# عوامل تأثیر گذار بر نتایج آزمون الکل شیر به منظور بررسی کیفیت شیر خام

**گردآوری و ترجمه :**
رسول رضائی(دکتری تخصصی تغذیه دام)

---

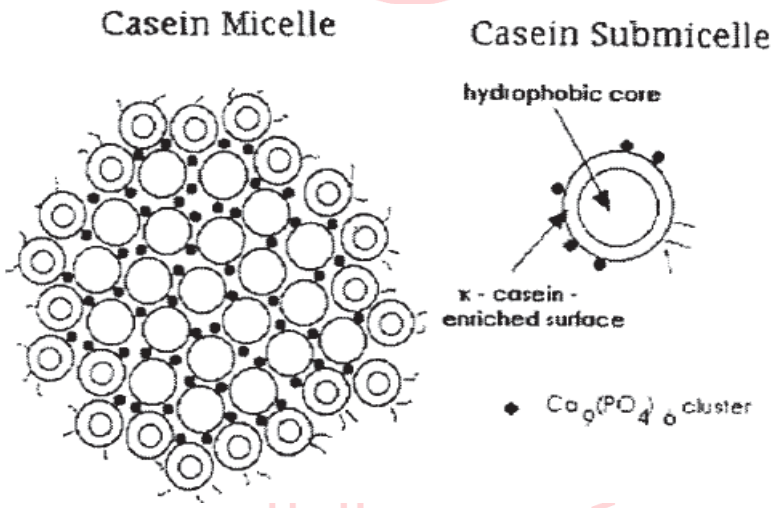
**مقدمه**

پایداری پروتئین شیر یکی از مهم ترین موضوعات صنعت لبنیات خصوصاً برای کارخانجات فرآوری شیر است. شیر تحویل گرفته شده از گاودار بایستی در برابر حرارت پایدار باشد تا از لخته شدن شیر جلوگیری به عمل آید (Fischer et al, 2012). همچنین امکان ذخیره سازی شیر در کوتاه مدت فراهم آید بدون آنکه تغییری در پروتئین شیر در فرآیند حرارت دهی (پاستوراسیون و *استریلیزاسیون*) به وجود آید (Garcia-Risco et al., 1999). بنابراین آزمایش پایداری شیر در برابر اتانول (Milk Ethanol Stability) هنوز هم در سراسر جهان در سکوهای تحویل شیر به منظور آزمودن پایداری پروتئین های شیر صورت می‌گیرد ( Fischer et al., 2012). از جمله مهمترین آزمایش هایی که امروزه در هنگام تحویل شیر به کارخانجات انجام می‌گیرد آزمون پایداری در برابر الکل، دانسیته، اسیدیته و چربی و پروتئین شیر است. آزمون الکل یک آزمایش ساده و سریع است. اساس مثبت بودن این آزمایش ساده بی ثباتی پروتئین های شیر است و آن زمانی که سطوح اسید (بیش از 0/21 درصد) و یا عوامل لخته کننده افزایش یابد و با الکل وارد واکنش شود. همچنین افزایش سطوح آلبومین (کلستروم شیر) و غلظت نمک ها (ورم پستان) در شیر منجر به مثبت شدن آزمایش الکل می‌شود. در آزمون پایداری در برابر الکل از الکل اتانول 68 ٪ یک حجم (1میلی لیتر شیر و 1 میلی لیتر اتانول 68 درصد ) و اتانول 68٪ دو حجم (1میلی لیتر شیر و2 میلی لیتر اتانول 68 درصد) انجام می شود، این آزمایش بر روی پتری دیش به راحتی قابل انجام است و در صورتی که لخته‌ای ایجاد شود آزمایش مورد نظر مثبت خواهد بود و لذا شیر توسط کارخانه فرآوری محصولات لبنی پذیرفته نخواهد شد. علاوه بر این آزمون الکل، آزمایشی است که عمدتاً به تازگی و کهنگی شیر نیز مربوط می‌شود و به عنوان یک آزمایش غربالگر جهت تشخیص و انتخاب شیرهای سالم و مناسب برای تولید فرآورده های لبنی استفاده می‌شود.

**ساختار پروتئین شیر و عوامل مؤثر بر پایداری آن**

پروتئین های شیر به دو گروه تقسیم می شوند یکی کازئین که حدود 78 درصد پروتئین شیر را تشکیل می‌دهد و دیگری پروتئین‌های سرم شیر که حدود 17 درصد پروتئین شیر را تشکیل می دهند. کازئین پلیمری از مولکول‌های یکسان و متنوعی است که این ساختار از صدها مولکول منفرد تشکیل شده است که

رنگ سفید شیر را ناشی می شود. در شیر کازئین به شکل میسل های کلوئیدی کروی بزرگ همراه با فسفات کلسیم به صورت معلق می باشد. میسل‌های کازئین دارای حدود 93 درصد کازئین و حدود 7 درصد فسفات کلسیم هستند. در واقع هر میسل از تعدادی میسل کوچک تشکیل شده اند و هر میسل کوچک از 25 تا 30 زیر واحد های آلفا، بتا و کاپا ( κوα, β, ) درست شده است که این زیر واحدها توسط فسفات کلسیم به هم متصل شده‌اند (شکل 1). بخش های آبگریز کازئین ها (زیر واحد های آلفا، بتا) در هسته مرکزی میسل کوچک و بخش های آب دوست آنها (زیر واحد کاپا) در لایه سطحی قرار می‌گیرند. فسفات کلسیم با ایجاد اتصال بین میسل های کوچک نقش مهمی در پیوستن آنها به یکدیگر و ایجاد میسل کازئین دارد. میسل های کوچک به گونه ای به هم متصل شده اند که میسل کروی و بزرگ ایجاد شده دارای سطحی آبدوست و غنی از کاپا کازئین است (Marvin et al, 1976).




ساختمان شماتیک میسل کازئین شیر (بر گرفته از سایت دانشگاه گوئلف کانادا)

میسل های کازئین در pH طبیعی شیر دارای بار منفی می‌باشند و یکدیگر را دفع می کنند و در شیر پایدار می‌مانند. لذا هر عاملی که سبب شود توزیع بار الکتریکی در میسل تغییر کند سبب رسوب پروتئین شیر خواهد شد. به نظر می‌رسد مهمترین عامل مؤثر pH شیر باشد. با افزایش اسیدیته شیر غلظت یون‌های هیدروژن افزایش یافته که این خود توزیع بار الکتریکی پروتئین کازئین را مختل می‌کند لذا کازئین رسوب می کند. بعبارت دیگر در pH های پایین پروتئین شیر به نقطه ایزوالکتریک خود می‌رسد که نهایتاً سبب رسوب پروتئین خواهد شد. از طرفی بعضی تحقیقات نشان می دهند که وجود یون‌ها (به خصوص کلسیم و منیزیم) با اتصال به سطح میسل‌های کازئین سبب کاهش بار الکتریکی آنها شده و بنابراین نیروی دافعه بین میسل ها کم می شود لذا با کاهش ثابت دی الکتریک محلول توسط الکل میسل های تجمع یافته رسوب می‌کنند (Horne and Parker, 1981). علاوه بر این، با افزایش ماندگاری شیر پیوندهای هیدروژنی بین

پروتئین شیر و سایر ترکیبات سست شده و می تواند با الکل واکنش داده و رسوب کند. آزمون اسیدیته بالا نیز عمدتاً به دلیل تخمیر میکروبی لاکتوز (قند شیر) اتفاق می‌افتد و با رعایت مسائل بهداشتی می‌توان تا حد زیادی از آن جلوگیری کرد. عوامل تغذیه‌ای هم در مثبت شدن آزمون الکل شیر مهم هستند ولی اهمیت آنها نسبت به مسائل مدیریتی به مراتب کمتر می‌باشد. مسائلی مانند تغییر ناگهانی جیره، برهم خوردن تعادل الکترولیت‌ها، سیلوی کم کیفیت مواردی هستند که می‌توانند باعث مثبت شدن این آزمایش شوند. دیگر عوامل مؤثر و تشدید کننده آزمون الکلی مثبت عبارتند از :

1-فرآیند ناقص شست و شوی دستگاه شیر دوش[1] ((CMP)) از جمله ماندن محلول سود در داخل مسیر شیر دوشی، تغییرات غلظت اسید و باز در محلول های شست وشو

2- آلودگی لوله‌های انتقال شیر و ماشین حمل شیر

3-عدم رعایت بهداشت در شیردوشی گاوها

2-نقص در دستگاه شیر دوش مثل لاینرها و تیوب های فرسوده

4- درصد آب بالای شیر

5- بار میکروبی بالای شیر

6- شیر گاوهای ورم پستانی (California Mastitis Test) و یا گاوهای ناسالم

7 – وجود آغوز در شیر

**نقش بهداشت و مدیریت بر پایداری پروتئین شیر**

کیفیت شیر خام یک جزء مهم و اساسی در ارزیابی عملکرد زنجیره تولید گاوهای شیری محسوب می‌شود. که مدیریت صحیح و بهداشت در تولید شیر باکیفیت در این امر بسیار حائز اهمیت است. بطوریکه مطابق تحقیقات انجام شده مسائل مدیریتی در مثبت بودن آزمون الکل شیر نقشی تعیین کننده دارد. رعایت مسائل بهداشتی گله گاوهای شیری خصوصاً در عملیات شیردوشی، شست و شو و ضد عفونی دوره‌ای دستگاه شیر دوش و خطوط لوله شیردوشی موضوعات مهمی هستند که بایستی به آنها توجه ویژه شود. نخست قبل از هر شیردوشی باید از سلامت عمومی دام و سپس از سلامت پستان گاو اطمینان حاصل نمود. بدین منظور لازم است هر چند روز یک بار سلامت پستان‌ها از نظر ورم پستان به روش کالیفرنیایی مورد بررسی قرار گیرند. لازم است برای شیردوشی ترتیبی اتخاذ گردد که ابتدا گاوهای تازه زای سالم و سپس گاوهای مسن و در نهایت گاوهای بیمار تحت درمان که شیرشان قابل مخلوط کردن با شیر دامداری نیست دوشش شوند. هر چند کاملاً واضح است که بایستی قبل از شروع دوشش‌ها پستان‌شسته و توسط دستمال مخصوص خشک شوند و سپس اندکی شیر با دست دوشیده (رگ گیری) و در نهایت خرچنگی به سر پستان‌ها نصب گردد. لازم است در شروع

1- Clean Milk Production

فرآیند شیر دوشی شیر اولیه مربوط به هر گاو بازبینی شده و بدون بازبینی اولیه هرگز در تانک شیر ریخته نشود. بایستی توجه داشت که دوشش بیش از اندازه می‌تواند گاوها را در برابر ورم پستان مستعد کند. در انتهای شیر دوشی نیز با فرو بردن سر پستانک‌ها در محلول ضد عفونی آنها را ضدعفونی نمایید. بلافاصله بعد از شیر دوشی سالن و دستگاه‌های شیر دوشی بایستی شست و شو و ضد عفونی[۲] (CIP) گردند. در شست و شو باید به نکات زیر توجه نمود:

1. قسمتهای که امکان بازکردن آنها وجود دارد مثل خرچنگی ،پستانک‌ها، غلاف پستانک باید پس از آخرین دوشش بازکرده و قطعه قطعه شستشو شوند.
2. در آب مورد مصرف برای شستشوی دستگاههای شیردوشی نباید به هیچ وجه از مواد کف کننده استفاده شود.
3. مواد شستشو و ضدعفونی کننده باید در دمایی که سازنده مواد توصیه نموده استفاده شود.
4. از غلظت‌های مناسب پاک کننده ها در محلول های شست و شو دهنده استفاده شود.
5. شستشو دارای نظم مخصوص بوده که می‌بایستی توسط شخص شیردوش رعایت وانجام گردد.
6. در ابتدا خط مسیر عبور شیر با آب سرد برای مدت چند دقیقه، سپس با آب گرم و بعد با محلول‌های شیمیائی شستشو کننده مخلوط با ضد عفونی کننده ویا بطور جداگانه شستشو وضدعفونی گردند.
7. در مرحله آخر با آب تمیز وسالم وسردآثار وبقایای مواد شستشو و ضد عفونی کننده را از مسیرخارج نمود.
8. عمل شستشو و ضد عفونی دستگاه در هروعده شیردوشی بلافاصله باید انجام شود.

آب مورد مصرف شستشوی دستگاه‌ها باید آب آشامیدنی و مطابق استاندارد باشد. چنانچه شیر تولیدی را نتوان حداکثر ظرف مدت 2 ساعت به مراکز جمع آوری ویا کارخانجات منتقل نمود باید هر چه سریعتر شیر را جهت سرد کردن به اتاق نگهداری شیر انتقال داد و تا 8 درجه سانتیگراد خنک نمود و اگر جمع آوری شیر، به صورت روزانه انجام نمی‌شود باید دردمای 6 درجه سانتیگراد نگهداری شود. بایستی توجه نمود وقتی شیر به کارخانجات صنایع لبنی منتقل می‌شود نباید دمای آن بیش از 10 درجه سانتیگراد باشد.

**اثرات تغذیه ای بر پایداری پروتئین شیر**

بیشتر مطالعات شرایط تغذیه ای و متابولیکی را عامل مهم در تغییر پایداری شیر گزارش کرده‌اند( Zanela et al., 2006; Marques et al., 2011; Barbosa et al., 2012). بورسا (2012) گزارش کرد که کمبود مواد مغذی جیره سبب کاهش تولید غلظت کاپا کازئین شده که در نهایت سبب کاهش پایداری شیر

2- Cleaning In Place

این دسته از گاوها در برابر آزمون الکل می‌شود. بطوری که چنین حالتی در گاوهای تغذیه شده با جیره‌های متعادل وجود ندارد. مارکوس و همکاران (2011) گزارش کردند که اسیدوز متابولیک گاوهای شیری از طریق عمل هورمون های پاراتیروئید و 1و 25- دی هایدروکسی کوله کلسیفرول می تواند غلظت یون کلسیم آزاد را در شیر افزایش داده و سبب کاهش پایداری شیر در برابر آزمون الکل شود. علاوه بر غلظت یون کلسیم و کاپا کازئین، دیگر ترکیبات شیر نیز سبب کاهش پایداری شیر می‌شوند این ترکیبات شامل تشکیل کمپلکس β-LG پروتئین با کاپا کازئین در میسل، MUN، دما، pH و غلظت های سیترات و فسفات در شیر هستند (Jeurnink and De Kruif, 1995; Singh, 2004; Lewis, 2011).

هم کمبود و هم بیش بود مواد مغذی (از طریق اسیدوز متابولیکی ناشی از اسیدوز شکمبه ای) می تواند پایداری شیر را از طرق مختلف کاهش دهد (Marques et al., 2011; Barbosa et al., 2012; Fischer et al., 2012). کلسیم علاوه بر فاز کلوئیدی و تشکیل در ساختمال میسل در شیر به شکل آزاد حضور می‌یابد که این حضور می تواند با پایداری ساختار میسل کلسیم ارتباطی منفی داشته باشد (Barros et al., 1999). افزایش غلظت یون کلسیم آزاد شیر می تواند منجر به تغییرات منفی میسل کازئین و قدرت دافعه الکتروستاتیک بین آنها شود که خود سبب کاهش مقاومت کازئین به فرم لخته در طول تماس با اتانول یا گرما شود (Barros et al., 1999). آلفا و بتا کازئین زمانی که در معرض یون کلسیم آزاد در شیر قرار گیرند ناپایدار هستند. در صورتیکه کاپا کازئین که در سطح خارجی میسل واقع شده آبدوست است و در برابر واکنش با یون کلسیم پایدار می‌ماند (در غلظت‌های پایین کلسیم آزاد شیر) و بنابراین هسته هیدروفوبیک (آبگریز) میسل را (آلفا و بتا کازئین) از تماس با آب و یونیزاسیون کلسیم محافظت می‌کند (Creamer et al., 1998; Walstra, 1999). بنابراین آنچه ساختمان فضایی الفا، بتا و کاپا کازئین را در میسل در برابر حرارت، آزمون الکل و مدت زمان ذخیره سازی به هم میریزد غلظت یونهای دو ظرفیتی و قدرت دافعه الکتروستاتیک بین میسل‌ها می باشد (Fischer et al., 2012).

استفاده از نمک‌های آنیونیک می‌تواند با اثر بر اسیدوز متابولیکی در گاوهای شیرده سبب تغییر ترکیب و پایداری شیر بدون تغییر در پروتئین و محتوای انرژی جیره شود (Marques et al., 2011). مطابق گزارشات مارتینز و همکاران (2014) غلظت یون کلسیم آزاد شیر و کاپا کازئین در شیر با کاهش DCAD جیره افزایش می یابد. در حالیکه نیتروژن اوره‌ای شیر و بتا لاکتوگلوبولین کاهش می یابد. به دلیل چنین تغییراتی،پایداری شیر در برابر اتانول و حرارت دهی 140 درجه سانتی گرادی با کاهش DCAD جیره (ناشی از تغییرات تعادل یونی شیر و اثرات متقابل آن با پروتئین های شیر موجود در میسل) به طور خطی کاهش می یابد. بنابر مطالعه مارتینز و همکاران (2014) کنترل تغییرات متابولیک در گاوهای شیرده در جهت حفظ وضعیت اسید و باز خون نقشی مهم را در حفظ پایداری شیر در برابر اتانول و حرارت ایفا می کند.

Reference :


1. Barbosa, R. S., V. Fischer, M. E. R. Ribeiro, M. B. Zanela, M. T.Stumpf, G. J. Kolling, J. Schafhauser Junior, L. E. Barros, and A. S. Egito. 2012. Electrophoretic characterization of proteins and milk stability of cows submitted to feeding restriction. Pesqui. Agropecu. Bras. 47:621–628. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000400019.
2. Barros, L., N. Denis, A. Gonzalez, and A. Nunez. 1999. Prueba del alcohol en leche y relacion con 6alico ionico. Pract. Vet. 9:13–15.
3. Creamer, L. K., J. E. Plowman, M. J. Liddell, M. H. Smith, and J.P. Hill. 1998. Micelle stability:α-casein structure and function.J. Dairy Sci. 81:3004–3012. http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75864-3.
4. Fischer, V., M. E. R. Ribeiro, M. B. Zanela, L. T. Marques, A. S.Abreu, S. C. Machado, V. Fruscalso, R. S. Barbosa, and M. T.Stumpf. 2012. Unstable nonacid milk: A solvable problem? Rev.Bras. Saude . Prod. Anim. 13:838–849.
5. Garcia-Risco, M. R., M. Ramos, and R. Lopez-Fandino. 1999. Proteolysis,protein distribution and stability of UHT milk during storage at room temperature. J. Sci. Food Agric. 79:1171–1178.
6. Horne D.S. and Parker T.G. 1981. Factors affecting the ethanol stability of bovine casein micelles: 3. Substitution of ethanol by other organic solvents. Int. J. Biol. Macromol. 3:399-402.
7. Jeurnink, T. J. M., and C. G. De Kruif. 1995. Calcium concentration in milk in relation to heat stability and fouling. Neth. Milk Dairy J. 49:151–165.
8. Lewis, M. J. 2011. The measurement and significance of ionic calcium in milk – review. Int. J. Dairy Technol. 64:1–13. http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00639.x.
9. Marques, L. T., V. Fischer, M. B. Zanela, M. E. R. Ribeiro, W. StumpfJunior, and C. M. Rodrigues. 2011. Milk yield, milk composition and biochemical blood profile of lactating cows supplemented with anionic salt. R. Bras. Zootec. 40:1088–1094. http://dx.doi. Org/10.1590/.
10. Martins C. M. M. R., Arcari M. A., Welter K.C., Netto A.S., Oliveira C.A.F. and Santos M.V. 2014. Effect of dietary cation-anion difference on performance of lactating dairy cows and stability of milk proteins. Journal of dairy science J. Dairy Sci. 98 :1–12
11. Marvin L. 1976. Compendium of Methods for the microbiological examination of food. American Pablic Health Association, pp:107-130.
12. Singh, H. 2004. Heat stability of milk. Int. J. Dairy Technol. 57:111–119. http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-0307.2004.00143.x.
13. Walstra, P. 1999. Casein sub-micelles: do they exist? Int. Dairy J.9:189–192. http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00059-X.

Zanela, M. B., V. Fischer, M. E. R. Ribeiro, R. S. Barbosa, L. T.Marques, W. Stumpf Junior, and C. Zanela. 2006. Unstable nonacid milk and milk composition of Jersey cows on feed restriction. Pesquisa Agropecu. Bras. 41:835–840. http://dx.doi.org/10.1590/