

دراسة أهم التغيرات الفيزيائية والكيميائية والميكروبية في حليب الرضع في أثناء الاستهلاك والتخزين على درجة حرارة الغرفة والبراد

الدكتور محسن حرفوش*

الدكتور أحمد منصور**

أحمد محمد***

(تاريخ الإيداع 21 / 12 / 2014. قبل للنشر في 7 / 4 / 2015)

□ ملخص □

يهدف هذا البحث إلى دراسة أهم التغيرات الفيزيائية والكيميائية والميكروبية لعدد من أنواع حليب الرضع الموجودة في الأسواق المحلية، ضمن ظروف تحاكي الاستخدام من قبل الأمهات في المنازل عند تحضير زجاجات حليب الرضع. أظهرت النتائج أن النسبة المئوية للرطوبة ارتفعت ارتفاعاً ملحوظاً في جميع العينات من حوالي 1% إلى 3.2-4.43% بعد التخزين لمدة 9 أيام. ولوحظ ارتفاع في النسبة المئوية للحموضة على نحو محسوس من 0.14 إلى 0.2%، مترافقة مع انخفاض الـ pH.

بينت النتائج أن رقم البيروكسيد تجاوز الحد المسموح به (0.25) في نهاية التخزين، ليصل إلى حوالي 0.47 للعينات المخزنة على حرارة الغرفة، بينما بقي قريباً من ذلك الحد في العينات المخزنة على حرارة البراد 0.25-0.29. بقي رقم الحموضة الحرة للدهن في جميع العينات - ولاسيما المخزنة على حرارة البراد - ضمن الحدود الطبيعية (0.5)، وبين التحليل الكروماتوغرافي أن هناك اختلاف واضح في نسب الأحماض الدهنية وتباينها من نوع لأخر، إذ انخفض على سبيل المثال حمض اللينوليك (C_{18-2}) في جميع العينات وضمن الظروف المختلفة. ارتفع الأزوت الذائب ارتفاعاً ملحوظاً في كل الظروف في نهاية التخزين، وكانت أعلى النسب في حليب النيدو، إذ وصلت نسبته إلى 0.49%. ولدى تتبع درجة ذوبان عينات الحليب خلال التخزين، وجد أنها انخفضت انخفاضاً بسيطاً بحدود 1%. كما أظهرت نتائج التعداد العام للبكتريا الهوائية مطابقة جميع العينات للمواصفة القياسية السورية رقم 197 لعام 1996، في الزمن صفر حتى اليوم السادس، إلا أنه تجاوز الحدود المسموح بها في اليوم التاسع، وكانت جميع العينات خالية من الميكروبات الممرضة.

الكلمات المفتاحية: حليب الرضع، التخزين، الذوبانية، رقم البيروكسيد، أزوت ذائب، حمولة ميكروبية.

*أستاذ مساعد - قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

**أستاذ - قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

***قائم بالأعمال - قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

A study of the most important physical, chemical and microbial changes in infant milk during consumption and storage at room or refrigerator temperature

Dr. Muhssen Harfouch*

Dr. Ahmad Mansour**

Ahmad Mohammed***

(Received 21 / 12 / 2014. Accepted 7 / 4 / 2015)

□ ABSTRACT □

The aim of this research is to study the most important physical, chemical and microbial changes in several kinds of infant milk available in local markets. The milk samples were studied in conditions similar to those used by mothers when they prepare infant milk bottles at their houses. The results showed that moisture content increased in all samples from approximately 1% to 3.2-4.4% after storage for 9 days. Acidity increased considerably from 0.14% to 0.2%.

The results showed that peroxide value passed the allowable limits (0.25) and reached about (0.47) in samples stored for 9 days at room temperature. However, the value for samples stored in the refrigerator ranged between (0.25-0.29). The free acidity number of fat for all samples specially the refrigerated ones was within the natural limits (<0.5). Chromatographic analyses showed apparent differences in fatty acid percentages between the kinds of milk. The rate of lenoleic acid (C₁₈₋₂) decreased during storage in all samples and in all conditions.

Soluble nitrogen increased in all samples at the end of storage and the highest value was 0.49% in Nido milk samples. The solubility of milk samples was checked during storage and was found to decrease very little (1%).

The total count of aerobic bacteria showed that all samples conform to the Syrian standards (No. 197, 1996) during the first six days of storage, but they passed the upper limits at the end of storage. However, all samples were free of pathogenic microbes.

Keywords: infant milk, storage, solubility, peroxide value, soluble nitrogen, microbial load.

*Assistant Professor, Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

**Professor, Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

***Academic Assistant, Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

مقدمة:

الحليب هو السائل الناتج عن عملية حلابة كاملة غير متقطعة لأنثى الحيوانات اللبونة ، والمتمتعة بصحة جيدة، وتغذية سليمة ، وغير مجهدة ، وعلى أن يكون خالياً من اللبأ (Colostrum) ، بهدف تغذية صغارها خلال الفترة الحرجة بعد ولادتها. ولقد كيفت الطبيعة تركيبه ليبي احتياجات المواليد الجدد ومساعدتهم على النمو والقيام بجميع الوظائف الحيوية عقب الولادة مباشرة، وهذا ما يفسر الاختلاف في تركيب الحليب تبعاً لأنواع الحيوانات ، لاسيما فيما يتعلق في نسب مكوناته ولمراحل النمو المختلفة ، إذ يحتاج الطفل إلى 170 يوم لمضاعفة وزنه بينما تحتاج العجول إلى 35-40 يوم لمضاعفة وزنها (Alais, 1984).

ومما لاشك فيه أن حليب المرأة هو الغذاء المثالي للطفل الرضيع قياساً بأنواع الحليب الأخرى لما يتمتع به من خواص فيزيائية وكيميائية تناسب الأطفال الرضع إضافة إلى احتوائه على العديد من العوامل المضادة لحدوث الأمراض المعدية عندهم ، ولاسيما في الفترة الحرجة من حياتهم وخلال 5-6 أيام الأولى بعد الولادة. لكن وعلى الرغم من أهمية وفوائد الرضاعة الطبيعية فإن التوجه إلى الرضاعة الصناعية بدأ بالانتشار على نطاق واسع في جميع بلدان العالم لأسباب عديدة والتي من أهمها انخراط الأم في سوق العمل وغيابها عن المنزل لساعات طويلة أو نتيجة لتعرضها لبعض الأمراض المعدية التي يمكن أن تنتقلها إلى رضيعها، كما أنه في بعض الحالات تعجز الأم عن إفراز وإعطاء الحليب. لذلك كان لابد للمهتمين بصناعة الألبان وأخصائيي التغذية ، ولاسيما للرضع من البحث باستمرار عن بديل لحليب الأم، ويستخدم حليب الأبقار حالياً بعد إخضاعه لتعديلات في تركيبه ليصبح قريباً جداً من حليب الأم وأصبحنا نرى في مختلف الأسواق العالمية أنواعاً متعددة من الحليب المجفف المعد للرضع والمناسب لنموهم في السنة الأولى من أعمارهم. غير أن هذا الحليب البديل على الرغم من أهميته إلا أنه قد يكون مصدراً للعديد من الأمراض والمشاكل الهضمية التي تنتج عن عدم قيام الأمهات أحياناً باتباع الخطوات السليمة والمدونة على عبوات الحليب. ومن المعروف أن الحليب المجفف سريع التلوث والتغير، وتتداخل مجموعة من العوامل في هذا المجال منها ما هو من منشأ خارجي مثل درجة الحرارة، الرطوبة، النقل، التخزين ومنها ما هو منشأ داخلي مرتبط بمكونات الحليب ، ولاسيما الدهون والبروتينات والسكريات..... الخ. وتبقى عملية تحضير زجاجة الحليب للرضيع منزلياً (في المطبخ) وما يحيط بها من مشاكل مصدر قلق دائم مما يستدعي إعطاء هذا الموضوع مزيداً من الدراسة والاهتمام والمتابعة ، وهذا ما هدف إليه هذا البحث.

الدراسة المرجعية:

تستخدم مساحيق محضرات الأطفال (Powdered Infant Formulas) (PIFs) كبديل لحليب الثدي ، لتزويد المواليد الجدد بالاحتياجات الغذائية ، إما كمتعم لحليب الأم ، أو بشكل منفرد عندما تكون الرضاعة من الثدي غير ممكنة، وأول مسحوق كامل لمحضرات الأطفال تم تطويره كبديل لحليب الأم منذ أكثر من مئة عام مضت (Raquel *et al.*, 2008). وتشكل مكونات هذا المسحوق أكثر من 80% من محضرات الأطفال المستخدمة على نحو واسع عالمياً ، وهو يمتلك مزايا كبيرة مقارنة بالشكل السائل ، من حيث التكلفة والتخزين ، مما دفع بقطاع الصناعات الغذائية على نحو مستمر لتحسين نوعية محضرات الأطفال وتحسين محتواها الغذائي ، في محاولة لجعل تركيبها قريباً على نحو كبير من حليب المرأة ، وهذا أمر مهم جداً وخصوصاً في الحالات التي تكون فيها الرضاعة الطبيعية غير متاحة للمواليد الجدد (Ferreira *et al.*, 1998).

وبما أنه تم استخدام حليب الأبقار كأساس لتجهيز محضرات بدائل حليب المرأة ، فقد خضع هذا الحليب لإضافات وتعديلات مختلفة في تركيبه ، ليصبح أكثر شبيهاً بحليب الأم (Humanisation) (Agostoni *et al.*, 1999)، لكونه معقد التركيب بطبيعته ، وتمت إضافة مكونات فعالة كيميائياً وبيولوجياً إليه، ونظراً للمعاملات المختلفة التي يتعرض لها هذا الخليط المكون لمساحيق بدائل حليب الأم ، فإنه ربما سيكون وسطاً نشطاً تحدث بين مكوناته كثير من التفاعلات الكيميائية والبيوكيميائية سواء في أثناء التصنيع أم في أثناء التخزين ، وهذا قد يسيء إلى خصائص الناتج النهائي. إن إحدى التحديات المهمة للصناعات الغذائية ، هي السيطرة على ثبات محضرات بدائل حليب الأم بعد تصنيعها، إذ يمكن أن ينتج عدم الثبات عن عوامل متعددة ، تشمل احتوائها على السكريات المختزلة، البروتينات الغنية بالليزين، درجة الحرارة المرتفعة في أثناء التصنيع ، وطول فترة التخزين ، إذ تصبح هذه المحضرات عرضة لتفاعلات مختلفة كتفاعل ميلارد (Jorge *et al.*, 2006).

تعدّ السكريات المختزلة والليزين أهم المركبات المسؤولة عن المرحلة الأولية لهذا التفاعل ، وبالنتيجة الحصول على مركبات يكون فيها الليزين غير متاح ، وبالتالي انخفاض القيمة الغذائية لهذه المحضرات (Fredmam, 1996). ويتكون في المراحل المتقدمة من هذا التفاعل مركبات غير مرغوبة كالفورفورال (Rehman *et al.*, 2000) ، وهذه المركبات تتشكل خلال التخزين نتيجة المعاملات الحرارية القاسية المستخدمة . إضافة إلى ذلك يمكن أن تكون هذه المركبات مؤشراً على حدوث ضرر بالغذاء ، وأيضاً وسيلة لتقدير مدى تطور تفاعل ميلارد في هذا الغذاء (Lococo *et al.*, 1994). وبما أن مركب الهيدروكسي متيل فورفورال يمكن أن ينتج عن عوامل متعددة (نوع المعاملة الحرارية المطبقة، التركيب الكيميائي للمحضر)، فإنه يصعب المقارنة بين محضرات الأطفال المختلفة، إذ يمكن أن تختلف كمية هذا المركب من محضر لآخر، غير أنه وبالحد الأدنى يمكن أن تكون عملية تحديد تغير محتوى عينة من محضر ما خلال فترة صلاحيتها مؤشراً مفيداً على التغيرات التي نتجت عن تفاعل ميلارد.

إن أحد أهم التحسينات التي خضعت لها مساحيق بدائل حليب الأم هو إضافة الأحماض الدهنية عديدة ، عدم التشبع طويلة السلسلة (LC-PUFA)، ومنذ ذلك الحين وجهت العديد من الدراسات الخاصة بتغذية الرضع أهدافها نحو تأثيراتها المفيدة على النمو والتطور، إضافةً إلى أن إضافة الحمض الدهني ديكوساهكساإيثونيك أسيد (DHA, C22:6N-3) إلى محضرات الأطفال أظهر تحسناً كبيراً في الاستجابة العصبية للمواليد الخدج (Rodriguez *et al.*, 2003). ويعدّ زيت السمك أحد المصادر الأساسية لهذا الحمض الدهني ، لكنه يتأكسد بسهولة، لهذا طورت الصناعات الغذائية شكلاً من هذا الزيت محمي ، داخل كبسولات محضرة بطريقة خاصة ، على شكل مسحوق مكون من حبيبات ناعمة جداً من الزيت ، موزع في قالب من النشا الغذائي ، ومحاطة بمعدّات من البروتين والكربوهيدرات لمنع أكسدها ولزيادة ثباتها.

يعتقد أن تكون فوق الأكاسيد (البيروكسيدات) عملية كيميائية معقدة جداً ، تؤدي إلى فقد في العناصر الغذائية الضرورية ، وفقد في القدرة المضادة للأكسدة ، إضافة إلى زيادة في أنواع المواد النشطة كيميائياً، ويمكن أن تحدث هذه العملية في محضرات حليب الأطفال ، مسببة ضرراً بصحة هؤلاء الأفراد. وتعدّ الأحماض الدهنية غير المشبعة في الغذاء المادة الأساسية لتشكيل البيروكسيدات الدهنية ، وبشكل تركيز هذه الأحماض أحد أهم العوامل التي تشجع على حدوث هذه العملية ، ويكون خطر تطورها مهماً خصوصاً في المنتجات المخصصة لتغذية الأطفال ، نتيجة نقص المناعة لديهم وسرعة تأثرهم بالضرر (Friel *et al.*, 2011). لقد درس Almansa *et al.*, 2013 تطور عملية أكسدة دهن الحليب ضمن محضرات حليب الأطفال على درجة حرارة الغرفة ، وفي ظروف التبريد ووجدوا أن تركيز

مركب (MDA) Malondialdehyde في محضرات حليب الأطفال يتناسب طردياً مع محتواها من الأحماض الدهنية غير المشبعة ، ويزداد هذا التركيز مع الزمن ، وكانت الزيادة في العينات المخزنة على حرارة الغرفة أكبر من الزيادة في تلك المخزنة على 4م° .

وتجدر الإشارة إلى أن حليب المرأة يحتوي على العديد من السكريات، كذلك المعروفة بـ Oligosaccharides، إذ يكون تواجدتها حصراً فيه ، وهي تشكل عوامل مضادة للارتباط ، ومضادة للميكروبات وللأكسدة ، إذ تعمل كمشرك صائد سائل ، وبذلك تحول دون الارتباط الممرض على سطح العضلات للفيروسات والجذور الحرة ، وتخفف كثيراً من خطرهما (Hamosh;1988).

يعدّ وجود البروتينات عامّةً ، والبروتينات النوعية خاصةً داخل تركيبة محضرات حليب الأطفال أكثر الأمور أهمية من الناحية الغذائية والمناعية. فقد حدد (Hettinga et al.,2011) 268 و 269 بروتين مناعي في كل من حليب المرأة والأبقار على التوالي ، وتمت ملاحظة فروق مهمة بين حليب الأم وحليب الأبقار لـ 33 بروتين منها. يمكن لهذه البروتينات أن تتعرض في أثناء تحضير بدائل حليب الأم ، أو في أثناء تخزينها لعمليات تحلل جزئي بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات الموجودة طبيعياً في الحليب ، التي تتصف بمقاومة شديدة للحرارة ، أو بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات التي تفرزها البكتيريا المتحملة للحرارة التابعة لجنس Bacillus ، والتي تعدّ أكثر الميكروبات تواجداً في هذه المنتجات بسبب قدرتها على تشكيل الأبواغ ، وبالتالي النجاة من المعاملات الحرارية المختلفة (Dong et al.,2012). تؤدي عمليات التحلل هذه إلى تغيرات في أشكال الأروت داخل هذه المحضرات ، وهذا يسبب انخفاضاً في قيمتها الغذائية والمناعية مع مرور الزمن. يمكن أيضاً أن يسبب نشاط الإنزيمات المحللة للسكريات التي تفرزها هذه البكتيريا إنتاج كميات كبيرة من الأحماض العضوية ، الأمر الذي يسبب زيادة في حموضة هذه المنتجات ، وبالتالي فسادها (Burgess et al.,2010).

إضافة إلى التواجد الجوهري للميكروبات الممرضة في محضرات حليب الأطفال ، فإن التداول السيئ لهذه الأغذية ، كالتطهير غير الكافي لزوجات الحليب ، والتدفئة المتكررة للمنتج ، أو عملية الترتيب غير الملائمة ، يمكن أن تشجع تكاثر الميكروبات الضارة. لهذا السبب أطلقت منظمة الصحة العالمية منشورات مطبوعة ، وأخرى افتراضية تتضمن توصيات لإرشاد عامة الناس حول التداول الآمن للحليب (WHO,2007) ، ولكن من غير المعروف مدى انتشار هذه التوصيات ، ومدى التقيد بالتعليمات الخاصة بمحضرات حليب الأطفال.

والخلاصة يمكن القول إن محضرات حليب الرضع تحضر بشكل أساسي من جوامد الحليب الصلبة ، وبالتالي تكون فترة صلاحيتها أطول من تلك للحليب السائل، وقد عرفها القانون الاتحادي لهيئة الغذاء والدواء الأمريكية (FFDCA)، على أنها غذاء يفهم منه ، أو يزعم أنه للاستخدام في حميات خاصة ، منفرداً ، أو كغذاء للأطفال ، لتشابهه مع حليب الأم ، أو بسبب ملاءمته الكاملة أو الجزئية كبديل لهذا الحليب (US;FDA).

أهمية البحث وأهدافه:

نظراً لأهمية مساحيق محضرات حليب الأطفال، وندرة الدراسات المتعلقة بها في سورية، فقد هدفت هذه الدراسة إلى:

دراسة أهم التغيرات في الخواص الكيميائية والفيزيائية والميكروبية لحليب الرضع ، ضمن ظروف تحاكي ظروف الاستخدام من قبل الأمهات في المنازل، لتحديد مدى أهمية هذه التغيرات وتأثيرها على جودة هذه المنتجات وسلامتها .

طرائق البحث ومواده:

1- **المنتج المدروس:** تم جمع عينات من أربع أنواع من حليب الرضع المعروضة في مراكز الاستهلاك الرئيسية لمحافظة اللاذقية (بيبيلاك، بيبيليه، نان 1، نيدو)، ونقلت إلى المختبر، حيث حفظ نصف العبوات على درجة حرارة الغرفة، والنصف الآخر على درجة حرارة البراد لمدة تسعة أيام، وأجريت عليها الاختبارات المطلوبة بمعدل ثلاث مكررات لكل عينة عقب فتح العبوة، عند تحضير زجاجة الحليب، إذ تمثل القيم الواردة في الجداول المتوسط الحسابي للمكررات الثلاث.

مع الإشارة إلى أن عدد العبوات لكل عينة كان ثلاث عبوات بوزن 400 غ لكل منها، وأن وزن العينة المأخوذة للتحليل كان 50 غ، وأنه تم فتح العبوات بمعدل خمس مرات يومياً لمدة زمنية قريبة من الدقيقة في كل مرة، محاكاةً لعملية إعداد زجاجة الحليب في المنزل.

2- الاختبارات الكيميائية والفيزيائية اعتمد في تقديرها على : (AOAC, 1990; Amariglio, 1986)

- تقدير النسبة المئوية للرطوبة باستخدام طريقة التجفيف على درجة حرارة 105م حتى ثبات الوزن.
- تحديد رقم الـ pH، باستخدام جهاز pH meter.
- تقدير رقم الحموضة الحرة للمادة الدسمة بالمعايرة بالقلوي.
- تقدير الحموضة كنسبة مئوية على أساس حمض اللبن، بالمعايرة بالقلوي.
- تقدير رقم البيروكسيد بالمعايرة بثيوسلفات الصوديوم.
- تقدير المحتوى من الأزوت الكلي والذائب بطريقة كداهل، واستخدم في ذلك جهاز نصف آلي (Gerhardt vepodest 45S).

• التحليل الكروماتوغرافي للأحماض الدهنية (I.D.F,265/1991): بجهاز GC .

• تقدير معامل الذوبان : تم تقدير معامل الذوبان بالطريقة الأمريكية الوزنية.

3- الاختبارات الميكروبيولوجية:

- تقدير الأعداد الكلية للبكتريا الهوائية بطريقة الأطباق (Aerobic Total Plate Counts) باستخدام بيئة الآغار المغذي (Nutrient Agar) ، و التحضين على الدرجة 31 م لمدة 72 ساعة.

- تقدير عدد الخمائر وفطريات العفن باستخدام بيئة الآغار ودكستروز البطاطا (P.D.A) والتحضين على الدرجة 25 م لمدة 3 أيام .

- تقدير أعداد الكولي فورم والـ *E.coli* باستخدام وسط الآغار البنفسجي الأحمر والأصفر Violet Red Bile (V.R.B.A) Agar ، والتحضين على الدرجة 37 م لمدة 48 ساعة للكولي فورم و على 44.5 م لمدة 48 ساعة لبكتيريا *E.coli* .

- الكشف عن المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) وعددها ، باستخدام بيئة Baird Parker المضاف لها صفار البيض ، والتحضين على الدرجة 37 م لمدة 48 ساعة.

• التحليل الإحصائي:

تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام برنامج (Genystat 12) ، للحصول على المتوسط الحسابي والانحراف المعياري.

النتائج والمناقشة:**1- التغيرات في الخواص الكيميائية والفيزيائية :****1-1- التغيرات في الرطوبة:**

يعدّ المحتوى من الرطوبة المتاحة العامل الأكثر أهمية في تحديد سرعة التغيرات غير المرغوبة في الحليب المجفف، ويبين الجدول (1) التغيرات في نسبة الرطوبة خلال فترة حفظ العينات على درجتي الحرارة المدروستين. يلاحظ من هذا الجدول أن نسبة الرطوبة في جميع الأصناف المدروسة كانت منخفضة جداً لحظة فتح العبوات ، وهي قريبة من 1% ، ثم بدأت هذه الرطوبة بالزيادة مع مرور الزمن في جميع العينات ، إذ وصلت إلى 4.23% و 4.1% لكل من حليب بيبيله ونيدو على التوالي ، والمخزنة على درجة حرارة الغرفة ، وذلك نتيجة فتح العبوات المتكرر خلال تسعة أيام ، في حين كانت هذه النسبة 4.1 و 3.21% على التوالي على درجة حرارة البراد. بينما ارتفعت الرطوبة إلى حوالي 4% في كل من حليب نان 1 ونيدو على حرارة الغرفة ، وكانت بحدود 3.2% لحليب نيدو المخزن على حرارة البراد ، وهذه النتيجة طبيعية نظراً لشراهة الحليب المجفف لامتصاص الرطوبة من الوسط المحيط عند فتح العبوات.

الجدول (1): تغيرات في النسبة المئوية لرطوبة حليب الرضع بعد فتح العبوات

نوع الحليب	الزمن	درجة حرارة الغرفة 25 ± 2م				درجة حرارة البراد 4 ± 2م			
		بيبلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو	بيبلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو
0		1.01	1.11	0.91	1.1	1.11	1	1.12	
1		1.12	1.19	1.12	1.43	1.4	1.12	1.23	
3		2.34	2.67	1.6	2.65	2.98	2.31	2.17	
6		3.1	3.54	2.56	3.78	3.82	3.1	3.09	
9		3.67	4.23	3.87	4.1	4.27	3.78	3.21	
LSD		0.34	0.35	0.33	0.37	0.37	0.35	0.34	

1-2- التغيرات في الحموضة:

تتصف منتجات الألبان المجففة بأن حموضتها القابلة للمعايرة تكون منخفضة جداً ؛ لأن حموضة الحليب المستخدم في إعدادها تكون منخفضة لتجنب تخثر البروتينات في أثناء المعاملات الحرارية المختلفة. يبين الجدول (2) أن حموضة جميع العينات كانت بعد فتح العبوات مباشرة منخفضة ، وقريبة من حموضة الحليب الطازج العالي الجودة (0,14%) ، تبدأ بعد ذلك هذه الحموضة بالزيادة مع الزمن لتصل إلى حوالي 0.2% و 0.19% على درجة حرارة الغرفة ، وإلى ما يقارب 0.18% و 0.19% عند درجة حرارة البراد لكل من حليب نان 1 و بيبيله على التوالي.

الجدول (2): التغيرات في النسبة المئوية للحموضة القابلة للمعايرة لحليب الرضع بعد فتح العبوات

نوع الحليب	الزمن	درجة حرارة الغرفة 25 ± 2م				درجة حرارة البراد 4 ± 2م			
		بيبلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو	بيبلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو
0		0.14	0.13	0.14	0.13	0.14	0.12	0.14	
1		0.14	0.17	0.15	0.14	0.15	0.13	0.15	

0.16	0.14	0.16	0.16	0.15	0.18	0.18	0.16	3
0.18	0.16	0.18	0.17	0.16	0.18	0.19	0.16	6
0.19	0.18	0.19	0.19	0.16	0.2	0.19	0.18	9
0.04	0.05	0.05	0.05	0.03	0.04	0.04	0.05	LSD

يمكن أن يعود السبب في ذلك إلى زيادة نشاط الأحياء الدقيقة ، التي وصلت إلى الحليب خلال عمليات إعداد زجاجات حليب الطفل ، إذ تقوم الإنزيمات التي تفرزها هذه الميكروبات بتحليل اللاكتوز والدهن إلى أحماض عضوية تسبب زيادة هذه الحموضة، كما يمكن للنواتج الثانوية لتفاعل ميلارد أن تساهم في ذلك.

3-1 - التغيرات في رقم الـ pH :

يبين الجدول (3) رقم الـ pH لعينات الحليب المختلفة بعد فتح العبوات مباشرة ، والتغيرات التي تحدث له في أثناء عملية التخزين على حرارة الغرفة والبراد. يلاحظ من هذا الجدول أن رقم الـ pH لحليب نان 1 كان الأعلى بعد فتح العبوات مباشرة ، وربما يعود ذلك إلى احتوائه على أقل نسبة من البروتينات مقارنة بالأنواع الأخرى.

الجدول (3): التغيرات في رقم الـ pH لحليب الرضع بعد فتح العبوات

درجة حرارة البراد 2±4م				درجة حرارة الغرفة 25±2م				الزمن
نيدو	نان 1	بيبيليه	بيبيلاك	نيدو	نان 1	بيبيليه	بيبيلاك	نوع الحليب
6.66	6.83	6.73	6.68	6.60	6.83	6.64	6.76	0
6.64	6.81	6.69	6.64	6.61	6.76	6.64	6.75	1
6.56	6.72	6.53	6.55	6.43	6.70	6.60	6.70	3
6.55	6.63	6.51	6.55	6.41	6.66	6.54	6.70	6
6.40	6.60	6.43	6.50	6.40	6.56	6.41	6.53	9
0.20	0.10	0.20	0.10	0.20	0.02	0.01	0.01	LSD

كما يلاحظ انخفاض واضح لرقم الـ pH لجميع العينات بزيادة زمن التخزين ، وكان هذا الانخفاض أكبر في العينات المخزنة على درجة حرارة الغرفة ، ومع ذلك فإنه يمكن القول إن هذا الانخفاض كان محدوداً ، وتراوح من 6.4 إلى 6.5.

4-1 - التغيرات في رقم البيروكسيد :

يعبر هذا الرقم عن الأكسدة الذاتية لدهن الحليب ويعدّ من أهم الاختبارات الدورية التي تجرى على الحليب المجفف ، ولاسيما المخصص للرضع، وينتج عن ارتفاع هذا الرقم عن 0.25 ميلي مكافئ O₂/كغ كثير من المشاكل المعقدة عند تخزين الحليب المجفف كامل الدسم، كما يتشكل في المنتج جذور حرة ، تكون خطرة على صحة الرضع ، وتسبب كثيراً من الأمراض. ويبين الجدول (4) تغير هذا الرقم في جميع الأنواع المدروسة، إذ وصل إلى 0.46 و 0.47 على درجة حرارة الغرفة متجاوزاً الحد المسموح به، و 0.29 و 0.25 على حرارة البراد لكل من حليب بيبيلاك وبيبيليه على التوالي، وهذه النتائج تتطابق مع تلك التي حصل عليها (Almansa et al., 2013) ، الجدير بالذكر أن رقم البيروكسيد بقي في نهاية التخزين في الغرفة والبراد لنوع نان أدنى من الحد المسموح به. في الحقيقة تزداد سرعة الأكسدة الذاتية للدهن (غير المشبع) كثيراً عندما يكون المحتوى من الرطوبة منخفضاً جداً ، كما هو الحال في هذه

المنتجات ، ويحتمل أن يكون السبب في ذلك أن الماء يخفض عمر الجذور الحرة ، ويبطئ تفكك الهيدروبيروكسيدات ، ويقلل الفعالية التحفيزية لأيونات المعادن كالححاس.

الجدول (4): التغيرات في رقم البيروكسيد لحليب الرضع بعد فتح العبوات (ملي مكافئ أوكسجين/مغ حليب مجفف)

درجة حرارة البراد 2±4م				درجة حرارة الغرفة 25±2م				الزمن
نيدو	نان 1	بيبيليه	بيبيلاك	نيدو	نان 1	بيبيليه	بيبيلاك	نوع الحليب
0.16	0.12	0.13	0.17	0.15	0.11	0.16	0.15	0
0.17	0.14	0.16	0.18	0.19	0.13	0.2	0.19	1
0.25	0.17	0.21	0.23	0.29	0.16	0.29	0.32	3
0.31	0.19	0.23	0.27	0.34	0.21	0.32	0.39	6
0.37	0.22	0.25	0.29	0.48	0.23	0.47	0.46	9
0.04	0.05	0.06	0.04	0.05	0.04	0.04	0.05	LSD

1-5- التغيرات في رقم الحموضة الحرة للدهن:

يبين الجدول (5) تغير رقم الحموضة الحرة للدهن في أنواع الحليب المدروسة ، إذ كان هذا الرقم قريباً من 0.1 بالزمن صفر لجميع الأنواع باستثناء النوع نيدو ، ثم بدأ بالارتفاع الملحوظ خلال التخزين ، ومع ذلك بقي ضمن الحدود المقبولة متراوحاً ما بين 0.16 في حليب نان 1 إلى 0.29 في النيدو عند درجة حرارة البراد ، بينما تراوح هذا الرقم من 0.25 في نان إلى 0.56 في النيدو المخزن على حرارة الغرفة ، وهذا التغير محدود ويعزى بالدرجة الأولى إلى احتمال حدوث تلوث في أثناء إعداد الحليب.

الجدول (5): التغيرات في رقم الحموضة الحرة لدهن حليب الرضع بعد فتح العبوات

درجة حرارة البراد 2±4م				درجة حرارة الغرفة 25±2م				الزمن
نيدو	نان 1	بيبيليه	بيبيلاك	نيدو	نان 1	بيبيليه	بيبيلاك	نوع الحليب
0.11	0.08	0.1	0.1	0.14	0.07	0.08	0.1	0
0.15	0.09	0.11	0.13	0.18	0.09	0.11	0.21	1
0.18	0.13	0.16	0.21	0.29	0.14	0.28	0.29	3
0.23	0.14	0.21	0.24	0.36	0.21	0.41	0.31	6
0.29	0.16	0.27	0.28	0.56	0.25	0.49	0.33	9
0.06	0.04	0.05	0.06	0.05	0.06	0.05	0.05	LSD

1-6- التغيرات في أشكال الآزوت :

أشارت بعض الدراسات (Dong *et al.*, 2012) إلى أن احتمال حدوث تحلل لبروتينات الحليب المجفف ضعيف جداً ، إذ إن عملية تغير التركيب الطبيعي للبروتينات ، وبالتالي تثبيط الإنزيمات ، وقتل الميكروبات ترتبط على نحو كبير بالمحتوى من الرطوبة ، وهذا يعني أن سرعة تغير التركيب الطبيعي ، أو تثبيط الإنزيمات بالحرارة ينخفض أيضاً بانخفاض المحتوى من الرطوبة.

يعرض الجدول (6) لتغيرات كل من الآزوت الذائب والكلبي ، إذ يلاحظ أن نسبة الآزوت الكلي كانت في حليب نيدو أعلى ما يمكن (2.82%) بعد فتح العبوات مباشرة ، في حين احتوى حليب نان1 على أقل نسبة منها (1.55%).

الجدول (6): التغيرات في الآزوت (الكلبي والذائب) لأنواع حليب الرضع بعد فتح العبوات

الزمن	بيبيلاك		بيبيله		نان1		نيدو	
	أزوت ذائب	أزوت كلي						
درجة حرارة الغرفة								
0	0.17	1.65	0.13	1.82	0.09	1.55	2.82	0.21
1	0.19	1.64	0.17	1.82	0.12	1.55	2.81	0.23
3	0.29	1.63	0.22	1.81	0.17	1.54	2.80	0.29
6	0.32	1.63	0.26	1.80	0.19	1.53	2.79	0.34
9	0.45	1.62	0.29	1.80	0.22	1.52	2.78	0.49
LSD	0.07	0.1	0.07	0.1	0.06	0.1	0.1	0.06
درجة حرارة البراد								
0	0.13	1.64	0.14	1.83	0.09	1.55	2.83	0.22
1	0.18	1.63	0.16	1.82	0.1	1.54	2.82	0.23
3	0.34	1.62	0.21	1.82	0.13	1.54	2.82	0.27
6	0.39	1.61	0.22	1.81	0.14	1.53	2.81	0.31
9	0.41	1.60	0.23	1.81	0.17	1.53	2.80	0.42
LSD	0.07	0.1	0.06	0.1	0.06	0.1	0.1	0.06

كما يلاحظ أيضاً أن حليب نيدو امتلك أعلى نسبة من الآزوت الذائب (0.21%) ، وحليب نان1 أقل نسبة من هذا الآزوت (0.09%). يتضح من الجدول (6) انخفاض في نسبة الآزوت الكلي ، وزيادة في نسبة الآزوت الذائب في جميع الأنواع مع مرور الزمن ، نتيجة زيادة الرطوبة كما أشرنا سابقاً، ونشاط الأحياء الدقيقة الموجودة في الحليب التي اجتازت المعاملات الحرارية ، إذ تزداد قدرتها على إنتاج الإنزيمات المحللة للبروتينات بزيادة الرطوبة في هذه المنتجات. كذلك يلاحظ أن الانخفاض في معدل الآزوت الكلي ، والزيادة في الآزوت الذائب كان أكثر وضوحاً في العينات المخزنة على حرارة الغرفة ، وهذا يدل على أن ارتفاع درجة حرارة التخزين يحفز نشاط الأحياء الدقيقة المفرزة للإنزيمات ، التي تحلل البروتينات إلى مركبات أخرى ، وهذا قد يقلل من القيمة الغذائية لهذه المنتجات. يمكن أيضاً أن يحدث انخفاض في القيمة الغذائية للبروتينات في هذه المنتجات في أثناء التخزين ، بسبب فقد في الليزين المتاح الناتج عن تفاعل ميلارد ، كما يسبب هذا التفاعل انخفاض قابلية هذه البروتينات للهضم (Fredman, 1996) .

1-7- التغيرات في معامل الذوبان:

يوضح الجدول (7) التغيرات في معامل الذوبان لأنواع الحليب المدروسة عند تخزينها على درجة حرارة الغرفة والبراد ، إذ يلاحظ أن معامل الذوبان كان بعد فتح العبوات مباشرة كبيراً ومقارباً بين جميع الأنواع ، وكانت أصغر قيمة لهذا المعامل في حليب نيدو 99.65%، و99.76% على درجة حرارة الغرفة والبراد على التوالي ، كما يبين هذا الجدول أن معامل الذوبان انخفض على نحوٍ قليل نسبياً لجميع الأنواع ، مع مرور الزمن ، وعلى درجتي الحرارة المستخدمتين ، ولم يكن لدرجة الحرارة تأثير واضح على ذلك.

في الواقع يمكن تفسير هذا الانخفاض البسيط في معامل الذوبان لهذه المنتجات بحدوث تفاعل ميلارد بين السكريات والمواد الأزوتية ، إذ يزداد هذا التفاعل بزيادة محتوى الحليب المجفف من الرطوبة وبزيادة درجة الحرارة، ويسبب هذا التفاعل ظهور رائحة كريهة وانخفاض في ذوبانية البروتينات ، وبذلك ينخفض معامل الذوبان عند تخزين الحليب المجفف فترة طويلة من الزمن في رطوبة وحرارة مرتفعة (Knipschidt , 1986).

الجدول (7): التغيرات في معامل الذوبان لحليب الرضع بعد فتح العبوات

نوع الحليب	درجة حرارة الغرفة 25±2م			درجة حرارة البراد 4±2م			الزمن
	بيبيلاك	بيبيليه	نان 1	بيبيلاك	بيبيليه	نان 1	
0	99.95	99.96	99.98	99.87	99.95	99.97	99.76
1	99.93	99.93	99.95	99.75	99.94	99.93	99.57
3	99.85	99.89	99.94	99.64	99.83	99.92	99.47
6	99.74	99.81	99.88	99.41	99.71	99.79	99.41
9	99.61	99.67	99.60	99.20	99.66	99.68	99.27
LSD	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	0.04	0.05

1-8- التغيرات في نسب الأحماض الدهنية المختلفة لحليب الرضع :

يلاحظ من الجدول (8) اختلاف واضح في نسب بعض هذه الأحماض من نوع إلى آخر ، فمثلاً كانت نسبة حمض اللينوليك (C18-2) 2.31، 1.21، 1.02 و 3.54% في كل من بيبيلاك، بيبيليه، نان 1 ونيدو على التوالي عند درجة حرارة البراد بعد فتح العبوات مباشرة. كما يبين هذا الجدول تغيراً واضحاً في نسب بعض الأحماض الدهنية مع الزمن ، إذ زادت على سبيل المثال نسبة C₁₄ من 8.54 إلى 9.32% في حليب بيبيلاك بعد التخزين لمدة 9 أيام على درجة حرارة الغرفة ، ولكنها انخفضت قليلاً بالتخزين في البراد. وقد يعزى السبب في ذلك إلى نشاط الأحياء الدقيقة وأنزيماتها ، التي تؤدي إلى تغيرات في تركيب هذه الأحماض الدهنية. تزداد التغيرات في حمض اللينوليك في كل من النوع بيبيلاك ونيدو بين بداية ونهاية التخزين، وقد يفسر ذلك بأن إضافة هذه الأحماض كانت على شكل كرسولات محمية، ومحاطة بمعدّات من البروتين والكربوهيدرات لمنع أكسدتها ولزيادة ثباتها، غير أن معدّ البروتين و الكربوهيدرات هذا يمكن أن يتفاعل خلال عملية التصنيع والتخزين (Rodriguez *et al.*, 2003) مما أدى لتحرير هذا الحمض ، وزيادة نسبته في نهاية عملية التخزين. كما لوحظ نقصان في نسبة هذا الحمض في كل من النوع بيبيليه ونان 1 ، وقد يعود ذلك لأن هذه الأحماض غير ثابتة وتتخرب بسرعة بفعل الأوكسجين الجوي ، إذ يهاجم الروابط

الزوجية ، وكانت هذه التغيرات واضحة في التخزين على الغرفة أكثر من المبردة، ويلاحظ أن معظم الأحماض الدهنية المشبعة تزداد ، وهذا يمكن تفسيره بتعرض الأحماض الدهنية غير المشبعة لعمليات الأكسدة وتحولت إلى مشبعة.

الجدول (8) التغيرات في تركيب الأحماض الدهنية لحليب الرضع بببيلاك بعد فتح العبوات

درجة حرارة الغرفة									الزمن	نوع الحليب
C_{18-2}	C_{18-1}	C_{18}	C_{16}	C_{14-1}	C_{14}	C_{12}	C_{10}	C_8		
2.2	16.2	8.6	30.0	16.3	8.5	1.6	1.3	1.0	0	بببيلاك
2.7	17.2	7.9	28.9	18.3	9.3	1.9	1.6	2.9	9	
1.3	13.2	13.8	24.5	11.2	9.3	2.0	1.7	2.4	0	بببيله
1.0	13.8	14.1	25.3	11.5	10.2	2.4	1.1	2.0	9	
0.9	15.7	16.4	23.9	12.8	10.1	2.1	1.9	1.2	0	نان 1
0.9	14.9	15.4	24.9	13.8	10.6	2.0	2.8	1.5	9	
3.5	20.2	15.8	24.9	11.9	9.1	2.6	2.2	1.9	0	نيدو
2.3	21.4	15.0	24.6	12.2	9.4	2.9	2.7	1.7	9	
درجة حرارة البراد										
2.3	16.1	8.9	28.3	17.0	8.4	1.8	1.5	1.4	0	بببيلاك
2.4	15.2	8.3	31.2	17.1	8.1	1.4	1.5	1.9	9	
1.2	12.9	12.0	25.2	10.9	10.3	2.1	1.6	2.3	0	بببيله
1.8	13.7	10.8	24.6	11.0	10.8	2.9	1.9	2.5	9	
1.0	15.3	16.4	24.3	14.7	10.7	2.6	1.8	1.5	0	نان 1
1.0	15.4	16.0	24.8	13.3	10.8	2.9	1.5	1.6	9	
3.5	19.9	15.0	25.7	10.8	10.3	2.5	1.8	2.5	0	نيدو
3.4	19.5	15.2	25.0	11.6	10.0	2.2	1.9	2.4	9	

2- التغيرات في الخواص الميكروبية لحليب الرضع :

2-1- التغيرات في تعداد البكتريا الهوائية الكلية بطريقة الأطباق:

يلاحظ من الجدول (9) أن جميع العينات احتوت على أعداد قليلة من هذه البكتريا بعد فتح العبوات مباشرة، وكان أكبر عدد في حليب بببيلاك ($10^1 \times 9$ خلية/ غ) وأقل عدد في حليب نان1 ($10^1 \times 2.8$ خلية/ غ) على درجة حرارة الغرفة، وبدأ هذا العدد في الزيادة ليصل إلى $10^4 \times 2.5$ و $10^3 \times 11$ لكلا النوعين على التوالي بعد 9 أيام من التخزين على حرارة الغرفة. ويمكن تفسير تواجد هذه البكتريا في عبوات الحليب قبل فتحها باجتيازها للمعاملات الحرارية التي يتعرض لها هذا الحليب نتيجة تحملها لهذه المعاملات. كما يمكن تفسير زيادة الأعداد مع مرور الزمن بالتلوث الناتج عن فتح العبوات وزيادة الرطوبة في العينات، وهذه النتائج تتطابق مع تلك التي حصل عليها Dong *et al.*, 2012. تعدّ المعاملات الحرارية المستخدمة في أثناء تصنيع الحليب المجفف المخصص

للأطفال معاملات حرارة منخفضة "Low-Heat" ، وهي عادة ليست أشد من المعاملة الحرارية في أثناء البسترة السريعة (72 م لمدة 20 ثانية) ، وبالتالي فإن أنواعاً عديدة من البكتيريا قد تتجازز عملية التصنيع.

الجدول (9): التعداد الكلي للبكتيريا الهوائية لحليب الرضع بعد فتح العبوات

نوع الحليب	الزمن	درجة حرارة الغرفة 25±2م				درجة حرارة البراد 4±2م			
		بيبيلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو	بيبيلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو
0		9×10^1	4.3×10^1	2.8×10^1	5.2×10^1	6×10^1	6.9×10^1	3.2×10^1	3.2×10^1
1		1.7×10^2	7.8×10^1	7×10^1	7.9×10^1	9×10^1	7.1×10^1	4.8×10^1	4.8×10^1
3		8×10^2	5×10^2	3.5×10^2	1.1×10^3	1.9×10^3	1.1×10^3	1.4×10^2	1.4×10^2
6		10^3	2.7×10^3	6.9×10^2	2.7×10^3	9.2×10^3	5.2×10^3	9×10^2	9×10^2
9		2.5×10^4	6.1×10^4	1.1×10^4	1.7×10^4	8.5×10^4	1.6×10^4	8.1×10^3	8.1×10^3
LSD		0.3×10^1	0.2×10^1	0.3×10^1	0.6×10^1	0.2×10^1	0.3×10^1	0.1×10^1	0.6×10^1

2-2- التغيرات في تعداد الخمائر وفطور العفن:

يبين الجدول (10) التعداد الكلي للخمائر وفطور العفن ، إذ يلاحظ أن جميع العينات المحفوظة على درجة حرارة الغرفة والبراد كانت خالية من هذه الأحياء بعد عملية فتح العبوات مباشرة، وهذا يعود إلى أن الخمائر والفطور أكثر حساسية من البكتيريا للمعاملات الحرارية، وبالتالي تم القضاء عليها جميعاً في أثناء تحضير هذه المنتجات. كما يبين هذا الجدول أيضاً أن جميع العينات قد احتوت على أعداد مختلفة منها بعد تسعة أيام من التخزين. وأن هذا التلوث بالخمائر والفطور ناتج عن عملية فتح العبوات ، ودخول الهواء الذي يحوي أعداداً كبيرة منها ، وقد ازداد عددها خلال التخزين بسبب زيادة الرطوبة في العينات.

الجدول (10): التعداد الكلي للخمائر وفطور العفن لحليب الرضع بعد فتح العبوات

نوع الحليب	الزمن	درجة حرارة الغرفة 25±2م				درجة حرارة البراد 4±2م			
		بيبيلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو	بيبيلاك	بيبيليه	نان 1	نيدو
0		لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد
1		لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	1×10^1	1.5×10^1	1.9×10^1	0.5×10^1
3		لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	لا يوجد	1×10^1	3×10^1	3.2×10^1	1×10^1
6		لا يوجد	1×10^1	0.5×10^1	1×10^1	2×10^1	4×10^1	6.9×10^1	2.4×10^1
9		2×10^1	1.5×10^1	0.8×10^1	1×10^1	2×10^1	5×10^1	7×10^1	1.1×10^2
LSD		1.5	1.8	1.9	3.1	1.7	1.8	1.4	2.8

3-الكشف عن البكتيريا الدالة على احتمال التلوث الممرض:

تم الكشف عن بكتيريا الكولي فورم و بكتيريا الـ E. coli وبكتيريا الـ *Staphylococcus aureus* ، ولم يتم العثور على أي من هذه الميكروبات في أي من العينات خلال فترة الدراسة. وهذا يتفق مع المواصفة القياسية السورية رقم 197 لعام 1996.

الاستنتاجات والتوصيات :

1. ينصح بتخزين عبوات بدائل حليب الرضع بعد فتحها على درجة حرارة منخفضة.
2. ضرورة أخذ الكمية المطلوبة من الحليب بأقصر وقت ممكن وإغلاق العبوات على نحوٍ محكم بعد ذلك مباشرة.
3. ضرورة تشديد الرقابة على تعبئة حليب الرضع المجفف وتوزيعه ، من خلال شروط محددة من قبل الجهات المختصة.
4. إقامة دورات تدريبية وتنقيفية للأمهات تبين لهم الخطوات الصحيحة والصحية لاستعمال حليب الرضع المجفف.
5. تجنب الأماكن الملوثة عند تحضير الحليب للرضع واستخدام ماء حرارته أعلى من 70 م في عملية التحضير.
6. متابعة هذا البحث وتعميمه على أنواع أخرى من المحضرات الخاصة بالأطفال وعلى مناطق مختلفة من أنحاء القطر.

المراجع:

1. هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية. 1996، المواصفة رقم 197 الخاصة بالحليب المجفف.
2. Agostoni,C. ; Maragoni,F.; Galli, M. and Riva,I. *Long-chain polyunsaturated fatty acids in human milk* . Acta paediatrica,1999,88,68-71.
3. Alais,C. Science du lait, principes des techniques laitiers,4^{em} Edition.Ed.sepaic,1984,Paris.
4. Almansa,I.;Miranda,M.;Jareno,D. and Silvestre,D. *Lipid peroxidation in infant formulas: Longitudinal study at different storage temperatures*. International Dairy Journal . 2013, 33, 83-87 .
5. Amariglio, S. Controle de la qualite des produits laitiers- analyses physiques et chimiques, 3^{eme} ed., afnor et Itsv, 1986, France.
6. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analyses, 15th edition, Arlington, 1990, USA.
7. Burgess S.A.; Lindsay,D. And Flint, S. *Thermophilic bacillus and their importance in dairy processing* . International Journal of Food Microbiology ,2010,144,215-225.
8. Dong,D.Y.; Guan , L. ; Dong,Z. and Lie,B.Z. *A survey on occurrence of thermophilic Bacillus in commercial milk powders in China* .Food Control,2012,25.
9. Ferreira, I. M.; Gomes, A.M. and Ferreira, N. *Determination of sugars and some other compounds in infant formula , flow-up milks and human milk by HPLC- UV/RI*. Carbohydrate Polymers, 1998, 37, 225-229.
10. Fredman,M., Food browning and its prevention: an over view. Journal of Agriculture and Food Chemistry ,1996,44,631-653.
11. Friel,J.K.;Diehl,J.B.;Cockell;K. *Evidence of oxidative stress in relation to feeding type during early life in premature infants*. Pediatric Research,2011,69,160-164.
12. Hamosh,M. *Enzymes in milk:their function in the mammary gland in milk and in the infant* .In Hanson 1^{er},edition. Biology of human milk .New York.Raven Press,1988,45-58.

13. Hettinga, K.; Valenberg, H.; Devries, S. *The host defense proteome of human and bovine milk*, PLOS one, 2011, 6, 19433-19450.
14. IDF Bulltin of the International Dairy Federation. *Determination of free fatty acid in milk and milk products*. Bulltin N° 265/1991, 5-19.
15. Jorge, L.; Chávez-Servín, A. I.; Castellote, M.; Carmen, M.; Evolution of potential and free furfural compounds in milk-based infant formula during storage. *Food Research International*, 2006, 39, 536–543.
16. Knipschidt, M., E., *Drying of milk and milk products (baby food powder) in: Modern Dairy Technology*, advance in milk processing, edited by Robinson, R. K., Elsevier Applied Science Publisher, London and New York, 1986, 131-230.
17. Lococo, F.; Valentini, C.; Novelli, V. and Ceccon, L. *High-performance liquid – chromatography determination of 2-furaldehyde and 5-hydroxymethyl -2 furaldehyde in processed citrus juices*. *Journal of Liquid Chromatography*, 1994, 17, 3, 603-617.
18. Raquel, F.L., Deborah, L.O.; Karine, C.H.; Franco, J. *Growth and survival of Enterbacter Skazakii in human breast milk with and without fortifiers as compared to powdered infant formula*. *International Journal of Food Microbiology*, 2008, 122, 171-179.
19. Rehman, Z.; Saeed, A. and Zafar, A. *Hydroxymethylfurfural as an indicator for the detection of dried powder in liquid milk*. *Milchwnissenshaft –Milk Science International*, 2000, 58, 474-475.
20. Rodriguez, A.; Raederstorff, D. and Descomps, B. *Preterm infant formula supplementation with alpha linolenic acid and docosahexaenoic acid*. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 57, 727-734.
21. US, FAD, Food and Drug Administration. *Federal food, Drug and Cosmetic Act 1990*, Chapter 11, sec. 201, Z.
22. WHO. *Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula: Guidelines*. WHO and the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Geneva, Switzerland. 2007.