مقایسهٔ میسل‌های کازئین(Casein Micelles) در شیرخام و پاستوریزهٔ بی چربی درpHهای مختلف با میکروسکوپ‌های الکترونی نگاره و گذاره

حمید عزت پناه[۱]، محمد رضا احسانی[۲] و حسن لامع[۲]

چکیده

در این بررسی، مشخصات ظاهری و برخی از ویژگی‌های میسل‌های کازئینی(Casein Micelles) در شیرخام وپاستوریزه با استفاده از میکروسکوپ‌های الکترونی نگاره(Scanning Electron Microscope) (SEM) و گذاره(Transmission Electron Microscope) (TEM) مورد مطالعه قرار گرفت. از این دو میکروسکوپ برای ارزیابی تغییرات انجام شده در میسل‌های کازئینی در pH ایزوالکتریک (Isoelectric Point pH) آنها (pH=۴/۶) در شیرهای خام و پاستوریزهٔ اسیدی شده، استفاده شد. نمونه‌های مورد آزمایش به طور تصادفی از پایلوت پژوهشی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تهران انتخاب شدند. در این پایلوت، پاستوریزاسیون شیر به روش کند (Low Temperature Long Time) (L.T.L.T.) صورت گرفت. نمونه‌های مذکور هر یک به دو بخش تقسیم شده و به یک بخش محلول اسید لاکتیک ۹٪ تا رسیدن بهpH=۴/۶افزوده شد و سپس مراحل آماده سازی نمونه‌ها برای بررسی‌های میکروسکوپی انجام گردید.

نتایج به دست آمده از مطالعهٔ شکل میسل‌ها در نمونه‌های اسیدی نشده با میکروسکوپ‌های الکترونی نگاره و گذاره نشان دهندهٔ ساختمان مدور میسل‌های کازئینی با سطحی یک‌نواخت و به صورت منفرد بود که با نتایج مطالعات مشابه قبلی مطابقت داشت. البته این همگونی ساختاری در مورد میسل‌های شیرخام کامل‌تر بود. در مورد نمونه‌های اسیدی شده حالت توده‌ای(Aggregate) میسلی در هر دو نمونهٔ شیرخام و پاستوریزه به وضوح مشاهده شد و علت آن خنثی شدن بارهای الکتریکی هم‌نام درpHایزوالکتریک کازئین‌ها و خروج فسفات کلسیم میسلی تشخیص داده شد. مطالعات انجام شده با هر دو نوع میکروسکوپ الکترونی تأیید کنندهٔ یکدیگر بودند و تا حدی با استفاده از آنها آثار فرایند حرارتی در افزایش قطر میسل در نمونهٔ مربوط به شیرپاستوریزه دیده شد.

واژه‌های کلیدی: *میسل کازئینی، کازئین ایزوالکتریک (Isoelectric Casein)، شیرخام، شیرپاستوریزه، pH ایزوالکتریک کازئین، میکروسکوپ الکترونی نگاره، میکروسکوپ الکترونی گذاره*

۱. استادیار علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲. به ترتیب دانشیار و استاد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]

مقدمه

در شیر مایع فازهای مختلفی وجود دارد. ذرات تشکیل دهندهٔ این فازها دارای اندازه‌های مختلفی هستند و این تفاوت بر روی ثبات یا عدم ثبات شیر اثر می‌گذارد. اندازهٔ برخی از آنها اجازه می‌دهد که بخش مربوطه به کمک میکروسکوپ الکترونی مطالعه شود. بزرگ‌ترین ذرات، گویچه‌های چربی بوده و بعد از آنها میسل‌های کازئین قرار دارند که هر دو به صورت ذرات کروی شکل در شیر دیده می‌شوند(۱۸). بعد از این دو گروه، پروتئین‌های محلول، موسوم به پروتئین‌های آب پنیر (Whey proteins) و بالاخره دیگر ترکیبات فاز محلول، قرار دارند. اندازه پروتئین‌های آب پنیر از نظر مطالعه با میکروسکوپ الکترونی فقط پس از تغییر ماهیت(Denaturation) فیزیکی یا فیزیکو شیمیایی قابل رویت هستند(۱۸).

اندازهٔ میسل‌های کازئینی به گونه‌ای است که با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده نبوده و فقط با میکروسکوپ الکترونی دیده می‌شوند(۱۷ و ۱۸). شکل ظاهری و اندازهٔ میسل‌های کازئینی به وسیلهٔ پژوهشگران بسیاری مطالعه شده است (۲۸) اما از نظر اندازهٔ متوسط میسل‌ها، اغلب منابع علمی حدود ۱۰۰ نانومتر را مطرح نموده‌اند (۹، ۱۵، ۱۶، ۱۷ و ۱۹). ولی در برخی از منابع دیگر این ابعاد را ۲۰ تا ۳۰۰ نانومتر(۲)، ۱۰۰ تا ۳۰۰ و حتی ۴۰۰ نانومتر (۳ و ۱۸)، ۵۰۰ تا ۲۵۰۰ آنگستروم (۵)و ۱۳۰ تا ۱۶۰ نانومتر (۲۰) نیز ذکر نموده‌اند. با توجه به اثر اندازهٔ میسل‌ها در فرایند انعقاد آنزیمی و ویژگی‌های لختهٔ حاصله، اطلاع از این امر به خصوص برای استفاده در صنعت پنیرسازی اهمیت خاصی دارد و به هر حال مطالعه با میکروسکوپ الکترونی می‌تواند وضع میسل را در شرایط طبیعی، پس از عمل آنزیم منعقد کننده و یا ترسیب با اسید مشخص کند و نشان دهد که پس از انجام تغییرات فوق چه تفاوت‌هایی در شکل ظاهری و تراکم آنها رخ می‌دهد.

حدود ۸۰٪ پروتئین شیر گاو را کازئین‌ها تشکیل می‌دهند. کازئین‌ها در شیر طبیعی به شکل میسل و همراه با مقداری مواد معدنی موجودند. تعادل میسل‌ها به وسیلهٔ عمل آنزیم‌های تجزیه کنندهٔ کاپا-کازئین(κ - Casein) و هم‌چنین به وسیله اسیدی کردن شیر تا pH ایزوالکتریک آنها، مختل می‌شود (۱، ۷ و۱۶). هم‌چنین در حرارت‌های زیاد، کاپا - کازئین با برخی پروتئین‌های حاوی سیستئین، کمپلکس تشکیل می‌دهد و بنابراین در شکل طبیعی میسل تغییراتی ایجاد می‌شود(۶، ۲۳، ۲۴ و ۲۵).

آثار کلیهٔ این تغییرات در شکل میسل‌های کازئینی به کمک مطالعه با میکروسکوپ الکترونی قابل رویت است و این روش می‌تواند در جهت ارزیابی آثار فرایندهای مختلف بر شکل و خواص کازئین‌ها مورد استفاده قرار گیرد. به عنوان مثال، تراکم ناشی از پیوستن ذرات بعد از عمل مایهٔ پنیر و یا انعقاد ناشی از حذف بارهای الکتریکی توسط یون هیدروژن اسیدها، ازجمله مواردی است که به خوبی در مطالعه با میکروسکوپ الکترونی قابل ارزیابی است.

لازم به ذکراست که سه جزء اصلی کازئینی،یعنی آلفااس- کازئین(α_s - Casein)، بتا- کازئین(β -Casein) و کاپا-کازئین دارای pH ایزوالکتریک نسبتاً نزدیک، ولی متفاوتی هستند و pH ایزوالکتریک مجموعه کازئینی در حدود ۴/۶ در نظر گرفته می‌شود. با استفاده از تکنیک‌های مختلف و با به کارگیری میکروسکوپ الکترونی مشخص شده است که میسل‌های کازئینی به احتمال قریب به یقین از زیر واحدهایی با درصدهای متفاوت از کازئین‌های مختلف و با قطر متوسط ۲۰ نانومترتشکیل شده‌اند که به وسیله فسفات کلسیم آمورف و به صورت فرضی $Ca_9(po_4)_6$ به یکدیگرمتصل می‌شوند (۱، ۱۵، ۱۶، ۱۸ و۱۹). براساس آخرین فرضیه، ملکول‌های آلفا اس- کازئین و بتا- کازئین به طور عمده در بخش درونی میسل و ملکول‌های کاپا- کازئین در زیر واحدهای میسلی حاشیه‌ای قرار دارند (۱، ۶ و ۱۴). فسفات کلسیم را می‌توان با روش‌های متفاوت از میسل کازئینی خارج نمود و ساختار اصلی میسل را به صورت نسبی یا کامل تجزیه نمود (۱، ۱۶ و ۱۸).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

تهیهٔ شیرخام و شیرپاستوریزهٔ فرآوری شده به روش کند(دما C ° ۶۳، مدت زمان ۳۰ دقیقه) در پایلوت پژوهشی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران صورت گرفت و از آنها به صورت تصادفی نمونه برداری شد(۱۱).

مواد

اسیدلاکتیک ۹۰٪ ساخت شرکت مرک(Merck) آلمان که پس از ۱۰برابر رقیق شدن غلظت آن به ۹٪ کاهش یافت.

گلوتارآلدئید(Glutaraldehyde) ۲۵٪ مخصوص میکروسکوپ الکترونی ساخت شرکت BDH انگلستان.

کلرور کلسیم بدون آب، به صورت خشک، ساخت شرکت مرک آلمان.

فسفو تنگستیک اسید(Phosphotungstic Acid) خالص و خشک، ساخت شرکت مرک آلمان.

وسایل

علاوه بر استفاده از وسایل معمولی آزمایشگاه شیمی مواد غذایی از وسایل زیر جهت انجام آزمایش‌های لازم استفاده شد:

پولک مسی(Grid) پوشش داده شده با لایه کربن و فرم وار(Formvar) مخصوص میکروسکوپ الکترونی گذاره

جایگاه نمونه(Stub) ویژهٔ میکروسکوپ الکترونی نگاره

خشک کن تصعیدی(Freeze Dryer) مدل LY ساخت شرکت Snijders Scientific هلند

سانتریفوژ آزمایشگاهی از نوع H-200 NR ، ساخت شرکت Kokusan ژاپن

سانتریفوژ آزمایشگاهی از نوع JA-21 ، ساخت شرکت Beckman امریکا

حمام آب سرد(Cooling bath)

میکروسکوپ الکترونی گذاره مدل Em-900 ، ساخت شرکت Zeiss آلمان با ولتاژ ۸۰ کیلو ولت

دستگاه پوشش دهندهٔ(Coater) نمونهٔ میکروسکوپ الکترونی نگاره، ساخت شرکت Fisons انگلستان

میکروسکوپ الکترونی نگاره بامدل Leo – 440I ، ساخت شرکت Leo انگلستان با ولتاژ ۵ تا ۲۵ کیلوولت

روش‌ها

نمونه برداری و آماده سازی نمونه‌ها

شیرخام با چربی کمتر از ۰/۱ درصد در پایلوت پژوهشی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران تهیه شده و یک لیتر از آن به عنوان شیرخام بی چربی نمونه برداری شد. بخش دیگری از شیرخام بی چربی در این پایلوت به روش کند (دما C ° ۶۳، مدت زمان ۳۰ دقیقه) پاستوریزه شده و یک لیتر ازآن برداشته شد(۱۱).

نمونه‌های شیرخام و شیرپاستوریزه بلافاصله تا دمای C ° ۵ خنک و در همین دما به آزمایشگاه منتقل شدند. ابتدا به وسیله سانتریفوژ آزمایشگاهی Kokusan و با اعمال شتابی در حدود ۶۱۹۰ برابر شتاب ثقل به مدت ۲۰ دقیقه و در دمای C ° ۴، باقی‌مانده چربی نمونه‌های شیرخام و شیرپاستوریزه از آنها جدا شده و از نمونه‌های شیرخام و پاستوریزهٔ بی چربی، ۲ نمونه به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر برداشته شد و به ترتیب زیر شماره گذاری شدند:

نمونه‌های شمارهٔ ۱ و ۲، شیرخام بی چربی و ۳ و ۴ شیر پاستوریزهٔ بی چربی

به نمونه‌های شماره ۲ و ۴، به صورت تدریجی و قطره قطره مقداری اسیدلاکتیک ۹٪ اضافه گردید و ضمن اختلاط مداوم قطرات اسید با شیر تغییرات تدریجی pH اولیه شیر (pH = ۶/۶) تا رسیدن به pH نقطه ایزوالکتریک کازئین دنبال شد.

به منظور جدا کردن بخش کازئینی کلیهٔ نمونه‌ها در دمای C ° ۲ به مدت ۲۰ دقیقه با سانتریفوژ آزمایشگاهی

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]

Beckman و با اعمال شتابی در حدود ۴۸۰۰۰ برابر شتاب جاذبه، سانتریفوژ شدند و رسوبات ته نشین شده از سرم فوقانی به آرامی جدا شد.

آماده سازی نمونه‌ها برای مطالعه بامیکروسکوپ میکروسکوپ الکترونی نگاره

عمل تثبیت نمونه‌ها در گلوتارآلدئید ۳٪ ، به مدت ۲۰ دقیقه، انجام شد و در مرحلهٔ بعد نمونه‌های تثبیت شده بر جایگاه نمونه ویژه میکروسکوپ میکروسکوپ الکترونی نگاره به صورت پاششی(Spray) اضافه شدند. سپس با قرار گرفتن جایگاه نمونه در دستگاه خشک کن تصعیدی به مدت ۴ ساعت، در دمای C °۵۳- و فشار ۰/۰۸ میلی بار به روش تصعیدی خشک شدند.

بر روی نمونه‌های خشک شده به روش تصعیدی در جایگاه نمونه ویژه میکروسکوپ الکترونی نگاره، در دستگاه پوشش دهندهٔ میکروسکوپ الکترونی نگاره، پوششی از طلا با قطر ۲/۵۵ نانومتر، ایجاد شد. سپس این جایگاه در محل مخصوص آن در میکروسکوپ مربوطه قرارگرفت و مطالعه و تصویر برداری به کمک میکروسکوپ انجام شد(۴).

آماده‌سازی نمونه‌ها برای مطالعه با میکروسکوپ الکترونی گذاره

رسوبات تهیه شده با سانتریفوژ آزمایشگاهی Beckman به مدت ۲۰ دقیقه در گلوتارآلدئید ۲۵٪ تثبیت شدند. در این مرحله نسبت گلوتارآلدئید به نمونه، ۱ به ۷ بود. در مرحلهٔ بعد نمونه‌های تثبیت شده با کلرور کلسیم ۰/۰۱ مولار مخلوط شدند و نسبت نمونه به کلرور کلسیم در این مرحله ۱ به ۵۰ در نظر گرفته شد. با روش رنگ آمیزی منفی(Negative staining) نمونه‌ها رقیق شده و به ترتیب زیر برای مطالعه با میکروسکوپ الکترونی گذاره آماده شدند (۱۲،۱۵، ۲۲،۲۳ و۲۷).

قطره‌ای از نمونهٔ رقیق شده بر روی پولک مسی ویژهٔ میکروسکوپ الکترونی گذاره گذاشته شد، پس از ۱ دقیقه، شیر اضافی بر روی پولک مسی به وسیلهٔ لبهٔ کاغذ صافی خشک شد. در مرحله بعد یک قطره اسید فسفوتنگستیک ۲٪ بر روی پولک مسی حاوی نمونه گذاشته شد و پس از ۳۰ دقیقه، اسید مورد نظر با آب مقطر از سطح پولک مسی شستشو داده شد. نمونه‌ها در دمای هوای خشک شدند و به وسیلهٔ میکروسکوپ الکترونی گذاره در ولتاژ ۸۰ کیلوولت، بررسی و تصویربرداری شدند.

نتایج

تصاویر میسل کازئینی در شیرخام (شکل ۱، تصاویر الف، ب) و شیرپاستوریزه (شکل ۱، تصاویر پ، ت) در pH طبیعی شیر و تصاویر این میسل‌ها در شیرخام اسیدی شده (شکل ۱، تصاویر ث، ج) و شیرپاستوریزه اسیدی شده (شکل ۱، تصاویر چ، ح) تا pH = ۴/۶ با استفاده از میکروسکوپ الکترونی نگاره نشان داده شده‌اند.

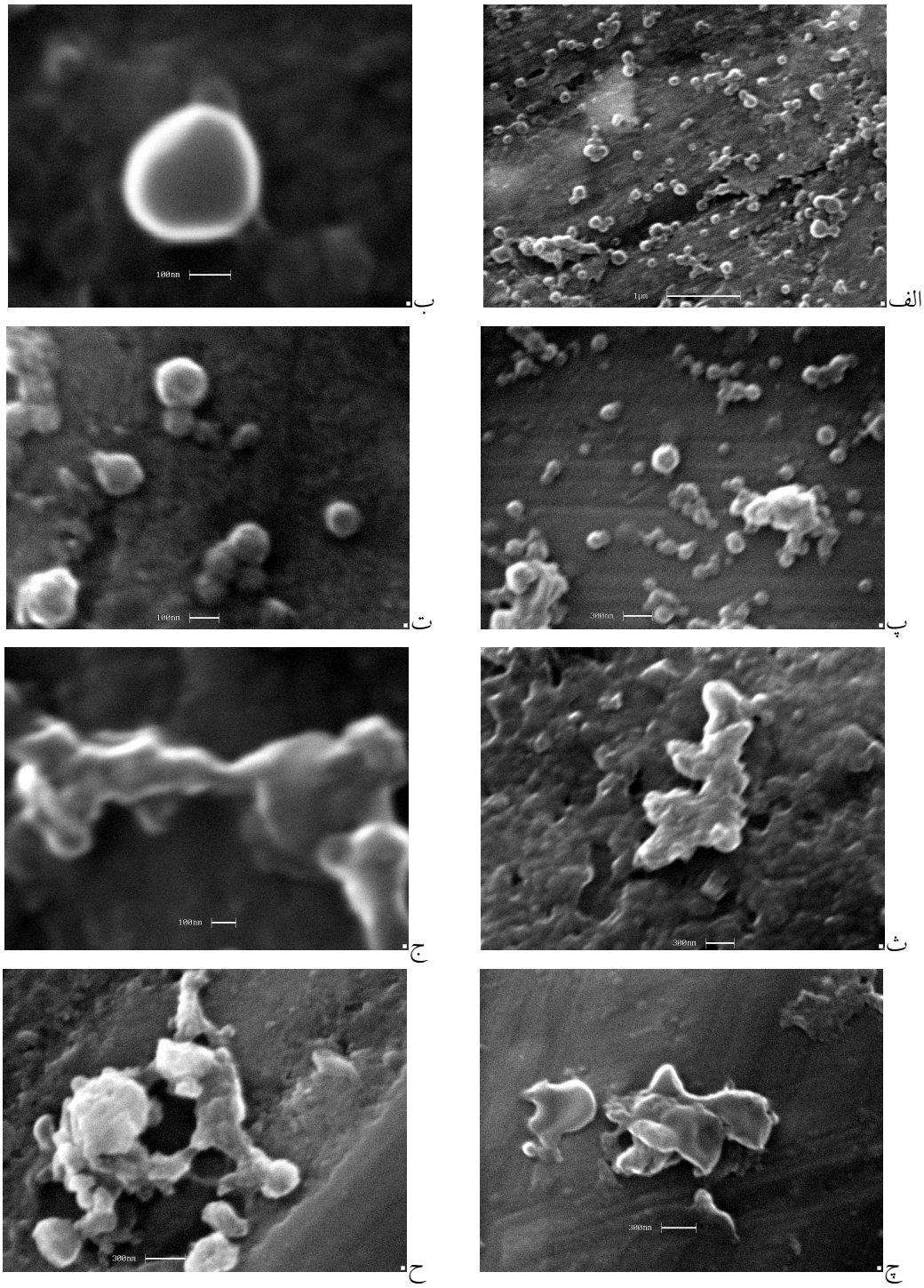
چنانچه در شکل۱ و تصاویر الف، ب، پ و ت دیده می‌شود، مطابق با یافته دیگر پژوهشگران میسل‌های کازئینی از سطحی یک‌نواخت برخوردار بوده و حالت کروی یا کروی متمایل به بیضی در آنها، نمایان است(۸، ۱۹ ،۲۱ و۲۲). علّت تجمع زیاد میسل‌ها به ویژه در تصاویر الف و پ، استفاده از سانتریفوژ آزمایشگاهی با دور بالاست که تراکم آنها را در واحد حجم به شدت بالا برده است.

البته در تصاویر پ و ت در شیرپاستوریزه شده، حواشی میسلی نسبتاً موزون کمتر دیده می‌شود که از این جهت با شیرخام (شکل‌های الف و ب) قدری تفاوت نشان می‌دهد. البته در این نمونه نیز تراکم برخی میسل‌ها (به ویژه در تصویر پ) دیده می‌شود که در این‌جا نیز حالت توده‌ای متراکم میسل‌ها مربوط به اثر سانتریفوژ دور بالاست.

در تصاویر ث، ج، چ و ح به وضوح حالت توده مانند و خوشه‌ای(Cluster) در میسل‌های کازئینِ در pH ایزوالکتریک کازئین دیده می‌شود. در این تصاویر حالت کروی و جدا از هم میسل‌های کازئینی رویت نشده و الحاق این ذرات به یکدیگر منجر به شکل‌گیری حالات مختلفی در ذرات مورد نظر شده است. در هر حال در هر دو نمونهٔ اسیدی شده اجتماع

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

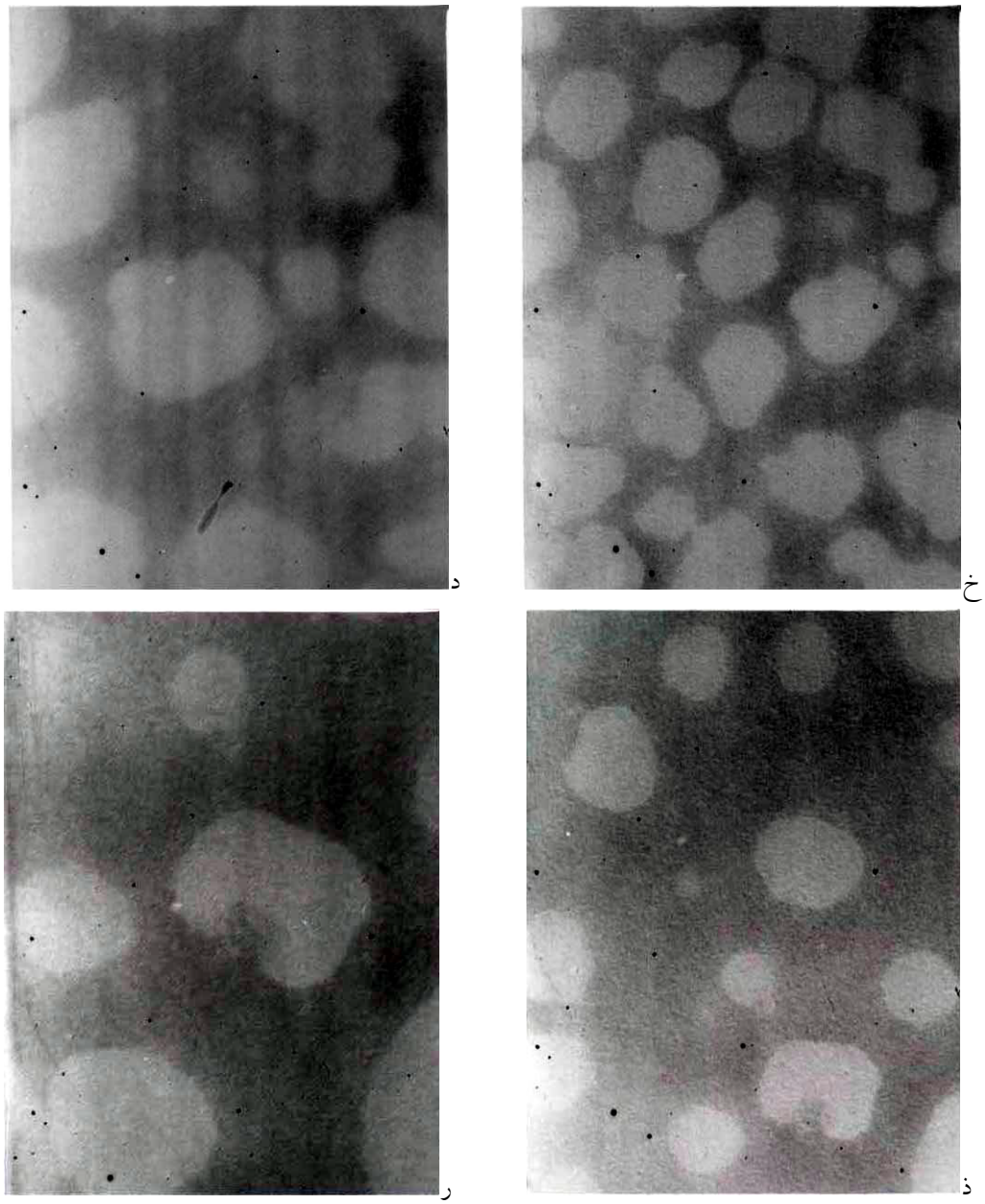
[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]



شکل ۱. تصاویر تهیه شده از میسل‌های کازئینی با میکروسکوپ الکترونی نگاره (در تصاویر ب، ت و ج مقیاس (بار) = ۱۰۰ نانومتر، در تصاویر پ ،ث ، چ و ح مقیاس (بار) = ۳۰۰ نانومترو در تصویر الف، مقیاس (بار) = ۱میکرومتر)

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]



شکل ۲. تصاویر تهیه شده از میسل‌های کازئینی با میکروسکوپ الکترونی گذاره(بزرگنمایی در تصاویر مربوطه به قرار زیر بوده است : خ ، ذ، ۱۷۰۰۰۰برابر ؛د، ر، ۲۸۰۰۰۰برابر ؛ ز، س، ۶۰۰۰۰ برابر؛ ژ، ش، ۱۰۰۰۰۰ برابر).

میسل‌ها بـه وضـوح قابـل مشـاهده اسـت و نمـی‌تـوان میسـل جداگانه‌ای با شکل مشخص و به صورت مجزا را تشخیص داد.

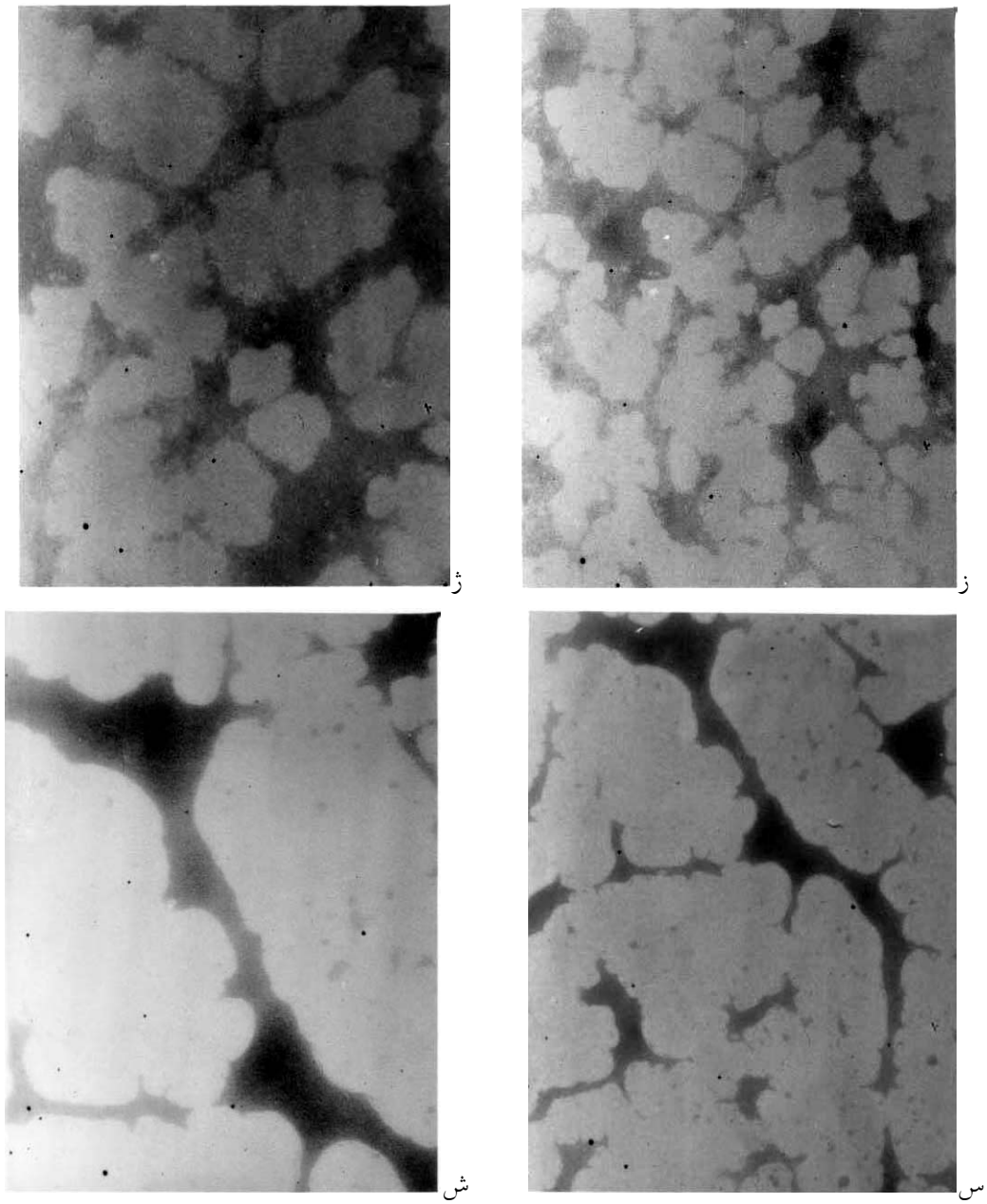
تصاویر میسل کازئینی درشـیر خـام (شـکل ۲، تصـاویر خ، د) و شیر پاستوریزه (شکل ۲، تصاویر ذ، ر) درpH طبیعی شـیر و تصـاویر این میسل‌هـا در شـیرخام اسـیدی شـده (شـکل ۲، تصـاویر ز، ژ) و شیرپاستوریزهٔ اسیدی شده (شکل ۲، تصـاویر س، ش) تـا pH = ۴/۶ با استفاده از میکروسکوپ الکترونی گذاره، نشان داده شده‌اند.

بحث

اشکال مربوط به میسل‌های کازئینی شیرخام و شیرپاستوریزه در pH طبیعی، نشان مـی‌دهنـد کـه قطـر متوسـط میسـل‌هـای کازئینی در حدود ۸۰ تا ۱۰۰ نـانومتر اسـت. ایـن انـدازه‌هـا بـا

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]



ادامه شکل ۲

اندازه‌های اعـام شده در پژوهـش‌هـــای مشـابه در کشـــورهای دیگر تطبـیق می‌کند (۹، ۱۵، ۱۷،۱۶ و ۱۹).

شکل میسل‌های کازئینی در شیرخام و شیر پاستوریزه در pH طبیعی،تقریباً کروی با سطح موزون بوده و این ذرات به شـکل مجزا و مستقل از هم وجود دارند و در مواردی که پیوسـتگی و الحاق ملاحظه می‌شود، این امر ناشـی از کشـش طبیعـی نبـوده بلکه نتیجه تراکم تعداد میسل‌ها در واحـد حجـم اسـت و ایـن یافته با نتایج گزارش‌های ارائه شدهٔ پیشین هم‌آهنگـی دارد (۸ و ۲۲). اگرچه در مورد شکل مربوط به میسـل‌هـای کـازئینی شـیر پاستوریزه، اندکی ناصافی بر سـطح میسـل و تـا حـدی حالـت

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]

الحاق ذرات رویت می‌شود، ولی با قاطعیت نمی‌توان گفت که این پدیده نتیجه تشکیل کمپلکس کاپا - کازئین موجود بر سطح میسل با بتالاکتوگلوبولین(β-Lactoglobulin) یا ترکیبات دیگر شیر است(۲، ۶، ۱۳، ۱۶، ۲۳، ۲۴ و۲۵). البته حرارت دادن شیر در دمای بیش از ۸۵°C امکان پیدایش این کمپلکس را به صورت جدی فراهم می‌نماید و در صورت ایجاد این کمپلکس مطمئناً شکل ذرات تغییر خواهد کرد. ولی در شرایط این تجربه احتمال انجام چنین واکنشی تنها به صورت نسبی مطرح بوده است. البته برخی از پژوهشگران گزارش نموده‌اند که میسل‌ها در شیر عمل آوری نشده حالت همگن دارند ولی در نقاطی که کاپا- کازئین وجود دارد سطح میسل کمی برجسته‌تر(Ragged in Outline) می‌شود ولی این برجستگی در حدی نیست که با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده باشد(۲۳). به هر حال در این زمینه، انجام تجربیات اضافی ضروری است، مثلاً می‌توان میزان بتا - لاکتوگلوبولین آزاد را قبل ازحرارت دادن شیر و پس از آن اندازه‌گیری نمود و یا تعداد اتصالات ناشی از اسیدهای آمینه سیستئین دار را دقیقاً مشخص کرد. این امر در دستور کار برنامه‌های مطالعاتی تکمیلی است. کمپلکس بتا - لاکتوگلوبولین و کاپا - کازئین در دمای کمتر از دمای پاستوریزاسیون، ممکن است به صورت نسبی شکل گیرد که نتیجهٔ آن تغییر شکل در برخی میسل‌ها و ایجاد برجستگی‌هایی به مراتب کوچک‌تر از ناهمگونی‌هایی است که در تصاویر میکروسکوپی دیده می‌شوند.

در خصوص تصاویر مربوط به شیرهای خام و پاستوریزهٔ اسیدی شده تا pH ایزوالکتریک کازئین‌ها یعنی pH=۴/۶ تصاویر میکروسکوپی به صورت مشخصی حالت توده‌ای را در میسل‌هایی که به علت خنثی شدن بارهای الکتریکی همنام جذب یکدیگر شده‌اند، نشان می‌دهد(۱ و ۷). جذب ذرات و تشکیل توده کازئینی در عین حال با خروج نسبی فسفات کلسیم درون میسلی که میسل‌ها را به صورت سیمان چسباننده‌ای در کنار هم نگه می‌دارد، همراه ست (۱۸ و ۲۶)، این امر منجر به متلاشی شدن ساختمان میسلی به کمپلکس‌های غیر کلوئیدی می‌شود (۱۰ و۱۴) و قطعاً در تغییر شکل ذرات به جا مانده مؤثر است، ولی تصاویر به دست آمده صرفاً توده‌هایی بزرگ‌تر، مثلاً با قطر بیش از ۳۰۰ نانومتر و یا پیوستن این توده‌ها را به یکدیگر نشان می‌دهند (۷ و ۲۶) و این امر در عمل به قدری تداوم پیدا می‌کند که در مقطع خاصی با چشم غیر مسلح نیز قابل مشاهده‌اند. به نظر می‌رسد که این وضعیت در مورد شیرپاستوریزه دارای حالت شاخص‌تری است که شاید مربوط به خروج کمتر مواد معدنی از ساختمان میسلی باشد. حرارت پاستوریزاسیون منجر به افزایش کلسیم میسلی و بنابراین درشت تر شدن میسل‌ها می‌شود و طبیعی است که در شرایط مساوی، حتی اسیدی کردن منجربه باقی ماندن فسفات کلسیم میسلی بیشتری می‌شود. ضمناً وجود کمپلکس احتمالی کاپا - کازئین و بتا - لاکتوگلوبولین در شیرپاستوریزه نیز می‌تواند عامل دیگری باشد که منجر به شکل‌گیری توده‌های درشت‌تر می‌شود. باید اضافه شود که این برداشت‌ها کاملاً نسبی است و قضاوت قطعی در این زمینه‌ها نیاز به تجربیات وسیع‌تری دارد، ولی مسلم است که تغییرات ساختمان میسل‌ها قبل از اسیدی شدن شیر، آثار ظاهری خود را کماکان بعد از این عمل اعمال می‌نمایند. در صورتی که استنتاجات انجام شده، صحیح باشند می‌توان انتظار داشت که تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای بین کازئین ایزوالکتریک ناشی از شیرخام و شیرپاستوریزه، به ویژه از نظر بافت موجود باشد، امری که می‌تواند در کاربردهای بعدی این ماده به عنوان عامل ایجاد بافت در برخی فرمولاسیون‌ها مورد بهره‌بردای قرار گیرد.

با توجه به ملاحظات فوق می‌توان نتایج ناشی از بررسی میسل‌های کازئینی در شیرخام و شیرپاستوریزه دارای pH طبیعی و نیز در pH = ۴/۶ را با توجه به تصاویر میکروسکوپی آنها، به صورت زیر خلاصه نمود:

میسل معمولی(Native casein micelle) دارای حالت مدور و منظم است و اندازه‌ها در حد معمولی و منطبق با کوچک‌ترین

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]

اندازه‌هایی است که در مقالات مشابه کشورهای دیگر دیده می‌شود. البته باید در نظر داشت که این نتایج به نمونه‌های محدودی مربوط می‌شود و مسلماً آثار نژاد، فصل و تغذیه می‌تواند در تغییر اندازه‌ها مؤثر باشند. در ضمن حرارت دادن شیر و نیز اسیدی کردن آن تغییراتی در جهت حذف همگونی غشای خارجی میسلی و ایجاد پیوستگی گسترده به دنبال دارند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت شرکت صنایع شیر ایران به ویژه مدیریت و کارکنان کارخانه پگاه همدان به خاطر حمایت گسترده آنها سپاسگزاری می‌شود. هم چنین از مدیریت گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و معاونت پژوهشی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی به خاطر فراهم نمودن شرایط انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. احسانی، م. و م. رجائی. ۱۳۶۸. *مکانیزم‌ها و عوامل انعقاد شیر*. انتشارات مؤسسه تحقیقات دام‌پروری، کرج.

۲. آنکوژل ا.، *تکنولوژی شیر و فرآورده‌های لبنی* (ترجمهٔ ع. مرتضوی، م. قدس روحانی و ح. جوینده). ۱۳۷۴. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

3. Azuma, N., S. Furuuchi, H. Takahara, K. Sugawara and C. Kanno. 1998. Electron microscopic study on the influence of deimination on casein micelle formation. J Dairy Sci. 81: 64-68.
4. Brooker, B. E. and K. Wells. 1984. Preparation of dairy products for scanning electron microscopy: etching of epoxy resin-embedded material. J Dairy Res. 51: 605-613.
5. Carroll, R. J., M. P. Thompson and G. C. Nutting. 1968. Glutaraldehyde fixation of casein micelles for electron microscopy. J. Dairy Sci.51: (12): 712-717.
6. Creamer, L. K., J. E. Plowman, M. J.Liddell, M. H. Smith and J. P. Hill. 1998. Micelle stability: k-casein structure and function. J. Dairy Sci. 81: 3004-3012.
7. Dairy processing handbook. 1995. Tetra Pak Processing Systems. Lund, Sweden.
8. Davies, F. L., P. A. Shankar, B. E. Brooker and D. G. Hobbs. 1978. A heat-induced change in the ultrastructure of milk and its effect on gel formation in yoghurt. J. Dairy Res. 54: 53-58
9. De Kruif, C. G. 1998. Supra-aggregates of casein micelles as a prelude to coagulation. J. Dairy Sci. 81: 3019-3028.
10. Farrell, H. M. Jr., H. Pessen, E. M. Brown and T. F. Kumosinski. 1990. Structural in sights into the bovine casein micelle: small angel X-ray scattering studies and correlations with spectroscopy. J. Dairy Sci. 73: 3592-3601.
11. Grace, V., G. A. Houghtby, H. Rudnick, K. Whaley and J. Lindamood. 1992. Sampling Dairy and Related Products. PP. 59-84. *In*: R. T. Marshal (Ed.), Standard Methods for The Examination of Dairy Products. Washington DC., American Public Health Association.
12. Harwalkar, V. R., P.Allan-Wojtas and M. Kalab. 1989. Effect of heating to 200C on casein micelles in milk: A metal shadowing and negative staining electron microscope study. J. Food microstructure 8: 217-224.
13. Heertje, I. and M. Paques. 1995. Advances in electron microscopy. PP. 1-52. *In*: E. Dickinson(Ed.), New Physico-Chemical Techniques for the Characterization of Complex Food Systems. Chapman and Hall, London, England.
14. Holt, C. 1998. Casein micelle substructure and calcium phosphate interactions studied by sephacryl column chromatography. J. Dairy Sci. 81: 2994-3003.
15. Kalab, M. 1977. Electron microscopy in dairy research. MSC-SMC Bulletin, 4-10.
16. Kalab, M. 1979. Milk products based on Proteins. J. Dairy Sci. 62: 1352-1364.
17. Kalab, M. 1985. Milk products based on fat. J. Dairy Sci. 68: 3234-3248.
18. Kalab, M. 1993. Practical aspects of electron microscopy in dairy research. J. Food structure 12: 95-114.
19. Knoop, E. 1972. Strukturaufklarugen durch elektroenmikroskopische Untersuchungen an Eiweiss und Milchfelt. Milchwissenschaft 27: 364- 371.
20. Mc Mahon, D. J. and R. J. Brown. 1984. Composition, structure and integrity of casein micelles: A Review. J. Dairy Sci. 67: 499-512.
21. Mc Mahon, D. J. and W. R. Mc Mannus. 1998. Rethinking casein micelle structure using electron microscopy. J. Dairy Sci. 81: 2985-2993.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]

22. Morr, C. V. 1967. Effect of oxalate and urea upon ultracentrifugation properties of raw and heated skim milk casein micelles. J. Dairy Sci. 50: 1744- 1749.
23. Needs, E. C., M. Capellas, A. Patricia Bland, P. Manoj, D. Macdougal and G. Paul. 2000 Comparison of heat and pressure treatment of skim milk, fortified with whey protein concentrate, for set yogurt preparation: effect on milk proteins and gel structure. J. Dairy Res. 67: 329-348.
24. Needs, E. C., R. A. Stenning, A. L. Gill, V. Ferragut and G. T. Rich. 2000. High pressure treatment of milk: effects on casein micelle structure and on enzymic coagulation. J. Dairy Res. 67: 31-42.
25. Park, S. Y., K. Nakamura and R. Niki. 1996. Effect of B-Lactoglobulin the rheological properties of casein micelle rennet gels. J. Dairy Sci. 79: 2137-2145.
26. Renault, C., E.Gastaldi, L. Cuq and Tarodo de La Fuente. 2000. Effect of temperature of milk acidification on rennet gel properties. J. Food Sci. 65 630-634.
27. Rose, D. and J. R. Colvin. 1966. Appearance and size of micelles from bovine milk. J. Dairy Sci. 49: 1091-1097.
28. Schmidt, D. G., P. Walstra and W. Buchheim. 1973. The size distribution of casein micelles in caws milk. Netherlands Milk and Dairy J. 27: 128- 135.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1384.9.2.12.2]