آزمایشگاه صنایع لبنی

مدرس: آزاده صیادی

نمونه برداری از شیر

نمونه ای که برای آزمایش انتخاب می‌گردد باید دربرگیرنده تمام مشخصات شیرهای مورد آزمایش باشد. به علت اختلاف بین وزن مخصوص سرم و چربی شیر خام، ذرات چربی دائما به طرف سطح صعود کرده و در آنجا جمع می‌شوند. این عمل در شیرهای هموژنیزه – پاستوریزه به ندرت دیده می‌شود به‌طوریکه اگر نمونه‌ای از شیر کاملا هموژنیزه را در یک استوانه مدرج به مدت ۲۴ ساعت در ۴/۴ درجه سانتی‌گراد نگه دارند، صعود ذرات چربی به سطح را نباید مشاهده کرد.

به هر حال برای نمونه برداری از شیر خصوصا برای تعیین میزان چربی شیر که تعیین کننده قیمت، مزه و طعم آن می‌باشد باید شیر را از یک پیمانه به پیمانه دیگر منتقل کرده تا نمونه شیر کاملا مخلوط و همگن گردد. در مورد نمونه‌های حجیم باید از بهم‌زن‌های مخصوص استفاده گردد و در تانک‌های بزرگ باید از قسمت‌های مختلف نمونه برداری شود. نمونه‌های شیر در ظروف شیشه‌ای و حتی‌الامکان استریل جمع آوری شده و در ۴/۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری می‌گردند بدون اینکه منجمد گردند.

تعیین میزان ترشی شیر

معمولا شیر تازه دارای واکنش اسیدی ضعیف بوده به‌طوریکه pH(منفی لگاریتم غلظت یون هیدروژن) آن بین ۶/۶ تا ۶/۸ می‌باشد. ترشی شیر و یا محصولات لبنی را با تعیین pHبه وسیله پی‌اچ مترو یا تعین میزان درصد و یا درجه اسیدهای آزاد و یا باند شده شیر اندازه می‌گیرند.

تعیین اسیدیته یا میزان کل اسیدهای آزاد و باند شده :

۱- روش سوکسله – هنکل،Soxhelet – Henkel(S.H.) : درجه اسیدیته .S.H عبارت است از مقدار میلی لیتر محلول سود ۰/۲۵ نرمال که ۱۰۰ میلی لیتر شیر را با استفاده از معرف فنل فتالئین خنثی نماید.

۲- روش تورنر Thorner : درجه اسیدیته تورنر عبارت است از مقدار میلی لیتر محلول سود ۰/۱ نرمال که ۱۰۰ میلی لیتر شیر را با استفاده از معرف فنل فتالئین خنثی نماید.

۳- روش دورنیک Dornic : درجه اسیدیته دورنیک عبارت است از مقدار میلی لیتر محلول سود $\frac{۱}{۹}$ نرمال که ۱۰۰ میلی لیتر شیر را با استفاده از معرف فنل فتالئین خنثی نماید. با تقسیم درجه دورنیک به ۱۰۰ می‌توان درصد اسید لاکتیک را در شیر محاسبه نمود.

برای تعیین اسیدیته دقیقا ۱۰ میلی لیتر شیر را در یک ارلن مایر ریخته، معادل آن آب مقطر بدون گازکربنیک اضافه نماییدو ۵ قطره معرف فنل فتالئین الکلی ۵٪ به آن اضافه کنید و با یک بورت قطره قطره محلول سود مورد نظر را اضافه کرده تا اولین قطره که رنگ صورتی کم‌رنگ پدیدار شود. سپس میلی لیتر سود مصرفی را در ۱۰ ضرب کنید تا درجه‌های اسیدیته بالا بدست آید.

از طرفی برای محاسبه درصد اسیدیته برحسب اسید لاکتیک ۱۸ گرم شیر معادل ۱۷/۶ میلی لیتر را با پیپت مخصوص در یک ارلن ریخته و معادل آن آب بدون گازکربنیک بیفزایید و پس از افزودن ۸ قطره معرف فنل فتالئین با سود ۰/۱ نرمال تیتر کنید و مطابق فرمول زیر درصد اسیدیته را حساب کنید.

$$\text{اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک} = \frac{\mathbf{100} * \mathbf{90} * \text{نرمالیته} * (\mathbf{ml}) \text{ سود مصرفی}}{\text{وزن نمونه } (\boldsymbol{gr}) * \mathbf{1000}}$$

عدد اسیدیته می‌تواند تازگی یا کهنگی شیر، کیفیت جابه جایی و نگهداری و همچنین میزان باکتری‌های موجود در آن را به طور تقریبی نشان دهد. اسیدیته شیر تازه معادل ۱۳ تا ۱۸ درجه دورنیک و یا ۰/۱۳ تا ۰/۱۸ درصد اسید لاکتیک می‌باشد. شیر تازه حاوی اسید لاکتیک نبوده و این اسیدیته در اثر وجود سیترات‌ها، فسفات‌ها، اسید سیتریک و پروتئین‌های شیر می‌باشد. در اثر تخمیر میکروبی قند موجود در شیر (لاکتوز) تبدیل به اسیدلاکتیک شده و اسیدیته شیر را افزایش می‌دهد.

تعیین پی‌اِچ شیر :

تعیینpHشیر، یکی دیگر از راه های اندازه گیری اسیدیته شیر است. pH شیر تازه بین ۶/۶ تا ۶/۸ است و با بالا رفتن اسیدیته شیر، pH آن کاهش می‌یابد. برای تعیینpHشیر می‌توان از کاغذهای مخصوص pHو یا pHسنج‌های الکتریکی دارای الکترود مناسب استفاده کرد.

آزمایش جوش :

یکی دیگر از آزمایش‌های کنترل کیفیت شیر، آزمایش جوش است. شیرهای ترش شده در اثر حرارت لخته می‌شوند. ۵ میلی لیتر از شیر مورد آزمایش را در یک لوله آزمایش ریخته و در حمام آب جوش به مدت ۵ دقیقه، حرارت دهید. اگر کیفیت شیر پایین باشد، منعقد می‌شود. در غیر این صورت، شکل ظاهری آن تغییر نمی‌کند.

مواد خنثی کننده مانند آب آهک، هیدروکسید سدیم، کربنات سدیم یا بی‌کربنات سدیم (جوش شیرین) که به‌طور کلی ممنوع است به شیر افزوده شود. شیرآلودهوفاسددراثرحرارتلختهشده و تبدیل به دو فازمایع و دلمه می‌گردد که این عمل به علت بالا رفتن مقدار اسیدهای آلی سنتزشده توسط میکروب‌های آلوده کننده شیر می‌باشد. برای پوشاندن عیب و فساد شیر، مقداری جوش شیرین به شیر فاسد می‌افزایند که موجب خنثی شدن اسیدهای حاصل از میکروب‌ها شده و به این ترتیب شیر در اثر حرارت لخته نمی‌شود و فساد آن مخفی می‌ماند.

*تست جوش برای تشخیص وجود جوش شیرین : افزون جوش شیرین به شیر باعث می‌شود اسید لاکتیک با آن ترکیب شده، نمک و اسید کربنیک ایجاد شود که ترشیدگی شیر را می‌پوشاند. اما در اثر جوشاندن شیر تقلبی

اسید کربنیک به H_2O+CO_2تجزیه شدهو CO_2 خارج می‌شود. درنتیجه اسیدیته بعد ازجوش افت می‌کند. بنابراین اگر اختلاف اسیدیته قبل و بعد ازجوش بیش ازیکدرجه دورنیک باشد شیر تقلبی محسوب می‌شود.

$$NaHCO_3 + CH3CHOHCOOH \rightarrow CH_3CHOHCOO^-Na^+ + \ NaHCO_3$$

اسیدکربنیک+لاکتاتسدیم⟶اسیدلاکتیک+جوش‌شیرین

آزمایش الکل :

معمولاً، افزودن الکل به شیر ترش شده، موجب انعقاد آن می‌شود. از این خاصیت می‌توان برای تعیین کیفیت شیر استفاده کرد. البته عواملی مانند بیماری ورم پستان گاو، وجود رنین و کلستروم نیز باعث انعقاد شیر می‌شوند.

۱- الکل ۷۵٪ و شیر مورد آزمایش را با حجم‌های مساوی در یک لوله آزمایش بریزید.

۲- لوله ازمایش را به خوبی تکان دهید، اگر شیر لخته شد، جواب آزمایش مثبت است.

اندازه گیری دانسیته و یا وزن مخصوص شیر

وزن مخصوص شیر به‌طور طبیعی ۱/۰۲۷ تا ۱/۰۳۵ است. وزن مخصوص شیر به علت حل شدن مواد جامد در آن از آب بیشتر است. چنانچه به شیر آب اضافه شود وزن مخصوص آن کاهش می‌یابد و اگر چربی شیر جدا شود وزن مخصوص آن افزایش می‌یابد.اندازه گیری دانسیته شیر به منظور کشف تقلباتی نظیر افزودن آب و یا حذف چربی صورت می‌گیرد.البته چنانچه تقلب مضاعف صورت پذیرد (یعنی افزودن آب و حذف چربی) دانسیته معیار مناسبی جهت تشخیص این نوع تقلب نبوده و در این موارد از ثابت‌ترین ویژگی فیزیکی شیر یعنی نقطه انجماد استفاده می‌شود. اندازه گیری نقطه انجماد شیر توسط دستگاهی به نام کرایوسکوپ(Cryoscope) انجام می‌گیرد. با افزودن آب به شیر نقطه انجماد آن افزایش خواهد یافت و به نقطه انجماد آب یعنی صفر درجه سانتی‌گراد نزدیک‌ترخواهد شد.نقطه انجماد شیر از ۰/۵۳- تا ۰/۵۷- متغیر بوده و عواملی مانند مواد جامد محلول در شیر مانند لاکتوز، نمک‌ها و گاز کربنیک محلول باعث کمتر شدن نقطه انجماد از صفر شده است.

دانسیته شیر معادل وزن یک لیتر شیر بر حسب کیلوگرم در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.با استفاده از هیدرومترهای خاصی به نام لاکتومتر می‌توان دانسیته شیر را اندازه‌گیری نمود و با اندازه گیری وزن مخصوص شیر می‌توان ماده جامد و همچنین ماده جامد غیر چرب آن‌را محاسبه نمود.

با توجه به اینکه وزن مخصوص شیر بستگی به حالت فیزیکی چربی آن دارد بنابراین بهتر است ابتدا شیر را تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد گرم کرده و سپس تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد خنک کرده و بلافاصله وزن مخصوص آن اندازه گیری شود.

لاکتومترها طوری درجه‌بندی شده‌اند که وزن مخصوص شیر به کمک تعیین نسبت وزنی آب و شیر در واحد حجم و درجه حرارت معین اندازه‌گیری می‌شود. اساس کار بر جابجایی مقدار مایع هم وزن یک جسم شناور و رابطه وزن مخصوص یک محلول با کل ماده خشک موجود در آن محلول قرار دارد. کل ماده خشک شیر را چربی و مواد جامد غیر چرب از قبیل پروتئین‌ها، لاکتوز، املاح و ... تشکیل می‌دهد. وزن مخصوص چربی شیر حدود ۰/۹۳ و وزن مخصوص ماده جامد غیر چرب در شیر $\frac{gr}{cm^3}$ ۱/۵ می‌باشد. بنابراین وزن مخصوص یک نمونه به رابطه بین چربی و ماده خشک غیرچرب شیر بستگی دارد. متداول‌ترین نوع لاکتومتر با درجه‌بندی دقیق لاکتومتر کوئن (Quevenne)که با درجه‌بندی ۱۵ تا ۴۰ و دقت ۰/۱ اعشار می‌باشد و که مطابق با وزن

مخصوص ۱/۰۱۵ تا ۱/۰۴۰ درجه‌بندی شده. همچنین ترمومتری در بالای گردن آن تعبیه شده تابتوان در جداول مخصوص، وزن مخصوص را در درجه حرارت‌های مختلف تصحیح نمود زیرا این‌گونه لاکتومتر مخصوص اندازه گیری وزن مخصوص در ۱۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

پس از تهیه و آماده کردن شیر، آن را به آرامی در یک استوانه مدرج بزرگ تا حدی که لاکتومتر در آن جا بگیرد بریزید.لاکتومتر را در شیر غوطه‌ور نمایید و پس از ثابت شدن، عدد روی گردن باریک لاکتومتر که در تماس با سطح شیر می‌باشد را یادداشت کرده و وزن مخصوص را محاسبه کنید. فاصله زمانی بین وارد کردن لاکتومتر در شیر و خواندن آن باید بیش از ۳۰ ثانیه و کمتر از ۲ دقیقه باشد.

تذکر : اگر در زمان اندازه گیری، درجه حرارت نمونه مطابق با درجه حرارت استاندارد لاکتومتر نباشد، باید درجه لاکتومتر را برای این دما از جداول مخصوص تصحیح کرد. در درجه‌بندی کوئن به ازای هر درجه سانتی‌گراد بیشتر یا کمتر از ۱۵ درجه سانتی‌گراد، به ترتیب ۰/۲ درجه اضافه یا کسر می‌گردد.

برای محاسبات از فرمول‌های زیر استفاده کنید.

$$\text{وزن مخصوص} = ۱ + \frac{\text{عدد لاکتومتر}}{1000}$$
$$\text{کل ماده خشک} = ۱/۲ \text{ (درصد چربی)} + \frac{\text{عدد لاکتومتر}}{4}$$
$$\text{ماده خشک غیر چرب} = ۰/۲ \text{ (درصد چربی)} + \frac{\text{عدد لاکتومتر}}{4}$$

آزمایش احیاء متیلن بلو

آزمایش احیاء متیلن بلو به طور تقریبی تعداد باکتری‌های موجود در شیر را تعیین می‌کند و به عنوان یک روش سریع برای ارزیابی کیفیت شیر از نظر کهنگی در اکثر کارخانجات شیر به‌کار می‌رود. اساس آزمایش مبنی بر این است که رشد و فعالیت باکتری‌ها در یک محیط موجب کاهش اکسیژن و پایین آمدن پتانسیل اکسیداسیون و احیا (Redox) می‌شود. معرف متیلن بلو در یک محیط اکسیداسیون دارای رنگ آبی است اما پس از مصرف اکسیژن محیط توسط باکتری‌های موجود در شیر رنگ خود را از دست داده و بی‌رنگ می‌شود. زمان احیاء متیلن بلو (زمان تغییر رنگ متیلن بلو) با تعداد باکتری‌های موجود در شیر نسبت عکس دارد. این روش دارای مزایای زیر می‌باشد :

- تقریبا سریع است و نتایج را ظرف ۱ تا ۳ ساعت به دست می‌دهد.
- به حداقل وسیله، جا و بودجه نیازمند است.
- تعداد زیادی نمونه را می‌توان در مدت کوتاهی آزمایش نمود.

در عوض دارای معایبی نیز می‌باشد ازجمله اینکه فقط تعداد باکتری‌ها را نشان می‌دهد و از روی آن نمی‌توان به انواع احتمالی آن‌ها و پاتوژن و غیر پاتوژن بودن آن‌ها پی‌برد. همچنین نتایج تا حدی تابع دما، نور، انواع مختلف باکتری‌ها و مواد طبیعی احیاء کننده موجود در ماده غذایی می‌باشد.

روش آزمایش : ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از شیر خام مورد آزمایش و یا شیر پاستوریزه را دریک لوله آزمایش استریل در داربریزید. سپسیک میلی لیتر محلول تیوسیانات متیلن بلو را به آن اضافه کرده و مخلوط کنید.به عنوان محلول کنترل، درلوله آزمایش دیگری ۱۰ میلی‌لیتر شیر استریل ریخته و یک میلی‌لیتر محلول متیلن بلو را به خوبی با آن مخلوط کنید.لوله‌ها را در حمام آب۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و هر ۵ دقیقه یک بار، آن‌ها رااز نظر تغییر رنگ کنترل کنید. اگر پس از نیم ساعت، هیچ تغییر رنگی صورت نگرفت، هر یک ساعت یک بار آن‌ها را کنترل کنید. مقدار تقریبی باکتری‌ها را از روی جدول محاسبه نمایید.

کیفیت شیر	زمان لازم برای بی‌رنگ شدن متیلن بلو	تعداد تقریبی باکتری‌هادر یک میلی‌لیتر شیر
خوب	بیش از ۸ ساعت	کمتر از 5×10^5
نسبتاً خوب	۶ تا ۸ساعت	10^6 تا 2×10^6
قابل قبول	۲ تا ۶ساعت	4×10^6 تا 20×10^6
بد	کمتر از ۲ ساعت	بیش از 20×10^6

آزمایش تشخیص آنتی بیوتیک در شیر

مقدار بسیار کم ازآنتی بیوتیکی که برای درمان ورم پستان گاو به‌کار می‌رود تا ۳ روز پس از آخرین مصرف در شیر گاو موجود است. در ضمن اگر به جیره غذایی حیوان آنتی بیوتیکاضافه شده باشد، شیر حاصله آلوده به آنتی بیوتیک خواهد بود. وجود آنتی بیوتیک در شیر دو عارضه زیر را موجب می‌شود

۱- آنتی بیوتیک از رشد باکتری‌های مفید که تولید اسید لاکتیک می‌کنند جلوگیری می‌کند. بنابراین، نمی‌توان مواد لبنی تخمیری از قبیل پنیر، ماست و ... از چنین شیری تهیه کرد.

۲- چون بعضی افراد به آنتی بیوتیک (مخصوصاً پنی سیلین) حتی به مقدار بسیار کم، حساسیت دارند، مصرف چنین شیری باعث بروز علائم حساسیت در پوست و دستگاه گوارش می‌شود.

روش تخمیر :

اساس آزمایش : همان طور که قبلاً اشاره شد وجود آنتی بیوتیک در شیر از رشد باکتری‌های لاکتیک در محصولات لبنی تخمیری جلوگیری می‌کند. بر همین اساس می‌توان به وجود یا عدم وجود آنتی بیوتیک‌ها در شیر پی برد.

روش آزمایش : شیر مورد آزمایش و یک شیر بدون آنتی بیوتیک شاهد را در دو لوله آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه تا دمای ۹۰ درجه سانتی‌گرادحرارت دهید. سپس آن‌ها را سرد کرده و به دمای ۴۵ درجهسانتی‌گراد برسانید. هر دو نمونه را با ۲ ٪ مایه ماست مخلوط کرده و به خوبی به هم بزنید. نمونه ها را به مدت ۳ ساعت در اینکوباتور با دمای ۴۳ درجه سانتی‌گرادقرار دهید.پس از ۳ ساعت لوله ها را از اینکو باتور خارج کرده و به مدت یک ساعت در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گرادقرار دهید.ویسکوزیته ماست تولید شده در هر دو لوله را می‌توان با رها کردن دو سنگ جوش و مقایسه سرعت پایین آمدن آن‌ها در لوله ها تعیین کرد.

در صورتی که شیر مورد آزمایش حاوی آنتی‌بیوتیک باشد، ماست به وجود آمده دارای بافتی ضعیف بوده و سنگ جوش به سرعت به ته لوله می‌رسد. در این آزمایش باید دقت شود که دو لوله (شاهد و نمونه) در شرایط یکسان باشند.

استفاده از کیت‌ها و شناساگرها:

تواین سنسور (Twinsensor) یک آزمایش سریع است که هم‌زمان به شما اجازه تشخیصحضورمولکول‌های بتا لاکتام (β-latam) و تتراسایکلین را می‌دهد.تواین سنسوریک آزمون مقرون به صرفه شامل ۲ گیرنده می‌باشد. جزء اول شامل یک ظرف کوچک (microwell) حاوی مقادیر مشخصی از گیرنده‌ها و آنتی‌بادی می‌باشد و دومین جزء نوارهایی هستند که از یکسری غشاها در محل‌هایی‌که خطوط جذب وجود دارند ساخته شده‌اند. خط کنترل که به رنگ قرمز روی نوارهای استریپ چاپ شده است در یک آزمایش معتبر همیشه قابل مشاهده است و دو خط دیگر خطوط مخصوص آزمایش هستند که در دو طرف خط کنترل قرار دارند. خط مربوط به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها) زیر خط کنترل و خط مربوط به تتراسایکلین‌ها بالای خط کنترل قرار دارد. هنگامی‌که واکنشگرداخل ظرف کوچک در نمونه شیر به حالت تعلیق در می‌آید هردو گیرنده می‌توانند به آنالیت‌های خود، اگر در شیر موجود باشند، متصل شوند. پس از آن هنگامی‌که نوار استریپ در شیر قرار داده می‌شود، شیر جذب نوار می‌شود و از نواحی واکنش عبور می‌کنند. هنگامی‌که نمونه فاقد آنتی‌بیوتیک باشد، رنگ در خطوط واکنش گسترش می‌یابد که نشان دهنده فقدان آنالیت هدف در نمونه شیر می‌باشد. برعکس، حضور آنتی‌بیوتیک در نمونه باعث ایجاد رنگ روی خطوط واکنش نمی‌شود.

روش آزمایش : ۲۰۰ میکرولیتر از شیر را به یک ظرف کوچک واکنش اضافه کنید و کاملا مخلوط کنید. ظرف را ۳ دقیقه در ۴۰ درجه سانتی‌گرادگرمخانه گذاری کنید. یک نوار باریک را در هر ظرف کوچک قرار دهید. گرمخانه گذاری را ۳ دقیقه در ۴۰ درجه سانتی‌گراد ادامه دهید. سپس ایجاد رنگ روی نوار باریک را مقایسه بررسی کنید.

اندازه گیری چربی شیر و ماست به روش ژربر

اهمیت اندازه‌گیری چربی :

۱- تطبیق میزان چربی با استانداردهای تعیین‌شده

۲- کشف تقلبات شیر

۳- تعیین قیمت شیر خریداری شده از دامداری‌ها

۴- محاسبه مقدار کره و خامه که از شیر به‌دست می‌آید.

۵- تعیین بهترین گاو برای اصلاح نژاد گاوهای شیری بر اساس مقدار چربی آن‌ها.

اصول روش اندازه‌گیری : متداول‌ترین روش در ایران و کشورهای اروپائی روش ژربر است (Gerber)که در سال ۱۹۸۲ توسط نیکولا ژربر سوئیسی ابداع گردید. اساس آزمایش پاره کردن غشا پروتئینی گلبول‌های چربی شیر توسط اسید سولفوریک غلیظ و جدا کردن چربی با استفاده از نیروی گریز از مرکز می‌باشد.

در این آزمایش برای پیشگیری از تشکیل ذرات ذغالی و همچنین تسریع عمل اسید از الکل ایزوآمیلیک استفاده می‌شود.

وسایل و مواد شیمیایی لازم

۱- اسید سولفوریک ۹۰ تا ۹۱ ٪

۲- الکل ایزو آمیلیک(وزن مخصوص ۰/۸۱ ت ۰/۸۱۸)

۳-بوتیرومتر ژربر مخصوص شیر : بوتیرومتراز یک مخزن استوانه ای، یک ستون مدرج و یک حباب تشکیل شده است. ستون مدرج معمولاً، بر حسب در صد، از صفر تا ۸ درجه بندی شده است.

۴- پیپت ۱۱ میلی لیتری مخصوص شیر.

۵- پیپت ۱۰ میلی لیتری حباب دار مخصوص اسید سولفوریک.

۶- پیپت یک میلی لیتری حباب دار مخصوص الکل آمیلیک.

۷- سانتریفوژ ژربر با سرعت متوسط ۱۰۰۰ – ۱۲۰۰ دوردردقیقه.

۸- حمام آب گرم: دمای آب باید روی ۶۵ -۷۰ درجه تنظیم شود.

روش آزمایش

۱-ابتدا دمای نمونه‌ها را به ۲۰ درجهسانتی‌گراد برسانید. سپس بوتیرومتررا در جای مخصوص طوری قرار دهید که حباب آن به طرف پایین باشد.

۲- ده میلی‌لیتر اسید سولفوریک را طوری در بوتیرومتربریزید که قسمت بالای دستگاه به اسید آغشته نشود.

۳- با یک پیپت ۱۱ میلی‌لیتری، ۱۱ میلی لیتر شیر را به آهستگی در بوتیرومتربریزید. شیر را از کنار دیوار چربی سنج طوری بریزید که حتی الامکان از واکنش اسید با شیر جلوگیری شود.

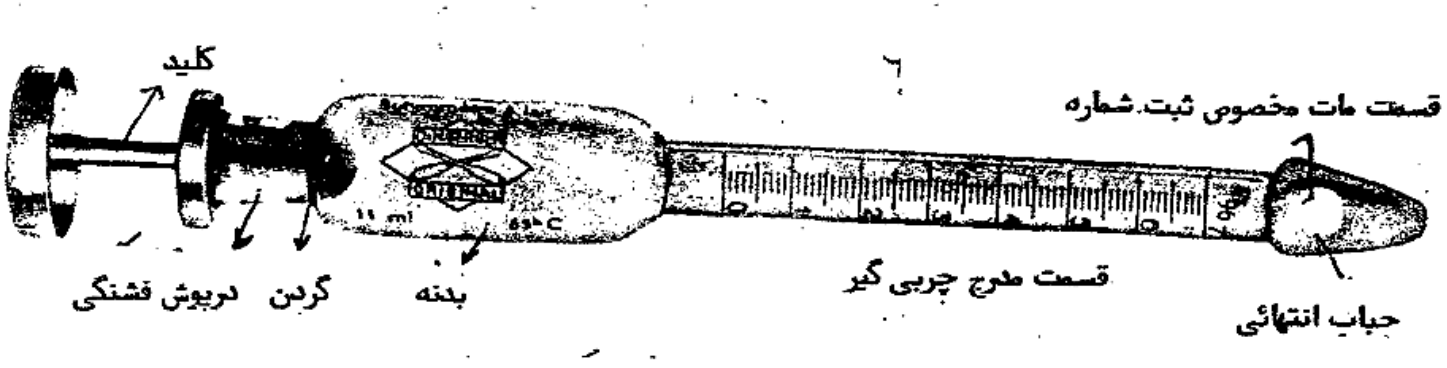
۴- یک میلی‌لیتر الکل آمیلیک به بوتیرومتر بیافزایید.

۵- در مخصوص بوتیرومتررا خیلی محکم در جای خود قرار داده و محتویات آن را به آرامی مخلوط کنید تا پروتئین شیر کاملاً حل شود.

۶- بوتیرومتررا طوری در سانتریفوژ مخصوص این کار قرار دهید که در آن به طرف پایین و حباب آن به طرف مرکز قرار گیرد آنگاه به مدت پنج دقیقه سانتریفوژ کنید.

۷- بوتیرومتررا خارج کرده وبه مدت پنج دقیقه در حمام آب ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار دهید.

۸- درصد چربی شیر را از روی ستون مدرج بوتیرومتربخوانید. با حرکت دادن در بوسیله میخ مخصوص، می‌توان ستون چربی را طوری جابجا کرد که عمل خواندن آسان‌تر شود. هنگام خواندن ستون چربی باید طلایی روشن و بدون ذرات معلق باشد.



شکل ۱ــ چربی سنج ، درپوش فشنگی ــ کلید

اندازه گیری پروتئین شیر:

مقدار پروتئین در شیر عاملی مهم در پنیر سازی و تعیین قیمت شیر است. در کارخانه های پنیر سازی، شیر بر اساس مقدار پروتئین موجود در آن قیمت گذاری می‌شود. روش معمول برای اندازه گیری پروتئین روش کلدال می‌باشد که روشی پیچیده است و نیازمند به زمان زیاد می‌باشد. تیتراسیون فرمل و جذب رنگ از روش‌های اندازه‌گیری پروتئین می‌باشند.

بعضی از رنگ‌ها می‌توانند گروه های قطبی پروتئین‌های دارای بار الکتریکی مخالف را جذب کنند. پروتئین‌های شیر به عنوان کاتیون، عمل کرده و اگر ماده رنگی حاوی بار الکتریکی منفی را وارد شیر کنیم، با پروتئین شیر تشکیل کمپلکس غیر محلول می‌دهد که می‌توان از طریق سانتریفوژ با صافی می‌توان آن را از محیط خارج کرد و غلظت رنگ باقیمانده را که جذب مولکول‌های پروتئین نشده را با اندازه گیری دانسیته اپتیک محلول تعیین کرد. متداول‌ترین رنگ‌های مورد استفاده عبارت اند از : آمیدوبلاک، اورنج و اسید اورنج ۱۲ .

اساس روش تیتراسیون فرمل: اسیدهای آمینه شیر به‌علت وجود عوامل NH_2 و $COOH$ از نظر فعل و انفعالات اسیدی بسیار ضعیف می‌باشند. بنابراین اگر به آن فرمالین اضافه شود عامل NH_2 اسید آمینه تبدیل به $N=CH_2$ (متیلن ایمینو= Methylenimino) می‌گردد. بنابراین هرگاه بر روی شیر خنثی شده فرمالین اضافه گردد به مقدار اسید آمینه، اسید آزاد که متناسب با پروتئین شیر است تشکیل می‌گردد.

روش آزمایش : به ده میلی لیتر از شیر نمونه، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر عاری از CO_2 و ۵ قطره معرف فنل فتالئین الکلی ۵٪ اضافه کنید و با یک بورت قطره قطره محلول سود ۰/۱ نرمال را اضافه کرده تا اولین قطره که رنگ صورتی کم‌رنگ پدیدار شود. سپس دو میلی لیتر فرمالین به مخلوط افزوده، کاملاً مخلوط کرده و بگذارید به مدت چند دقیقه بماند. اسید نهایی تولید شده را با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیتر کنیدتا رنگ صورتی کم‌رنگ اولیه ظاهر شود (a میلی‌لیتر)

برای انجام آزمایش شاهد،۲ میلی لیتر فرمالین را به ۱۰ میلی لیتر آب اضافه کرده و با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تیتر کنید(b میلی‌لیتر)

درصد پروتئین شیر = ۱/۹۵ (a-b)

اندازه گیری سینرزیس یا میزان آب اندازی ماست :

طبق تعریف سازمان بهداشت جهانی،ماست شیرمنعقد شدهای است که درنتیجه تخمیرلاکتیکی لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس از شیر بدست می‌آید که می‌توان به دلخواه به آن شیر خشک کامل یا شیرخشک بدون چربی، خامه، پودرآب پنیر و ... افزود این دو میکروارگانیسم در محصول نهایی باید به صورت زنده، فعال و به مقدار قابل قبول وجود داشته باشند.

مراحل تولید :

شیر مورد استفاده در تولید ماست پس از دریافت باید صاف شود (توسط صافی و دستگاه کلاریفایر).

استاندارد کردن شیر (تنظیم نسبت چربی و مواد خشک بدون چربی) : در تنظیم نسبت چربی و مواد خشک بدون چربی شیر از چربی شیر، شیر خشک و سایر فرآورده‌های مشتق از شیر و یا تغلیظ به وسیله تبخیر تحت خلا، حرارت دهی و اولترا فیلتراسیون استفاده می‌شود. این عملیات موجب بهبود قوام و بافت فرآورده می‌گردد. معمولاًافزایش ماده خشک بدون چربی (Solid Not Fat :SNF)ازحداستاندارد۹به ۱۲ تا ۱۳درصد درمحصول نهایی انجام می‌شود.

سالم سازی حرارتی شیر: شدیدتر از شیر می‌باشد و معمولا در دمای ۸۵ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه انجام می‌شود.

سرد کردن تا دمای گرمخانه گذاری: پس از فرآیند حرارتی شیر باید تا دمای ۴۰ تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شود.دمای مناسب در هنگام افزودن مایه بسیار مهم است. مایه زنی در دمای بالا باعث ترش شدن ماست و افزایش سرعت انعقاد شده و دمای پایین مایه زنی منجر به طولانی شدن زمان انعقاد، شیرین شدن و کاهش عطر و طعم ماست می‌گردد.

مایه زنی : یکی از مراحل اساسی فرآیند تولید ماست در واحدهای صنعتی، تلقیح شیر با کشت استارترهایی است که در آن لاکتو باسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس واسترپتوکوکوس ترموفیلوس باکتری‌های غالب هستند، به طوری که میزان ونسبت این دوباکتری تاثیر زیادی بر روی کیفیت ماست تولید شده دارد. لذا استفاده از استارترهای مناسب سبب تولید ماست با عطر،طعم و بافت مناسب می‌شود.

سرد کردن : پس از اینکه لخته به اسیدیته مناسب (۰/۶ تا ۰/۸ درصد اسید لاکتیک) رسید، عمل سرد کردن باید به منظور کنترل فعالیت متابولیکی مایه ماست انجام شود. در این مرحله دمای ماست باید به کمتر از ۱۰ درجه (ترجیها ۲ تا ۵ درجه سانتی‌گراد) رسانیده شود.

اندازه گیری سینرزیس یا میزان آب اندازی ماست : درپروسه تولیدماست، تیمارحرارتی یکی از مهم‌ترین عوامل کلاسیک تاثیرگذار برخصوصیات بافتی ماست می‌باشد. حرارت دهی بالای شیر (دمای بالاتر از ۷۰ درجه سانتی‌گراد) موجب باز شدن ساختار کروی پروتئینهای آب پنیر و اجتماع یافتن آنها می‌شود . برخی از این پروتئین‌های آب پنیر دناتوره با میسل‌های کازئین درگیر می‌شوند و همانند زوایدی بر سطح میسل‌ها مشاهده می‌شوند. اتصال پروتئین‌های سرمی به میسل‌ها موجب افزایش قطر آن‌ها شده و از طرفی ظرفیت اتصال به آب آن‌ها را افزایش می‌دهد. افزایش آب متصل به کازئین‌ها موجب کاهش آب در فاز پیوسته شده و ویسکوزیته لخته افزایش می‌یابد . درصد مواد جامد کل شیر هم اگر افزایش یابد، موجب افزایش سختی لخته می‌گردد و این افزایش مقاومت در برابر تغییر شکل، می‌تواند به مقادیر بالاتر پروتئین نسبت داده شود که موجب افزایش در میزان آب باند شده گردیده و لخته‌ای قویتر را بوجود می‌آورد. مایه کشت‌های مختلف نیز می‌توانند ازطرق مختلف ازجمله توانایی در تولید پلی ساکاریدهای خارج سلولی(EPS : exopolysaccharides) و یا تفاوت درEPS تولیدی آن‌ها موجب بروز تفاوت در ویسکوزیته محصول گردند . افزودن هیدروکلوئیدها هم معمولاً یک قوام یکنواخت به محصول می‌دهند و از دو فازی شدن محصول ممانعت کرده و یا حداقل آن را به تاخیر می‌اندازند.

برای اندازه گیری سینرزیس به عنوان یکی از فاکتورهای مهم فیزیکی در تولید ماست از سانتریفیوژاستفاده می‌شود. در هر یک از فالکون‌های سانتریفوژ حدود۱۵ گرم نمونه به دقت توزین شده و بعداز بستن درب، درسانتریفوژ با دور۳۵۰۰ دوردردقیقه به مدت۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سانتریفوژ یخچال دار سانتریفوژ شوند. سپس فالکون‌ها راخارج و مایع رویی (supernatants)را تخلیه کرده و مجدداً فالکونها وزن شوند. ازفرمول زیر برای محاسبه میزان سینرزیس استفاده می‌شودکه مقدارسینرزیس برحسب درصد آب جدا شده گزارش می‌نماید.

$$\text{آب خارج شده } (\frac{gr}{100gr}) = \frac{\text{وزن اولیه نمونه—وزن نمونه بعد از خالی کردن مایع رویی}}{\text{وزن اولیه نمونه}}$$

مشاهده باکتری‌های ماست :

لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس : میکروارگانیسم‌های گرمادوستی هستند که درزیر میکروسکوپ معمولابه اشکال میله‌ای کوتاهو گاهی اوقات در فرم‌های بلندتر نیز دیده می‌شوند.

استرپتوکوکوس ترموفیلوس : میکروارگانیسم‌های گرمادوستی هستند که در زیر میکروسکوپ به صورت یاخته‌های کروی ویا بیضی شکلبا آرایش دیپلوکوکسی یا زنجیره‌ای بلند می‌باشند.

برای مشاهده باکتری‌های ماست ابتدا ۲ تا ۳ لوپ از نمونه را روی لام گسترش می‌دهیم و می‌گذاریم در دمای محیط خشک شود. بعد با حرکت دادن لام روی شعله، نمونه را تثبیت می‌کنیم. برای رنگ‌آمیزی از رنگ متیلن بلو مقداری روی نمونه ریخته می‌گذاریم خشک شود. سپس نمونه را زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی مناسب مشاهده می‌کنیم.

عوامل مؤثر بر لخته شدن شیر:

عواملی که بر روی لخته شدن شیر تاثیر می‌گذارند و خواص مختلفی به آن می‌دهند در پنیر سازی بسیار مهم هستند. از جمله این عوامل می‌توان نوع آنزیم، قدرت آنزیم، غلظت سوبسترا، pH، درجه حرارت، میزان کلسیم، میزان فسفات کلسیم، پراکندگی و اندازه میسل‌ها، نوع کازئین، حضور اسیدهای چرب و ... را نام برد.

آنزیم‌های زیادی برای انعقاد آنزیمی وجود دارد که دارای منشا مختلفی هستند (گیاهی، حیوانی، میکروبی و آنزیم‌هایی که از طریق بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک به دست می‌آیند).

رنین یک پپتیداز اسیدی است که pH بهینه برای فعالیت آن ۵/۵ می‌باشد، در pH= 7.5 فعالیت آن متوقف می‌شود و در pH= 8 دناتوره می‌شود. و درجه حرارت بهینه برای آنزیم زنی ۲۸ تا ۳۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. درجه حرارت بر روی ظرفیت نگه‌داری آب، اسیدیته و سینرزیس آب پنیر از دلمه تاثیر می‌گذارد.

منظور از غلظت سوبسترا بیشتر غلظت کازئین و در درجه دوم املاح بخصوص کلسیم است. اعتقاد بر این است که در استاندارد کردن پروتئین شیر در دامنه غلظت ۳/۵ تا ۲۰ درصد زمان انعقاد به‌صورت لگاریتمی تغییر می‌کند. بنابراین می‌توانیم از طریق غلظت سوبسترا و میزان آنزیم روی زمان انعقاد تاثیر بگذاریم.

تغییرات جزئی در میزان کلسیم بر روی زمان انعقاد تاثیر می‌گذارد. هرچه میزان فسفات کلسیم کلوئیدی بیشتر باشد زمان انعقاد کمتر می‌شود البته این مورد در صورتی رخ می‌دهد که بالا رفتن فسفات کلسیم کلوئیدی به ضرر میزان کلسیم یونیزه نباشد.

حرارت دادن شیر باعث تغییر سیستم‌های نمکی شیر می‌شود. فسفات کلسیم بر خلاف اکثر نمک‌های دیگر حلالیت کمتری در درجه حلالیت‌های بالا دارد. در اثر حرارت، کلسیم از سیترات کلسیم کلوئیدی جدا شده و متعاقب آن به صورت فسفات کلسیم کلوئیدی رسوب می‌نماید.

در این آزمایش تاثیر حرارت و مقدار کلسیم را مورد مطالعه قرار می‌دهیم. توجه کنید که روش آزمایشگاهی بطور کامل و دقیق اجرا شود زیرا کمترین اشتباه و یا تغییر در روش باعث خطا در نتایج خواهد شد.

اثر نمک کلرور کلسیم و حرارت و آنزیم لخته کننده : در ۸ بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری دقیقا ۲۰۰ میلی‌لیتر شیر کم چرب بریزید. بشرهای شماره ۱ و ۲ را در دمای اطاق نگه دارید. بشرهای ۳ و ۴ را به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت ۶۳ درجه سانتی‌گراد قرار دهید. بشرهای ۵ و ۶ را به مدت ۵ دقیقه در حرارت ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار دهید و بالاخره بشرهای ۷ و ۸ را به مدت ۲ دقیقه بجوشانید. این اعمال حرارتی باید در حمام آب گرم انجام شوند. پس از اعمال حرارتی همه نمونه‌ها را به حرارت ۳۵ درجه سانتی‌گراد برسانید و در بشرهای ۲، ۴، ۶ و ۸ مقدار ۰/۰۸ گرم نمک کلرور کلسیم اضافه کنید. بدین ترتیب که ابتدا آن را در ۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به شیر اضافه و خوب مخلوط کنید. پس از آن به نمونه‌های شیر آنزیم اضافه کنید به این صورت که ابتدا بر اساس قدرت آنزیم مقدار لازم برای ۲۰۰ میلی‌لیتر شیر را حساب کرده، آن را در مقدار بسیار کمی آب ولرم حل کرده و به نمونه‌های شیر آنزیم اضافه کنید. سپس نیم دقیقه مخلوط را به‌هم بزنید و بعد در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری نمایید. سرعت و کیفیت تشکیل لخته‌ها را در عرض ۶۰ دقیقه ارزیابی کنید.