في الغالب تتكون من بكتيريا ممرضة منها :

Staphylocoques ,corynobactérie pyogène,strèptocoques pyogène [1] .

حتى في غياب أمراض إلتهاب الضرع ،فإن إنتشار المكروبات في الحليب يكون ممكنا ، من بينها:

-Brucélla،Salmonélla المسببة للحمى المالطية .

-Mycobactériumالعامل المسبب لمرض السل.

-Bacillus anthracis العامل المسبب للجمرة الخبيثة . [14]

2-المجموعة الملوثة :

يمكن أن يتلوث الحليب بمكروبات ممرضة بالنسبة للإنسان ،الحيوان و المحيط . وذلك خلال عملية الحلب ؛ حيث ترتبط عوامل الإصابة بالشروط الصحية للمكان ،أين تتم العملية . وبالأخص حالة نظافة الحيوان و الضرع ،الوسط المحيط (الإسطبل و محل الحلب) ، أدوات الحفظ ونقل الحليب وطريقة الحلب اليدوية أو الالية . فالإصابة بالتلوث الجرثومي تكون قليلة الإرتفاع في حالة الحلب اليدوي منها في حالة الحلب بالالة، لصعوبة تنظيفها،و بالتالي صعوبة القضاء على الجراثيم بها التي تنتقل إلى الحيوان. [17]

3-علا قة المكروبات بالحليب ومنتجاته :

- ❖ تحدث تغيرات مرغوبة : مثل النكهات في الزبد والألبان المتخمرة و الجبن وكذلك تجبين اللبن.
- ❖ تحدث تغيرات غير مرغوبة : مثل تلف المنتجات اللبنية عموما .
- ❖ يسبب انتقالها إلى الإنسان عن طريق اللبن و منتجاته العديد من الأمراض البكتيرية و الفيروسية [12]

الفصل الثالث

دراسة حليب العنزة و النعجة

مقدمة :

يظهر الحليب المفرز من طرف مختلف الحيوانا ت الثديية خصائص مشتركة ، ويحتوي على نفس المركبات : الماء ،البروتينات ، اللاكتوز ،المادة الدهنية ، والمعادن ، مع أن ، نسب هذه المركبات تختلف بصورة واسعة من نوع لاخر ، وكذلك داخل النوع الحيواني نفسه . هذا التغير يمكن أن يتعلق بالتغذية ، مرحلة الرضاعة، السن والفصول . [17]

1-حليب النعجة :

عبارة عن سائل ذو لون أبيض داكن و شاحب ، يتميز بأنه أكثر بياضا ، من حليب البقر ، ذو لزوجة عالية بالمقارنة مع لزوجة حليب البقر ، ويرجع ذلك إلى غناه من حيث التركيب . ذو رائحة مميزة للنوع، وتكون ضعيفة في حالة الحصول على الحليب من حيوان في شروط جيدة . يتميز حليب النعجة بمقاومة عالية لنمو البكتيريا في الساعات الأولى لوجوده .[6].

1- 1- تركيب حليب النعجة:

يتميزحليب النعجة عن باقي المصادر الأخرى بغناه من حيث مركبات الجبن.

1-1-1 الغلوسيدات :g/l 4.66

يمثل اللاكتوز أهم مصدر سكري وكميته تتقارب عند معظم الأنواع الحيوانية . [4]

1-1-2- المادة الدهنية :

بالمقارنة مع حليب الماعز والبقر ؛ حليب النعاج غني بالمادة الدهنية بمقدار مرتين [17]

1-1-3- المادة البروتينية :

هي نفسها عند جميع الأنواع مع وجود بعض الإختلافات ا لبيوكميائية عند ا لمجموعات البروتينية ، نذكر فيما يخص الكازيين αS_5 و K مقارنة بكازيين حليب ا لبقر. نفس ا لشيء مع ا ل β—lactaglobuline و α—lactalbumine . يتميز حليب ا لنعاج بغناه من حيث البروتينات المنحلة ، خاصة من حيث الـ β-lactaglobuline وا ل imunoglobuline .[2].

- ا لبروتينات غير الفوسفورية :

من 6 إلى 8 % من الازوت الكلي تتوزع بصفة قليلة الإختلاف عنها عند البقر . [6]

1-1-4-الأملاح :

يحتوي على معظم الأملاح الضرورية للنمو، وتمثل نسبة الكالسيوم في حليب النعجة أعلى نسبة مقارنة بالأنواع الحيوانية الأخرى ،وتمثل نسبة الأملاح عسرما عند النعجة مرتين عند البقر. [17]

1-1-5- الفيتامينات:

حليب النعاج جد غني بالفيتامينات مقارنة بحليب البقر .[17]

2-حليب العنزة :

هو حليب أكثر بياضا من حليب البقر مع ذوق جيد . يحتوي حليب العنزة على مادة دهنية فقيرة من حيث الكولسترول مقارنة بحليب البقر الكامل ،وبالتالي فهي مادة جيدة الهضم . [21]

2-1- تركيب حليب العنزة :

2-1-1- التركيب الكلي :

يتكون حليب العنزة من : 6, 88 % ماء ،و11,4 % مادة جافة ، وهي نسب متقاربة لها نوعا ما عند حليب البقر ، حيث أن نسبة المادة الجافة عند حليب البقر تمثل حوالي 12,59 % .[23]

2-1-2- مكونات المادة الجافة :

- المادة الدهنية : تمثل28 , 3 % من المادة الجافة ، وهي تتكون أساسا من غليسريدات ثلاثية ومن أحماض دهنية تشكل كريات دهنية قطرها متغير كما هو الحال عند حليب البقر(يتراوح بين1 و10 µm)
- المادة غير الدهنية : تمثل 13 , 8 % من المادة الجافة وهي تتكون أساسا من :
- اللاكتوز: 29 , 4 % .
- البروتينات2 ,3 % .
- الرماد 64, 0 % :هذا الأخير يحتوي على: الكالسيوم بنسبة 11, 0 % ، الفوسفور08 , 0 % ، المغنزيوم 01 , 0 % ، الصوديوم 4, 0 % والبوتاسيوم21 , 0 % .

عموما ومقارنة مع حليب البقر، فإن حليب العنزة فقير من حيث اللاكتوز ، المادة الدهنية والبروتينات .

على ا لعكس فإن محتواه من حيث المواد المعدنية ، فهو مشابه للأنواع الأخرى ، لكن نسب مكوناته غير ثابتة ، فهي تتغير حسب الفصول والعرق و الغذاء[23]

جدول رقمII: تركيب الحليب عند الثدييات المختلفة :

يوضح الجدول التالي نسب مكونات الحليب عند الأنواع الحيوانية المختلفة : [23]

النوع	%الدهن	%البروتين	%اللاكتوز	%الرماد	المواد الصلبة %	المصدر
الضبية	1 , 3	6, 9	4	1, 30	25 , 2	اليارسين
الأتان	1,2	1,7	6, 9	0 , 45	10 ,2	ريتشموند
الكلب	8 , 3	7, 5	3, 6	1, 2	30, 6	اندرسون
الجاموس	7,6	3,8	4,9	0,78	17,0	شنا يدر
الناقة	4,9	3,7	5,1	0, 70	14,4	خيراسكون
القطة	10,9	11,1	3,4	—	—	فولين
البقرة	3,9	3,3	4,9	0,72	12,9	أوفرمان
الدلفين	14,1	10,4	5,9	—	—	إيكلبير يجر
الفيل	15,1	4,9	3,4	0,76	26,9	توتيوم
النعجة	5,3	5,5	4,6	0,90	16,2	بارنيكوت واخرون
العنزة	3,5	3,1	4,6	0,79	12,0	ليتجو
خنزير غينيا	3,9	8,1	3,0	0,82	15,8	نيلسون
الكنغر	2,1	6,2	اثا ر	1,2	9,5	بوليجرو باسكو
الفرس	1,6	2,7	6,1	0,51	11,0	لنتون
القرد	3,9	2,1	5,9	2,6	14,5	فلين وايجتتان
الأرنب	12,1	11,4	1,8	—	—	فولين
الجرد	14,8	11,3	2,9	1,50	31,7	سوكس و ميلر
الرنة	22,5	10,2	2,5	1,4	36,7	بارتيل وبارغمان
الفقمة	53,2	11,2	2,6	0,70	67,7	أمورسو
الخنزير	8,2	5,8	1,8	0,63	19,9	براودي
الثعلب	6,3	6,3	4,6	0,96	18,2	يونغ وكرينن
الحوت	24,8	13,6	1,8	1,60	51,2	كريكوري
المرأة	4,5	1,1	6,9	0,2	12,6	ما سى

الفصل الرابع
الأطوار المميزة للحليب

1- مصل الحليب :Le lactoserum

1-1- تعريفه :

هو الطور السائل الذي يفصل عن الخثارة بعملية التجفيف égouttage خلال عملية صنع الجبن ، هذا الأخير المكون أساسا من الكازيين و المادة الدهنية . [9] لديه تركيب يتغير حسب مصدر و نوع الصناعة الناتج عنها أي حسب نوع الجبن المصنوع ولهذا يمكن تمييز نوعين من مصل الحليب حسب قيمة حموضته العيارية التي تكون إما أقل أو أكثر من 18 D° .

- مصل الحليب العذب Le lactoserum doux :

المتحصل عليه من صناعة الجبن من عجينة مضغوطة(pate presseé) الناضجة أو غير الناضجة (émenthale,saint,pauline etc) . (cuite ou non cuite) [18].

حيث نتحصل على الخثارة باستعمال العصارة(La présure) في هذه الحالة درجة الpH تتراوح بين 5,6 و 6,7 [9].

-مصل الحليب الحامضي : Le lactosérum acide

المتحصل عليه من صناعة الجبن عن طريق عملية التخثر اللبني عند درجة ال pH حوالي 4,5.[18]

يصنف مصل الحليب المتحصل عليه خلال عملية صنع العجينة اللينة La pate molle ضمن مصل الحليب العذب عند درجة ال pH تتراوح بين 6 و6,2 وهو ناتج عن تخثر مزدوج .[9]

1-2-المكونات البيوكيميائية لمصل الحليب :

يمكن أن نجد في مصل الحليب مجموع المركبات المنحلة للحليب عند قيمة لل pH تعادل4,65 .

- ❖ اللاكتوز .
- ❖ البروتينات المنحلة .
- ❖ الأملاح المعدنية المنحلة . تكون جد منحلة عند pH جد حامضي ، كما هوالحال في الجبن الطازج عند التخمراللبني، أما في حالة الخثارة الناتجة عن العصارة ، فإن الأملاح مثل الكالسيوم و الفوسفات ترتبط بالكازيين . [18]
- ❖ .المادة الدهنية : يحتوي مصل الحليب على نسبة ضعيفة من الدهون
- ❖ .ا لفيتامينات : (B1 , B2 , B6 , B8 , B12 , B5 , B9)

تمثل كمية مصل الحليب نسبة معتبرة تقدر بحوالي 85 % من الحليب المحول إلى الجبن في العالم حيث أن كميته الكلية تتعلق بأنواع الصناعات الكلية الاتية منها .[9]

الجدول III : تركيب مختلف أنواع مصل الحليب : [19]

تتغير مكونات مصل الحليب بدلالة نوعه وذلك حسب الجدول التالي :

	مصل الحليب العنب émmental	مصل الحليب العنب camembert	مصل الحليب الحامضي :الجبن الطازج
الـpH	6,7	6,1	4,6
المادة الجافة g/l	65g/l	65 g/l	60g/l
حيث اللاكتوز	50 g/l	49 g/l	39 g/l
البروتينات	8,5 g/l	8,5 g/l	7,2 g/l
العناصر المعدنية	5 g/l	6 g/l	7,2 g/l
المادة الدهنية	0 ,5g/l	0,5 g/l	0,3 g/l
حمض اللاكتيك	1 g/l	1,5 g/l	6 g/l

1-3- تركيب بروتينات مصل الحليب :

هذه البروتينات تبقى منحلة في مصل الحليب عند تخثره بواسطة تحميض الوسط عند درجة pH=4,6أو بواسطة الطرق الأنزيمية .

من السهل فصل الأجزاء البروتينية لمصل الحليب بواسطة عملية ما فوق الترشيح ultrafiltration أو عن طريق المبادل الأيوني échangeur d'ions أو غيرها .. .[15]

مثل هاته الطرق سمحت بالحصول على الأجزاء البروتينية التالية :

1-3-1– الألبيومينات : les albumines

تمثل هذه البروتينات أكبر كمية حيث تكون 75% من بروتينات اللاكتوسيروم و15% من البروتينات الكلية للحليب وتحتوي على ثلاثة مركبات أساسية هي :

- ألفا لا كتالبومين :α-lactalbumine

- بيتا لاكتالبومين :β-lactalbumine
- سيروم البومين :serum albumine

1-3-2-الغلوبيولينات les globulines :

تمثل من 10 إلى 12 % من بروتينات مصل الحليب ،لها دور مناعي كبير، وبعملية الميز dialyse تنقسم هذه البروتينات إلى قسمين :

- Euglobuline : وتكون غير قابلة للذوبان في الماء النقي عند نقطة التعادل الكهربائي .
- pseudoglobuline : وتكون قابلة للذوبان في الماء عند نقطة التعادل الكهربائي .[15]

1-3-3- protéine-peptones :

تكون حوالي 10 % من بروتينات مصل الحليب التي لا تترسب عند درجة الحرارة 95 °C مدة 30 mn المتبوعة بتحميض الوسط عند pH= 4 ,6 . وهي بروتينات غير متجانسة تتكون من 4 وحدات 3 و 8 و 8 . 5 . [18]

1-3-4- البروتينات الصغيرة : les protéines mineures :

تمثل 5% من بروتينات اللاكتوسيروم ، وهي ثلاثة أنواع :

- لاكتوترانسفيرين lactotransférine .
- لاكتولين lactolline .
- البروتينات الغشائية

1-4- مجالات استعمال مصل الحليب :

1- يستعمل كغذاء للحيوانات خاصة الأبقار والدواجن .

2- يستعمل كغذاء للإنسان بدخوله في تركيب بعض الأغذية كالخبز البسكويت وبعض النكهات المستعملة في صناعة الحلويات .

3 -في الصناعات الصيدلانية.

4- إنتاج الإنزيمات البكتيرية .

5-إستعمال بروتينات مصل الحليب في تركيب الأغذية الموجهة للحمية .

جزء صغير فقط من مصل الحليب يوجه لهذه الإستعمالات ، لكن الجزء الأكبر يرمى في الطبيعة ، وبالتالي يظهر مشكل التلوث بمصل الحليب ، والذي يعتبر جد عويص نظرا للكمية الهائلة التي تطرح أو ترمى سنويا.

لإعادة الإنتفاع بمصل الحليب العذب وهو الأكثر استعمالا من مصل الحليب الحامضي ، يجب أولا تعديل الحموضة بواسطة إعادة التبريد المباشر و البسترة عند الحاجة ، ثم يجفف حيث تمثل المادة الجافة 6% من الكتلة الكلية لمصل الحليب ، تنقل وتخزن حيث تعتبر هذه العملية جد مكلفة . من l 1000 من مصل الحليب نتحصل على 62 Kg من المسحوق (المادة الجافة) هذه الخلاصة الجافة هي التي توجه لمختلف الإستعمالات [19]

2-كازيين الحليب La caséine :

2-1- تعريف الكازيين :

عبارة عن البروتينات الفوسفورية للحليب التي تترسب عند درجة الpH=6 ,4، تمثل 80% من بروتيناته الكلية،النسبة الباقية تمثل البروتينات المنحلة(Lactalbumine و Lactaglobuline) [20] وهوعبارة عن متعدد ببتيد فوسفوري ، يرتبط أساسا بالمكونات المعدنية ، خاصة الكالسيوم ، الفوسفات ، المغنزيوم و السترات ، بطريقة تسمح بتشكيل كريات غروية ؛ هي فوسفو كازيينات الكالسيوم . توجد في الخليط مركبا ت لا ترتبط في غياب الكالسيوم سوى بعدد صغير من الجزيئات . في وجود الكالسيوم درجة الإرتباط جد مرتفعة ، والوحدات المتشكلة ترسب عدة مليارات من الجزيئات. مكونة الحبيبات الغروية للكازيين ، منتشرة في الطور ا لسائل للحليب (ا لقطر يتراوح بين 100 و250 µm)هذا ا لتوزيع في الفراغ يسمح لإنزيمات الإماهة (carboxypeptidases) بعملية هضم جد سهلة . [17]

2-2-تركيب الكازيين:

يوجد الكازيين في الحليب على شكل معقد عضوي لجزيئات بروتينية αs , β و K متحدة مع بعضها بواسطة $Ca_3 (PO_4)_2$ ، مكونة حبيبات غروية على شكل معلق ثابت بفضل وجود شحنات سالبة ومجموعات سكرية محبة للماء ، هي التي تعطي للحليب اللون الأبيض . هذه الحبيبات الغروية ذات طبيعة بروتينية أساسا مع وجود بعض المعادن بكميات معتبرة كالكالسيوم وبكمية أقل منها السترات والمغنزيوم والتي لها دور في الإرتباط ، تحدث لهذه البروتينات عملية الفسفرة على مستوى الأحماض الأمينية السيرين (Ser) والثريونين (Thr) .[08]

يحتوي على نسبة من الماء قيمتها حوالي 65 % وقطرها متغير بين 30 إلى 300 nm ، بكتلة جزيئية تتراوح بين 10إلى 10 D ، تحتوي على تحت وحدات للحبيبات الغروية ذات قطر من 15 إلى20 nm حاملة 10جزيئات من بروتينات الكازيين الأربعة ، بنسب متفاوتة مع وجود الكالسيوم على كل وحدة فوسفات ذات وزن جزيئيD 250000 ترتبط مع بعضها بواسطة الفوسفات ثلاثي الكالسيوم.

[10]. $Ca_3 (PO_4)_2$

جدول IV : تركيب الحبيبات الغروية لكازيين الحليب : [08]

يوضح الجدول التالي التركيب الإجمالي للحبيبات الغروية لكازيين الحليب .

البروتينات	$Cas\alpha s_1$	Casβ	$Cas\alpha s_2$	CasK	Divers	Total
g%	33	33	11	11	4	92
المعادن	Phosphates	Ca	Citrates	Mg		8
g%	4,3	2,9	0,5	0,1		

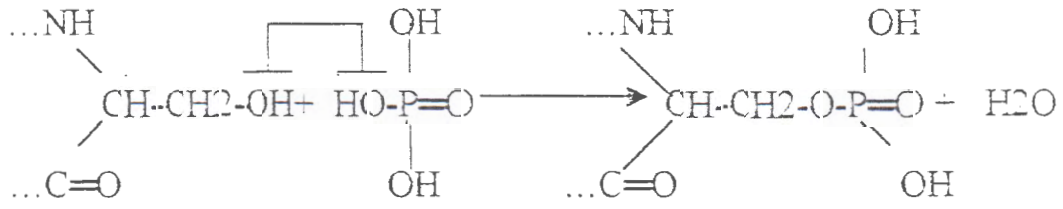
2-3-مختلف بروتينات الكازيين :

2-3-1-الكازيين αs_1 :

يعتبر البروتين ذو الأهمية الكبرى من ناحية الكتلة (من39 إلى 46%من البروتينات) ، يتكون من 99حامض أميني بوزن جزيئي قدره 23600 D .

الطرف N-terminal هوArg والطرف C-terminal هو الTrp ، ولا يوجد السستيين Cys .

يحتوي على 8 جزيئات فوسفات مثبتة على حامض السيرين حسب التفاعل التالي :[08]



Serine acide phosphorique phosphorine eau

2-3-2-الكازيين αs_2 :

نسبته تتراوح بين 8و11% ، يحتوي على 207 حامض أميني ومن 10 إلى 13 مجموعة فوسفات هذا ما يسمح بوجود مجموعات مختلفة αs4، αs 3، αs2 و αs 6 .

كتلته الجزيئية تتغير من25150 إلى25390 D.توجد وحدتين من الCys . جد حساس للكالسيوم في كل درجات الحرارة ، وجد غني بالفوسفات .[20]

2-3-3الكازيين β:

يمثل (25-35%)، يحتوي على 209حامض أميني مع غياب الحامض الأميني الCys لكنه يحتوي على 5مجموعات فوسفات، وزنه الجزيئي يقارب 24000 D،جد حساس للكالسيوم في درجة الحرارة العادية لكنه غير حساس للبرودة .[2].

2-3-4-الكازيين k :

يمثل من 5 إلى 8 % من نسبة بروتينات الكازيين الكلية ، يحتوي على 169حامض أميني ، حيث الحامض الأميني الطرفي N-terminal هو عبارة عن ال pyroglutamique ، ومجموعتين من الCys وباقي حمض مفسفر في الطرف C-terminal،يحتوي على جزيئتين من ال Cys .

بروتين الكازيين Kهو الوحيد الذي يحتوي على جزيئات سكرية من بينها : N-acetyl galactosamine ، N-acetyl neuraminique وgalactose وهي بذلك جزيئات محبة للماء.

غير حساس للكالسيوم في جميع درجات الحرارة ، وهو الذي يضمن استقرار وثبات مختلف جزيئات الكازيين الأخرى ، مانعا ترسبها في وجود الكالسيوم .[19]

2-3-5-الكازيينδ :

هوالبروتين الناتج عن التحلل البروتيني للكازيينβ بواسطة ال Protease alcaline، تمثل هذه الجزيئة من 3إلى 7% من بروتينات الكازيين ، فهي إذن ليست جزيئات جديدة وإنما مصدرها هو الكازيين β .[2].

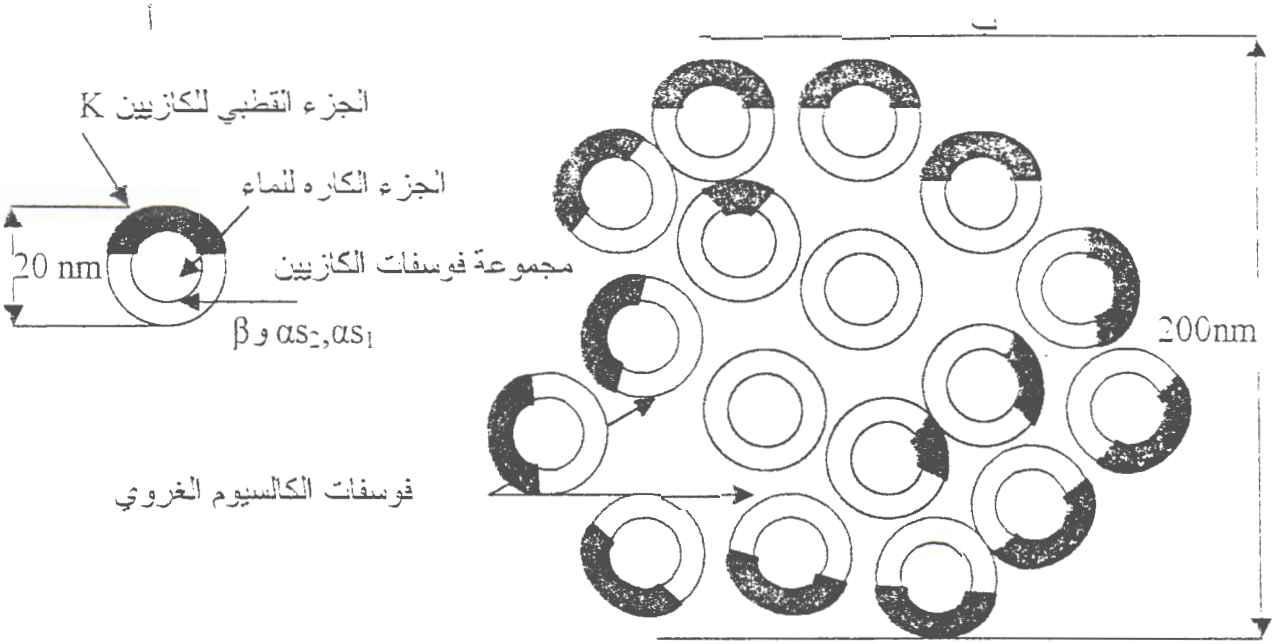
2-4-توضع جزيئات الكازيين :

حسب SCHMIDT .1980 فإن بروتينات الحبيبات الغروية متوضعة كالآتي :

- تحت الوحدات المتكونة من الكازيين αs_1، αs_2، β و K ذات قطريقدر بحوالي 20 nm.تتوضع بطريقة تجعل الأقطاب الكارهة للماء باتجاه الداخل ، بينما المجموعات المحبة للماء باتجاه الخارج متوضعة على السطح والتي تتكون أساسا من الكازيين K .تتشكل الوحدات الغروية ابتداء من تحت الوحدات الغروية (sous unités micellaires) بفضل فوسفات الكالسيوم الذي يرتبط مع الكازيين αs_1 ، αs_2 ، β بواسطة

السلسلة الفوسفورية حيث تتوضع تحت الوحدات الفقيرة من حيث الكازيين K نحو الداخل والجهة الخارجية تكون مغطاة بالوحدات الغنية بالكازيين K وذلك حسب الشكل رقم1 .

بسبب غنى الكازيينK بالسكريات ، وفقره من ناحية الفوسفور فهو يلعب دور مهم في استقرار وثبات الحبيبات الغروية .[18]



شكل رقم 1 : نموذج تحت الوحدات الغروية (أ) والكتلة الحبيبية للكازيين(ب)

(SCHMIDT, 1980)

2-5- أنواع الكازيين :

حسب طريقة الحصول على الكازيين نميز ثلاثة أنواع [2]

1- كازيين حمضي : يمكن الحصول عليه بتحميض الحليب المنزوع الزبدة عند درجة الpH = 4,6 ودرجة حرارة 43 °C، حتى 45 °C بواسطة حمض معدني .[5]

2- كازيين لبني : عن طريق التخمر اللبني بواسطة حمض اللاكتيك [2]

3- كازيين العصارة : ناتج عن التخثير الإنزيمي للكازيين بواسطة البيبسين(PEPSINE) أو الكيموزين(CHYMOSINE). بعد 20mn حتى 30 mn من التخثر ترتفع درجة الحرارة حتى 55°C إلى 65 °C كما هو الحال في الكازيين الحامضي .[5]

❖ الكازينات :

تعديل راسب الكازيين الحمضي أو اللبني الصلب ، بواسطة أملاح الصوديوم ، البوتاسيوم ، الأمونيوم والكالسيوم ، يسمح لنا بالحصول على مركب ذائب أكثر .[20]

2- 6-نوعية كازيين حليب النعجة و العنزة :

2-6-1- كازيين حليب النعجة 53g/l ، 4 :

يعتبر حليب النعجة ، حليب غني بالبروتينات مقارنة بالأنواع الأخرى ؛ فهو جد غني بالكازيين .

يكون الكازيين كتل مشحونة بالكالسيوم و الفوسفور، ذو خواص فيزيوكيميائية مشابهة لتلك المميزة لحليب البقر ، لكن بأبعاد نوعاما صغيرة .

يوجد الفوسفور و الكالسيوم في الطور الغروي بصورة كبيرة كما في الطور السائل ، مثلماهو الحال عند حليب البقر .

كل هذه الميزات تعطي خواص مختلفة للتخثر ، فحليب النعجة يتخثر بسرعة ، ويعطي خثارة متماسكة ، أكثر منها عند حليب البقر ، تتميز بكونها بيضاء مع ملاحظة غياب الذوق المر. ترجع هذه الخاصية إلى النسبة الضعيفة للكازيين α_s مقارنة مع الكازيين الكلي . [6]

2-6-2- كازيين حليب العنزة :

تتكون كتلة كازيين العنزة ، من الكازيين αs_1، و الكازيين αs_2 ، الكازيين β و الكازيين K .

حيث تمثل الكازيين β و الكازيين αs_2 على الترتيب 50 % و 20 % من البروتينات.

في حليب البقر لا نجد سوى حوالي 35 % من الكازيين β و 20 % من الكازيين αs_2 .

مقارنة مع حليب البقر فإن حليب العنزة يحتوي على كمية أقل من الكازيين ، لكن يحتوي على كمية كبيرة من بروتينات المصل و الازوت غير البروتيني . [23]

يمثل الكازيين الجزء المهم من البروتينات ، يتميز بسلسلة من الخصائص البنيوية ، ذات الأهمية المتعلقة بالطبيعة الكيميائية والتكنولوجية .

قابلية لحليب للتخثر مرتبطة مباشرة بالبنية وتركيب الكازيين . [23]

2-7-طرق فصل كازيين الحليب :

من بين طرق فصل الكازيين نذكر :

❖ **الطريقة الأولى :**

يفصل الكازيين من الحليب المنزوع الزبدة بعملية الطرد المركزي، أ و عملية مافوق الترشيح بعد تخثر الكازيينات بعملية التخمر اللبني أو إضافة حمض أو عصارة . بالنسبة لعملية فصل الكازيينات الحامضي. فالعملية كالتالي :

1- نزع الزبدة من الحليب .

2- بسترة الحليب عند°C 78 مدة s 20 .

3- التسخين عند درجة حرارة من °C 35 إلى °C 40

4- في مفاعل بيوكيميائي مزود بخلاط ، تضاف له إما أملاح معدنية أو إحداث تخمر لبني، أو إضافة مبادل الأيونات للحصول على pH يتراوح بين 5 , 4 و7 , 4.

5- إعادة التسخين عند درجة حرارة من °C 45 إلى °C 47 مع حقن البخار مدة mn 5 للحصول على تخثر سبائخي .

6- الفصل بعملية الطرد المركزي .

7- غسل الناتج و تصفيته بالماء ضد التيار للتخلص من المواد الذائبة .

8 - البسترة عند درجة حرارة عند °C 75 حتى °C 80.

9 -الطرد المركزي أو الغربلة للتخلص من أكبر جزء من المادة السائلة .

10 -السحق broyage

11- إضافة محلول قاعدي تحت الإثارة و التسخين عند درجة حرارة °C 75 للإنقاص من لزوجة الخليط وذلك عند pH = 5 , 6

12-تجفيف الكازيينات على أسطوانة التجفيف خلا ل عملية البلمرة . [20]

❖ **الطريقة الثانية :**

1- يوضع ml 10 من الحليب في إناء سعته من ml 30 إلى ml 50 مع تسخين خفيف عند درجة حرارة °C 40.

2- تسخين أيضا معدل أسيتات الصوديوم ذو pH = 6 , 4 في نفس درجة الحرارة السابقة ، وإضافته تدريجيا إلى الحليب الساخن مع الرج بالخلاط .

3- ترك الخليط يبرد ثم تعريضه لعملية الطرد المركزي .

4- نزع المادة الطافية في الأعلى (surnageant) .

5- جعل الراسب في معلق في 5 ml من الإيثانول.

6- تطبيق عملية الطرد المركزي عليه.

7- نزع المادة المتشكلة على السطح مع جعلها في معلق من 5 ml من الإيثانول .

8- إخضاعه لعملية الطرد المركزي مرة أخرى مع نزع المتشكلة على السطح .(surnageant)

9- نشر الراسب على صفيحة زجاجية مع تجفيفه عند درجة حرارة 40°C.

10 -بعملية التجفيف نتحصل على الكازيين في الأخير .

ملاحظة : توجد طريقة أخرى وهي طريقة الترشيح لكنها تستغرق وقتا طويلا .

2-8- مختلف إستعمالات الكازيين:

- يستعمل الكازيين في صناعة الحلويات ، لقدرته على إحتجاز الماء و منع تشكل بلورات السكر.

- يستعمل في المجال الغذائي لكن ليس بصفة معتبرة و ذلك بسبب صعوبة إنحلاله و ذوبانه [5]

- يستعمل في صناعة الأصبغة و الغراء.[2]

الادوات و الطرق المستعملة

خلال دراستنا إستعملنا ثلاثة مصادر للحليب (البقرة ، العنزة والنعجة) ، بهدف :

❖ فصل كازيين الحليب عن باقي المكونات الأخرى ، ومقارنة تركيزه عند الأنواع الثلاثة من الحليب .

❖ الكشف عن البروتينات الفوسفورية.

1- الأدوات المستعملة :

- أنابيب اختبار .
- حامل أنابيب .
- ملقط أنابيب .
- حمام ماري .
- قضيب زجاجي .
- قمع الترشيح .
- جهاز قياس الكثافة الضوئية .
- ماصة ذات 1 ml .
- ماصة ذات 10 ml .
- ميزان حساس .
- وعاء زجاجي .
- أنابيب ذات سدادات مجهزة بأنبوب انطلاق .

✓ العينات :

- حليب البقر .
- حليب العنزة .
- حليب النعجة .

✓ المحاليل و الكواشف :

حمض الخل الثلجي .

محلول حمض الازوت بتركيز 10% .

محلول فينول فتالين في الكحول5 , 0 % .

محلول ماءات الصوديوم .

كاشف الموليبدان .

محلول ال Nacl بتركز 15, 0 % .

محلول بيوري ذ و التركيب التالي :

0.75 mol/l من ال NaOH .

20 mol/l ثرثرات الصوديوم .

6 mol/l أيوديد البوتاسيوم .

6 mol/l كبريتات النحاس .

2- الطرق المستعملة :

2-1- تقدير بروتينات كازيين الحليب :

2-1-1- فصل بروتين كازيين الحليب :

نحضر 6 أنابيب اختبار.

نضع في الأنبوب الأول و الثاني 2 ml من حليب البقر كل حدى .

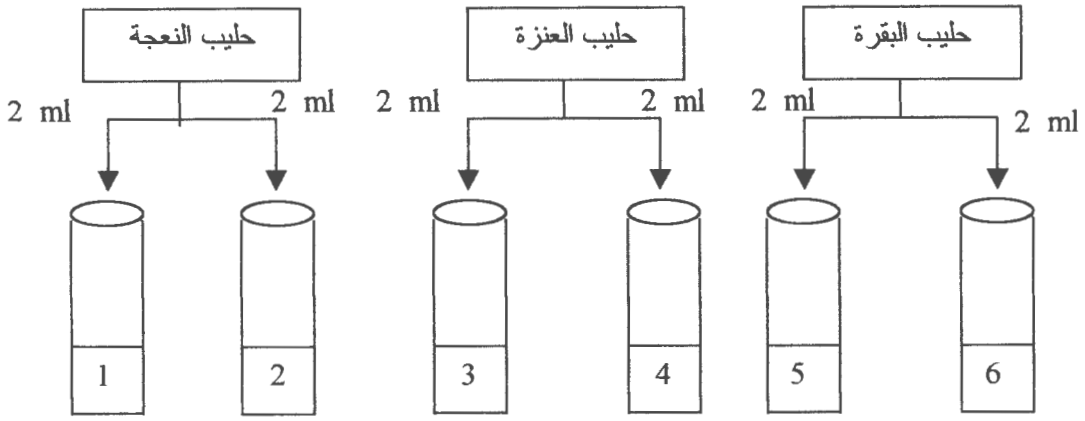
نضع في الأنبوب الثالث و الرابع 2 ml من حليب العنزة في كل أنبوب .

نضع في كل من الأنبوب الخامس والسادس 2 ml من حليب النعجة .

نضيف إلى كل أنبوب من الأنابيب الستة السابقة 2 ml من الماء المقطر و قطرتين من حمض الخل الثلجي .

يتشكل في كل أنبوب راسب نرشحه بواسطة ورق الترشيح ، فوق قمع موضوع في وعاء زجاجي.

نغسله مرتين بالماء المقطر ، لإزالة الحموضة الناتجة عن حمض الخل و إزالة العناصر الذائبة كالاملاح والفيتامينات وغيرها .



نضيف إلى كل أنبوب من الأنابيب الستة 2 ml من الماء المقطر + قطرتين من حمض الخل الثلجي [16]

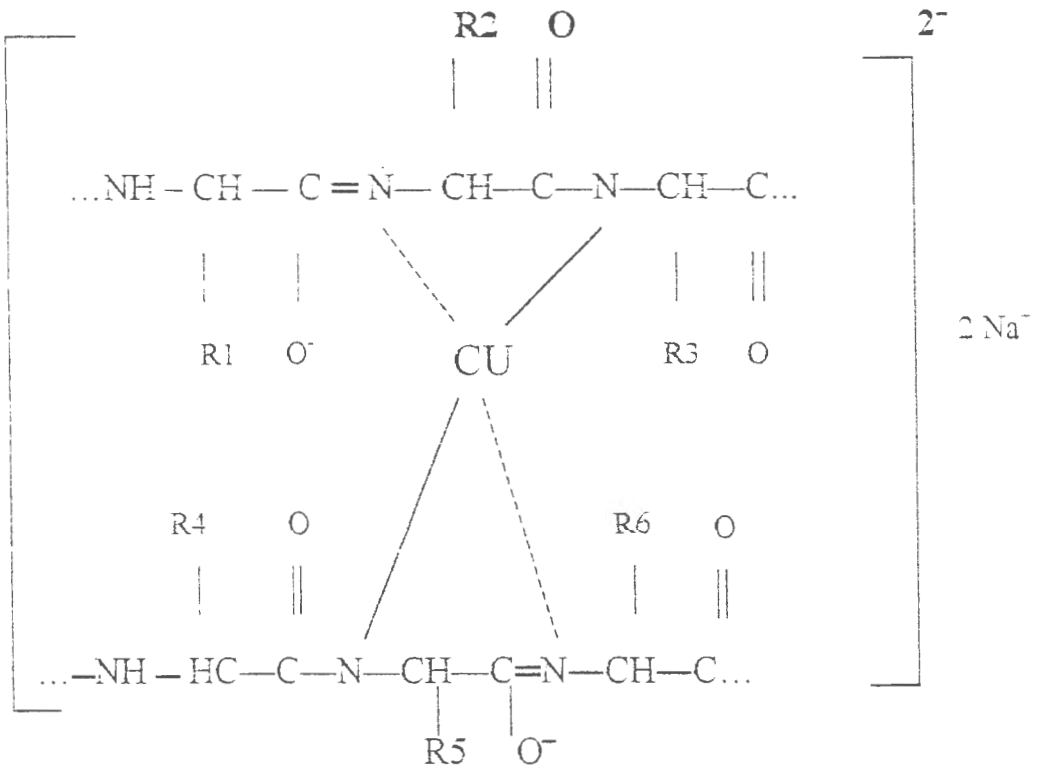
شكل رقم2 :رسم تخطيطي لعملية تحضير الكازيين .

2-1-2-تقدير بروتين كازيين الحليب حسب طريقة بيوري :

- المبدأ :

في هذا التفاعل تشكل أيونات النحاس الاتية من كبريتات النحاس مع الروابط الببتيدية معقد لوني أزرق بنفسجي و ذلك في وسط قاعدي .

تتحدد كثافة هذا التلوين بعدد الروابط الببتيدية وبالتالي تركيز البروتينات ، نفس الشدة تقاس عن طريق الكثافة الضوئية بواسطة جهاز قياس الكثافة الضوئية spèctrophotomètre ، و التي تسمى « بالمعايرة اللونية » أو الكثافة اللونية وهي مرتبطة بتركيز المادة المراد معايرتها حسب قانون BEER lambert: DO=f(c) .[16]



« معقد أزرق بنفسجي »

شكل رقم3 : معقد تفاعل بيوري

- طريقة العمل :

- نضع الراسب المتحصل عليه في كل أنبوب من الأنابيب الستة في ستة أنابيب أخرى محددة .

- نأخذ ثلاثة أنابيب محتوية على الراسب المتحصل عليه من عملية التخثير ، لكل من حليب البقرة ، العنزة ، النعجة وأنبوب اخر فارغ لتحضير الشاهد (BLANC) .

- نضع في كل أنبوب من الأنابيب الأربعة 5 ملل من الNacl بتركيز1mol/l 0.15 – 5 ml من محلول بيوري .

- نرج الأنابيب جيدا ونتركها مدة 30 mn في درجة الحرارة العادية (درجة حرارة المخبر) . وذلك بعد التخفيف بقيمة 1 / 10 .

- نظبط جهاز قياس الكثافة الضوئية بالمحلول الشا هد (Blanc) . وذلك على طول موجة 550 nm

ملاحظة : تطبق نفس التجارب السابقة ، لكن مصدر الحليب ليس حيوان واحد و إنما حيوانات مختلفة من مناطق مختلفة لولاية جيجل [16] .

2-2- تحضير المنحنى القياسي« la courbe d' étalonnage » :

الهد ف منه : تحديد تراكيز الكازيين ابتداءا، من قيمة الكثافة الضوئية المتحصل عليها من تراكيزمعلومة للكازيين .

- تحضير المحلول الأم والمحاليل المخففة :

نحضر المحلول الأم ، وذلك بإذابة 2 g من مسحوق الكازيين في 1 l من الماء المقطر، ونرج جيدا بالخلاط (agitateur) .

نحضر محاليل مخففة ابتداءا من المحلول الأم و ذلك كالتالي:

- الأنبوب الأول « 0.5 g/l » : و ذلك بإضافة 1 ml من المحلول الأم إلى 3 ml من الماء المقطر.
- الأنبوب ا لثاني « 1g/l » : وذلك بإضافة 2 ml من المحلول الأم إلى 2 ml من الماء المقطر
- الأنبوب الثالث « 1.5 g/l»: بإضافة 3 ml من ا لمحلول الأم إلى 1ml من الماء المقطر .
- الأنبوب الرابع « 2 g/l »: يتكون فقط من المحلول الأم دون إجراء أي تخفيف .

نضيف إلى الأنابيب الأربعة : 5 ml من Nacl + 5 ml من محلول بيوري .

نحضر المحلول الشاهد (blanc) لظبط الجهاز وذلك بوضع 5 ml من Nacl + 5 ml من محلول بيوري في أنبوب اختبار .

نرج الأنابيب جيدا وتترك مدة نصف ساعة في درجة حرارة عادية ، ثم نقرأ قيمة الكثافة الضوئية بجهازقياس الكثافة الضوئية (SPECTROPHOTOMETRE) ، على طول موجة 550 nm ، و ذلك بعدأن نظبط الجهازبالمحلول الشاهد (blanc) . بعدها نسجل النتائج ويرسم المنحنى القياسي للكثافة الضوئية بدلالة التركيز . D.O=f(c)

نسقط قيم الكثافة الضوئية المتحصل عليها في التجارب السابقة على المنحنى القياسي المتحصل عليه . نستنتج منه قيم التراكيز المختلفة لكازيين المصادر الثلاثة للحليب .[16] .

2-3- الكشف عن حمض الفوسفور :

نأخذ الأنابيب الثلاثة الباقية والتي تحتوي على راسب الكازيين .

نضيف إليها 2 ml من محلول ماءات الصوديوم بتركيز 10 % .

نغلق الأنابيب الثلاثة بسدادات مجهزة بأنبوب انطلاق ، ثم نضعها لمدة 10 إلى 15 mn داخل حمام مائي(bain Marie) في درجة حرارة 100 °C.

نبرد الأنابيب ونكشف عن حمض الفوسفور في حاصل الحلمهة و ذ لك كما يلي :

نضيف إلى الأنابيب السابقة عدة قطرات من محلول حمض الازوت بتركيز 10 % (بوجود قطرتين من محلول فينول فتالين في الكحول بتركيز 5 , 0) حتى زوا ل ا للون .

نرشح محتوى كل أنبوب و نضيف لكل 5 ml من ا لرشاحة المتحصل عليها ، قطرتين من كاشف الموليبدان، ويغلى لعدة دقائق [16] .

النتائج

يظهر في كل أنبوب لون أزرق بنفسجي تتغير شدته من أنبوب لاخر .

1- نتائج تقدير تراكيز كازيين الحليب من عينات ثابتة :

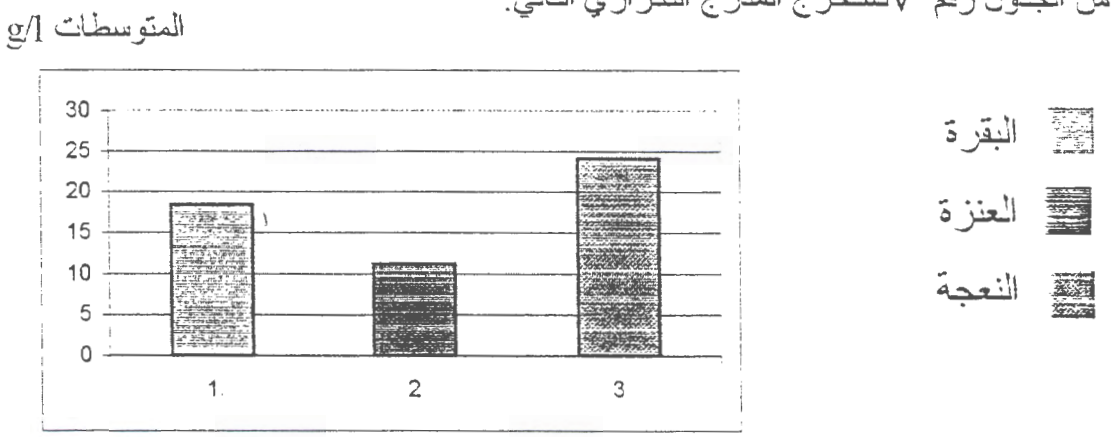
و هي موضحة في الجدول التالي :

جدولV:تراكيز الكازيين لعينات ثابتة :

العينة	تراكيز الكا زيين g/l				المتوسط g/l	δ
	1	2	3	4		
البقرة	22 , 6	17,75	18	15,25	18,4	18,4±1,95
العنزة	15,25	13,5	10,075	5,75	11,14	11,14±1,08
النعجة	38,7	24	27,1	6,5	24,075	24,075± 2,34

من الجدول نلاحظ أن تراكيز الكازيين تختلف من نوع إلى اخر ، بحيث عند البقرة تتراوح بين 15,25و 22,6 g/l بمعدل يقدر بمعدل 18,4 g/l ، وعند العنزة تتراوح 5,75 و 15,25g/l بمعدل 11,14 g/l ، وتتراوح عند النعجة بين 6,5 و 38,7 g/l بمعدل 24.075 g/l وبالتالي فحليب النعجة يعتبر أغنى المصادر الثلاثة بالكازيين

من الجدول رقم Vنستخرج المدرج التكراري التالي.



الشكل رقم4 :المدرج التكراري لتراكيز الكازيين من عينات ثابتة .

نلاحظ من الشكل أن حليب النعجة غني بالكازيين يليه حليب البقرة ثم حليب العنزة هذا الأخير يعتبر أفقر المصادر الثلاث.

2 –نتائج تقدير تراكيز كازيين الحليب من عينات مختلفة :

جدولVI – تراكيز الكازيين عند مجموعة من الأبقار :

العينة	تركيز الكازيين (g/l)
1	39,50
2	27,7
3	24,5
4	15,4
5	48,4
6	37,5
7	23,8
8	40,25
المتوسط (g/l)	32,13
δ	32,13 ±1,8

من الجدول نلاحظ بأن تركيز بروتينات الكازيين يتراوح بين 15,4 g/l و 48.4 g/l بمتوسط يقدر بـ : 32,13 g/l .

جدولVII: تراكيز الكازيين عند مجموعة من الماعز :

العينة	تركيز الكازيين (g/l)
1	21,2
2	19,6
المتوسط (g/l)	20,4
δ	20,4±0,004

نلاحظ من الجدول بأن تركيز بروتينات الكازيين يتراوح بين 21,2 g/l و 19,6 g/l بمتوسط قدره 20.4 g/l .

جدولVIIIتراكيز الكازيين عند مجموعة من النعاج :

العينة	تركيز الكازيين (g/l)
1	43,1
2	44,3
3	40,1
المتوسط (g/l)	42,5
δ	42,5 ± 0,00734

من الجدول نلاحظ أن تركيز بروتينات الكازيين يتراوح بين 40,1 g/l و44,3 g/l بمتوسط يقدر بـــ:42,5 g/l .

3- نتائج الكشف عن حمض الفوسفور:

جدولIX:نتائج الكشف عن حمض الفوسفور:

العينة	البقرة	العنزة	النعجة
اللون	أصفر ليموني فاتح	أصفر ليموني شفاف	أصفر ليموني غامق

من الجدول رقم IX نلاحظ بأن محتوى العينات الثلاثة من الفوسفور يختلف وذلك باختلاف الشدة اللونية للمحلول.

وبالتالي فان حليب النعجة يكون أغنى بالفوسفوبروتينات ،يليه حليب البقرة وأخيرا العنزة .

المناقشة

إن نتائج دراستنا الموضحة في الجداول(V-VI-VII-VIII- IX)والشكل(4) توضح بأن حليب النعجة هو الذي يحتوي على نسبة كبيرة من بروتينات الكازيين.

فمن الجدولV و الشكل 4 نلاحظ بأن تركيز حليب النعجة يتراوح بين 6,5 g/l و38,7 g/l وبمتوسط يقدر ب: 24،075 g/l .

بينما حليب البقر يتراوح ما بين 15،25g/l و22،6 g/l وبمتوسط18،4 g/l . وحليب العنزة يتراوح مابين 5،75 g/l و15،25 g/l .وبمتوسط 11.14 g/l. [13]

إن هذه الإختلافات اليومية في تراكيز الكازيين لحليب العينة الواحدة (لنفس الحيوان) ، سببه الإختلا ف اليومي من حيث تغذية الحيوان نوعا وكما ، بالإضافة إلى ظروف حياة الحيوان والعمر[17]

إن حليب العنزة يعتبر فقير من حيث محتواه من الكازيين وذلك لاحتوائه على تركيز بمتوسط يقدرب :11،4 g/l .

الجدول رقم VI الذي يبين تركيز الكازيين في عينات مختلفة من الأبقارمن مناطق مختلفة من ولاية جيجل ، يبين الإختلا ف الواضح من بقرة إلى أخرى وبمعدل يقدر ب: 32.13 g/l.

إن هذه الإختلافات سببها عدة عوامل أهمها : التغذية ، فترة الرضاعة ،نوع البقرة ، عمر البقرة وزمن الحصول على الحليب [17]

الجدول VII يبين تراكيز الكازيين عند مجوعة من الماعز مع وجود اختلاف نوعا ما طفيف بمتوسط قدره 20.4 g/l .

والجدول VIIIالذي يبين التراكيز المختلفة للكازيين لمجموعة من النعاج ، حيث قدر المتوسط بـــــ:42،5 g/l .

وترجع الأسباب في اختلاف تراكيز الكازيين عند المصادر الثلاث إلى نفس العوامل والمذكورة سلفا : التغذية ، فترة الرضاعة ، نوع الحيوان ، عمرالحيوان وزمن الحصول على الحليب [17]

بينما نتائج الجدول رقم IX تبرهن بأن حليب البقرة والنعجة يكون غني بالفوسفوبروتينات مقارنة مع حليب العنزة وذلك لأن تركيز الفوسفوبروتينات يقاس بالشدة اللونية التي تراوحت بين الأصفر الليموني الشفاف(بالنسبة لحليب العنزة) ، والأصفر الليموني الفاتح (حليب البقر) و الأصفر الليموني الغامق (حليب النعجة)

وكخلاصة عامة فإن حليب النعجة هو الأغنى من حيث الكازيين والفوسفوبروتينات ، يليه حليب البقرة وأخيرا حليب العنزة الذي يعتبر فقير من حيث هذه المركبات.

الخلاصة

خلاصة عامة"

يعتبر الكازيين من أهم بروتينات الحليب ،ويختلف تركيز هذا البروتين من نوع حيواني إلى آخر.

وإن نتائج دراستنا وضحت كبقية الدراسات التي سبقتها في هذا المجال ،بأن حليب النعجة هوالأغنى بالكازيين والفوسفوبروتينات مقارنة مع حليب البقرة والعنزة وهذا الأخير هو الأفقر من حيث هذه المركبات .

إن محتوى حليب عينات مختلفة من نفس النوع الحيواني من الكازيين والفوسفوبروتينات يختلف اختلافا جدريا ،فعند البقر يتراوح من g/l 48،4 الى g/l 15،4 وعند العنزة من g/l 21،2 الى g/l 19،6 وعند النعاج من g/l 44،3 الى g/l 40.1 .

إن هذه الإختلافات في هذه المكونات سببها عدة عوامل أهمها : العمر، النوع أوالسلالة ، التغذية ، فترة الرضاعة ، الظروف الطبيعية .... إلخ

وبالتالي فإنه توجد علاقة كبيرة بين محتوى الحليب من الكازيين ومحتواه من الفوسفوبروتينات .

المراجع

المراجع باللغة الفرنسية :

1- BOURGEOIS.C.M,MESLE.JF et ZUCCA.j.1998.

Microbiologie alimentaire tome1.

Tome1 : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments.

2- CHARLES .A. et GUY.L 1997.

Abrégé de biochimie alimentaire. 4eme édition révisée et complétée.

Université de NANCY ; pp(167 –191).

3- CHARLES.A., 1975.

Science du lait et principes des technique laitière 3eme édition. SEP.Paris ; pp(35 – 60).

4- DRESDENIER.GW. and WAUGH. DF, 1964.

Feed proc-feed amer –soc- boil; pp (23 –47).

5- GUY.L et DENSI. L , 1994.

Biochimie agro-industrielle.

Valorisation alimentaire de la production agricole.

Masson- Paris- Milan- Barcelon ; pp (100-111)

6- KEILLING.J. et WILDER. 1995.

Laites et produits laitières ; vache brebis, chèvre.

Tec et doc. LAVOISIER ; pp (281 – 285).

7- KERRADA.A MIMECHE.H et LAARIUI.A.2002.

Contrôle de la qualité physicochimique du lait cru de deux région de la wilaya de Jijel.

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme DEUA.
Centre universitaire de Jijel pp (1-8)

8- KON.S. 1972.
Milkand milk products in human nutrition.F.A.O.ROME.

9- MICHEL et DOMONIQUE.F ; dépôt légal : Septembre 1995.
Le quide 1996 , édition Robert Laffont, partie d'agriculture ;
pp(1811 – 1859).

10- RENE.S., 1988.
Coordinateur biotéchnologie.3eme édition
TEC et DOC. LAVOISIER, Paris ; pp(420-455)

11- ZAABAT.S.et BOUMISSA.C., 2001.
Essais d'isolement et d'identification des bactéries lactiques à partir du lait de vache.
Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieur en biologie. Centre universitaire de Jijel ; pp (8)

المراجع باللغة العربية :

12- سمير أبو دينا، الدكتور أمين إسماعيل، الدكتور عبد المنعم وهبة، الدكتور أحمد يوسف، الدكتورة فاطمة سلامة. 1976
الألبان. دار المطبوعات؛ ص 41 –60 و 81 –86 .

13- سمير حسن الخشاب. 1998.
إنتاج اللبن ، الحيوان، المزرعة ، التجهيزات.
الدار العربية للنشر والتوزيع . الطبعة الولى ؛ ص 132- 138

14- عزيز كبروحنا والدكتور عطا الله سعيد. 1990.
مبادئ غنتاج الألبان والحليب.
دار ومكتبة الهلال بغداد.

15- غانم حداد 1980
الحليب ومشتقاته
مطبعة دمشق.

16- نور الدين شمس الدين، دكتور أحمد مالو، دكتور مروان البحرة، الدكتورة هيفاء العظمة 1985.
الكيمياء الحيوية الجزء العلمي.
ديوان المطبوعات الجامعية.

مواقع الأنترنيت :

17- http://www.fao.org/T4280FODHT # .

chapitre 2: lait d'animaux laitière.

18-http://www.fao.org#.chapitre7:lactosérum.

19-http//perso,calixo.net/braun/produits/lait/lactosérum.Htm.

20-http://perso,calixo.net/braun/produits/lait/caséine.htm

21-http://www.servicevie.com/01Alimentation/Guidealiment/

GAF-htm/html1001/1004.htm.

22-http://www.ULb/science/cudec/lait composition/htm.

23-http://sci.agr.ca/crda/pubs/chèvre200-goat2000.f.htm.

من إعداد الطالبات: فوغالية نبيلة
سعيداني أمال
غيشي نسيمة

تاريخ مناقشة المذكرة: 2003/09/24

الموضوع :معايرة الكازيين والكشف عن الفوسفوبروتينات في أنواع مختلفة من الحليب المحلي .

ملخص:

يعتبر الكازيين والفوسفوبروتينات من أهم بروتينات الحليب ، ويختلف تركيزها من نوع حيواني إلى آخر أوضحت دراستنا التي تمت على ثلاثة مصادرحيوانية محلية ، أن حليب النعجة هو الأغنى بالكازيين والفوسفوبروتينات مقارنة بحليب البقرة والعنزة ، هذا الأخير هو الأفقر من حيث هذه المركبات .

من خلال النتائج المتحوصل عليها، تبين أيضا أن محتوى الحليب من هذه المركبات ، يختلف من حيوان إلى آخر من نفس النوع . وهذا الاختلاف بين الأنواع وفي النوع الحيواني الواحد ، سببه عدة عوامل أهمها : العمر ،النوع،السلالة،التغذية والفصول.

Résumé

La caséine et les phosphoprotéines sont considérées comme les plus importantes protéines du lait, et leurs concentrations varient d'une espèce à l'autre.

Notre étude qui a été menée sur trois types des animaux de race locales montre que le lait de brebis est le plus riche en phosphoprotéine et en caséine que le lait de vache et de chèvre, le lait de cette dernière est le plus pauvre en ces composés.

D'après les résultats obtenus, il apparaît aussi que le contenu du lait de ces composés , diffèrent d'un animal à l'autre dans la même espèce .

La différence des concentrations de ces composés , entre les éspèces et dans la même espèce, résulte de plusieurs facteurs : l'âge, l'espèce , la race la nourriture et les saisons

Summary

The casein and phosphoprotein are considered as the most Important proteins of the milk .Their concentration is varied from a kind to an other.

Our study which has been done on three sources of local animals showed us that the milk of ewe is more rich than the milk of goat and caw on phosphoprotein and casein .goat's milk is the most poor on this components .

According to gotten the results , the content of the milk on thes components differs from an animals to an other in the same kind. And this difference between species and in the same animal of species is due to many factors such as : age , species , race , feeding , and 4 seasons .

Key words: Casein, Milk, Phosphoprotein