



استفاده از میکروسکوپ اپی فلورسنس به عنوان روشی جدید در بررسی ریزساختار

ماست رژیمی حاوی هیدروکلوئید

سیما بادامچی زاده¹، علی بزمی²، محمدرضادادپور³
دانشگاه تبریز، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی

badamchizadeh_s@yahoo.com

چکیده

فراوری مواد غذایی شامل انواع واکنش‌های شیمیایی و فیزیکی می‌باشد که منجر به تشکیل ریزساختار میکروسکوپی ماده غذایی و بافت آن می‌شود که نقش تعیین‌کننده در بازارپسندی آن دارد. در این تحقیق نمونه‌های ماست بدون چربی با استفاده از هیدروکلوئیدهای مختلف تولید شده و ریزساختار آنها با استفاده از تکنیک میکروسکوپ فلورسنس مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور مطالعه پراکنش ترکیبات هدف در ریزساختار به ویژه ترکیبات پروتئینی و پلی‌ساکاریدی از رنگهای مختلف، روشهای مختلف رنگ آمیزی و نیز تکنیکهای خاص مشاهده میکروسکوپی استفاده گردید. این تحقیق نهایتاً موفق به دستیابی به روشی جدید و تلفیقی در مکان‌یابی ترکیبات ریزساختار گردید.

واژه‌های کلیدی: ماست رژیمی، هیدروکلوئید، میکروسکوپ فلورسنس، ریزساختار

1- کارشناس ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی

2- دکترای صنایع غذایی و عضو هیئت عملی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تبریز

3- دکترای باغبانی و عضو هیئت عملی گروه باغبانی دانشگاه تبریز



1- مقدمه

به تکنولوژی مواد غذایی، تلاشی کنترل شده برای نگهداری، تغییر و تبدیل، تولید و تخریب ساختار مواد غذایی طبیعی یا فرآوری شده می باشد. گام های اولیه در تولید غذاهای سالم، متنوع و با کیفیت مطلوب از طریق تمرکز مهندسين صنايع غذایی بر واکنشهای شیمیائی و مکانیکی در حین تبدیل و تولید مواد غذایی یا به عبارتی با توجه به سطوح ماکروسکوپی صورت گرفته است. پیشرفت های بعدی جهت افزایش کیفیت و تنوع مواد غذایی جدید برای برآوردن نیازهای مشتری در طی قرون اخیر از طریق تمرکز بر سطوح میکروسکوپی صورت گرفت. زیرا اکثریت اجزایی که نهایتاً در خواص فیزیکی، رفتار رئولوژیکی، بافتی و خواص حسی مواد غذایی شرکت می کنند کوچکتر از محدوده 100 میکرومتر هستند [1]. با وجود آنکه ریزساختار ژلهای اسیدی شیر توسط تکنیک های مختلف، بسیار مورد بررسی قرار گرفته و امروزه به خوبی شناخته شده است، مطالعات بسیار کمی در رابطه با ریزساختار ژلهای اسیدی شیر همراه با پلی ساکارید انجام و به چاپ رسیده است. توجه تحقیقات اخیر تنها به ژلهای اسیدی شیر - کاراگینان و شیر - نشاسته بوده است. بررسی های اولیه در ماست قالبی دارای انواع مختلف نشاسته توسط میکروسکوپیهای SEM (Scanning Electron Microscopy) و TEM (Transmission Electron Microscopy) صورت گرفت. تحقیقات صورت گرفته نشان می دهند که این میکروسکوپیها، عموماً روش های مناسبی برای یافتن و آشکارسازی حضور پلی ساکاریدها در ژلهای شیر نمی باشند. زیرا تثبیت کننده های رایج مورد استفاده در این تکنیک ها قادر به تثبیت پلی ساکاریدها نمی باشند. اما می توان از این دو میکروسکوپ در بررسی تغییرات شبکه های کازئینی ناشی از حضور پلی ساکاریدها به نحو مؤثری استفاده کرد [2]. میکروسکوپ های فلورسنس در سالهای اخیر بسیار مورد توجه و استفاده قرار گرفته اند. مشاهده نمونه بدون طی فرآیند آماده سازی که معمولاً عامل تخریب ساختار می باشد، توسط این نوع میکروسکوپ امکان پذیر است. در واقع این تکنیک همچون پلی میان میکروسکوپ های نوری سنتی و قدیمی و میکروسکوپ الکترونی می باشد [3].

مزایای استفاده از میکروسکوپ های فلورسنس عبارتند از :

امکان بررسی دقیق نمونه های کاملاً هیدراته بدون نیاز به تثبیت نمونه ها، امکان عکسبرداری لایه به لایه و تولید تصاویر 3 بعدی، امکان تصویر برداری همزمان از اجزای مختلف با کاربرد رنگهای مختلف و داشتن عمق نفوذ از چند میکرومتر تا چند میلیمتر. مزایای ذکر شده، این میکروسکوپ ها را تبدیل به یک تکنیک بسیار مفید برای مشاهده ریزساختار ژلهای اسیدی شیر کرده است [3,4]. علاوه بر این، انواع مجهزتر قادر به تصویر برداری تشکیل ژل های شیر به صورت پیوسته و با گذشت زمان، همزمان با تغییر pH و دما می باشند [3].



2- مواد و روشها

آماده سازی شیر بازساخته (شیر خشک بدون چربی (NZMP، نیوزلند) حاوی 36% پروتئین، 1-0/5% چربی، 51% لاکتوز، 8% خاکستر و 4% رطوبت) و تهیه نمونه های ماست حاوی هیدروکلوئید (پکتین کم استر GRINDSTED YO-TEX 720، کربوکسی متیل سلولز FVH8-A و آلژینات GRINDSTED FD 100، (دنيسكو، دانمارك)) به روش سانچز و همکاران صورت گرفت [2]. مشاهده ریز ساختار نمونه های تولیدی که توسط رنگهای فلورسنس رنگ آمیزی شده بودند با استفاده از میکروسکوپ اپی فلورسنس (Olympus BX51 آلمان) صورت گرفت. از رنگهای فلورسنس نیگروزین، تترازولیوم، فلورسئین، سودان بلک، فست بلو، تولوئیدین بلو، آزربلو، یدین گرین، اورنج جی، فست گرین، متیل رد، کریستال ویوله، باز شیف، لایت گرین، فلورسئین دی استات و رودامین برای یافتن رنگی که بتواند فقط پروتئین و پلی ساکارید را نشاندار کند استفاده شد. رنگ آمیزی نمونه ها هم به صورت تکی و هم به صورت تلفیقی از دو رنگ صورت گرفت تا علاوه بر تشخیص رنگ مناسب هر ترکیب، بهترین تمایز رنگی ترکیبات نشاندار شده در تصویر نیز بررسی شود. برای بدست آوردن بهترین تصاویر میکروسکوپی، بهینه سازی تک تک مراحل از جمله انتخاب رنگ فلورسنس مناسب جهت رنگ آمیزی شبکه پروتئینی و هیدروکلوئیدها، نوع حلال مورد استفاده برای انحلال رنگ فلورسنس، روش عکسبرداری و روش رنگ آمیزی نمونه ها از طریق آزمون و خطا صورت گرفت.

3- نتایج و بحث

1. آزمون روش رنگ آمیزی و آماده سازی نمونه ها برای مشاهده میکروسکوپی

مولکول های پروتئین دارای مقادیر کافی از گروه های بسیار فعال آمینو بر روی سطح خود می باشند که امکان برقراری واکنش با پروب های فعال را بسیار آسان می سازد. پروب های متعدّد و متنوعی با ویژگی های فلورسنسی متفاوت که دارای گروه های با قابلیت برهم کنش با پروتئینها هستند در سطح تجاری موجود بوده و در دسترس می باشند. کربوهیدرات ها قابلیت واکنش کمتری داشته و تعداد پروب های قابل استفاده برای رنگ آمیزی آنها بسیار محدود می باشد [5]. پروب های فلورسنت مختلفی به صورت تجاری موجود می باشد. دسته ای برای رنگ آمیزی فازهای پروتئینی به کار می روند؛ مانند رد امین، فلورسئین، اسید فوشین، فلورسئین ایزوتیوسیانات، سافرانین، فست گرین، آکریدین اورنج و دسته ای برای رنگ آمیزی فازهای چربی مانند نایل بلو، نایل رد و بودیپای. اما برای دسته سوم ترکیبهای غذایی یعنی قندها و پلی ساکاریدها، پروب های فلورسنت ویژه ای در سطح تجاری در دسترس نمی باشند. تحقیقات انجام شده نشان می دهد که برخی از انواع پروب های پروتئینی مانند رد امین و سافرانین در عدم حضور پروتئین ها قادر به رنگ آمیزی نشاسته هستند [5].



با توجه به مسأله نبود پروب معین برای پلی ساکاریدها، در بسیاری از بررسی های صورت گرفته در سالهای اخیر عموماً در فازهای پروتئین - پلی ساکارید تنها به رنگ آمیزی فاز پروتئینی بسنده گردیده است. سپس ریز ساختار مورد مطالعه قرار گرفته است. این امر در مورد نمونه های ژل های اسیدی شیر نیز مصداق داشته است. در این راستا عموماً رنگهای مورد استفاده برای رنگ آمیزی فاز پروتئین شامل رد امین، فست گرین و آکریدین اورنج بود. بنابراین یافتن پروب های مناسب برای رنگ آمیزی همزمان پروتئین ها و پلی ساکاریدها تنها با اتکا به روش آزمون و خطا ممکن است [7]. در رابطه با هیدروکلوئیدهای افزوده شده به ماست، در تحقیقی از فلورسئین ایزوتیوسیانات برای رنگ آمیزی پروتئین ها و آلکسافلور برای رنگ آمیزی پکتین استفاده شده است اما تصویر گویای برهم کنش نمی باشد. یعنی هر فاز به صورت یک توده رنگی نشان داده شده ولی اتصال بین فازها مشخص نیست. از طرفی به جهت محدودیت دسترسی به رنگهای مورد استفاده برای هیدروکلوئیدها، امکان کاربرد رنگهای مذکور برای سایر تحقیقات ممکن نمی باشد [6].

به منظور یافتن بهترین روش رنگ آمیزی جهت حصول تصاویری با کیفیت بالا، سه روش مورد آزمون قرار گرفت که عبارت بودند از :

الف) رنگ آمیزی پس از تخمیر و تشکیل ژل شیر: لایه ای از نمونه ماست که قبلاً آماده شده بود با کمک تیغه ای نازک و تیز برداشته شده و پس از قرار دادن روی لام، با قرار دادن قطره ای از رنگ روی نمونه رنگ آمیزی گردید.

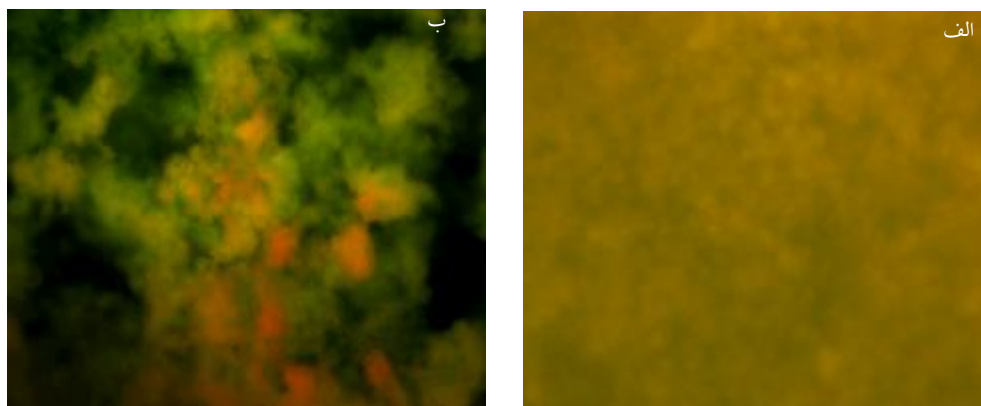
ب) رنگ آمیزی قبل از تخمیر و تشکیل ژل شیر: پس از مخلوط کردن شیر بازساخته و محلول هیدروکلوئید، مایه میکروبی به آن اضافه گردید. سپس چند قطره (100-150 میکرولیتر) از نمونه روی لام قرار داده شده و سپس رنگ آمیزی با قرار دادن قطره ای 5 میکرولیتری از محلول رنگی روی نمونه انجام گرفت. پس از قرار دادن لام روی نمونه، لام تهیه شده در انکوباتور 42°C قرار داده شد تا تخمیر صورت گیرد. پس از تشکیل شبکه ژلی، ریزساختار بلافاصله مشاهده شده و از عکسبرداری شد.

ج) اختلاط محلول رنگ با شیر بازساخته: پس از افزودن محلول هیدروکلوئید و مایه میکروبی به شیر بازساخته، محلول رنگی به میزان 50 میکرولیتر به 5 گرم نمونه افزوده شده و پس از این که به خوبی مخلوط شده و نمونه همگن گردید، 100-150 میکرولیتر از نمونه بر روی لام قرار داده شده و لام روی نمونه گذاشته شد. در نهایت نمونه در انکوباتور قرار گرفته و پس از طی زمان انکوباسیون بلافاصله پس از تشکیل شبکه ژلی ریزساختار مشاهده و تصویربرداری شد.

نتایج بدست آمده از تصویربرداری نمونه تهیه شده به روش الف نشان می دهد که در این روش بدون استفاده از لام، به علت بالا بودن ضخامت نمونه، تصویری واضح و مطلوب بدست نیامده و جزئیات شبکه ژلی در ابعاد



میکروسکوپی قابل تشخیص نمی باشد. دلیل این پدیده، انتشار غیر یکسان رنگ در نواحی مختلف می باشد که در نتیجه آن تشخیص اجزای نمونه شامل پروتئین و پلی ساکارید مقدور نبود (شکل 1، الف). از طرفی به جهت اهمیت حفظ ریزساختار و شکننده و حساس بودن آن، قرار دادن لامل بر روی نمونه مقدور نبود. به طوریکه با قرار دادن لامل بر روی نمونه، شبکه تخریب شده و موجب انتشار و پخش نامتجانس و ناهماهنگ رنگها در نمونه می گردد (شکل 1، ب).



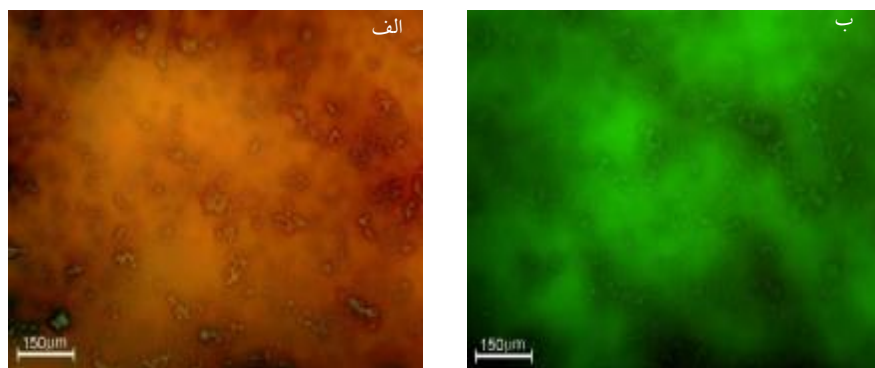
شکل 1، رنگ آمیزی نمونه ماست حاوی 0/05% آلژینات توسط ردآمین 0/1% و فلورسئین 0/5%،
الف) پس از برش نمونه توسط تیغه و قرار دادن بر روی لام و بدون استفاده از لامل،
ب) پس از قرار دادن لامل بر روی نمونه ماست

در رنگ آمیزی به روش ب، آغاز تشکیل شبکه به وضوح مشخص گردید. با وجود این، به دلیل انتشار ناهماهنگ رنگ در بخشهای مختلف نمونه، تصویر از کیفیت لازم برخوردار نبود. در نمونه ای که توسط ردآمین رنگ آمیزی گردیده است، بخشهایی از نمونه که شدت رنگ قرمز در آنها بیشتر است نشان دهنده عدم پخش یکنواخت رنگ می باشد. برای اطمینان از نتیجه حاصله، نمونه دیگری نیز به همین شیوه و از طریق رنگ آمیزی با فست گرین تهیه گردید. ناهماهنگی در شدت رنگ مشاهده شده در قسمتهای مختلف، نشان دهنده صحت نتیجه ولی نامناسب بودن روش عکسبرداری و بدست آوردن تصاویری با کیفیت نامطلوب بود. نهایتاً با استفاده از روش سوم (ج) تصاویر مطلوبی بدست آمد.



2. آزمون انتخاب رنگ

با توجه به این که هدف از کار میکروسکوپی در این پروژه، مشاهده دو فاز پروتئینی و پلی ساکاریدی در ریزساختار نمونه به طور همزمان و کاملاً تمایز یافته بود، مرحله تعیین رنگ مناسب هر ترکیب، مهمترین مرحله محسوب می شد. انتخاب رنگ بایستی به گونه ای صورت می گرفت که تمایز مناسبی میان پروتئین و پلی ساکارید در تصویر مشاهده شود. طبق بررسی های صورت گرفته، رنگهای ردآمین و فست گرین ویژه پروتئین بودند. بنابراین با در نظر گرفتن این دو رنگ برای رنگ آمیزی شبکه پروتئینی، سایر رنگهای فلورسنس موجود جهت یافتن رنگی اختصاصی برای هیدروکلوئیدها مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ترکیب رنگها هم بر روی نمونه شاهد و هم بر روی نمونه حاوی هیدروکلوئید مورد آزمایش قرار گرفت.



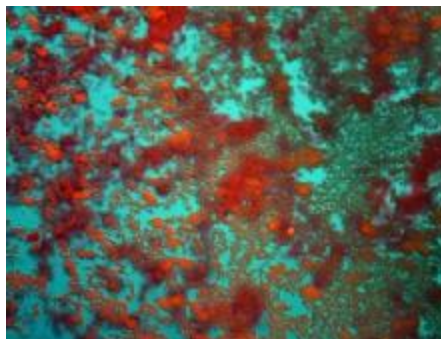
شکل 2، رنگ آمیزی نمونه ماست توسط ردآمین 1/0% و فلورسئین 5/0%،
الف) نمونه شاهد ب) نمونه ماست حاوی 5/0% آلژینات

مطالعات صورت گرفته نشان می دهند چنانچه هر دو رنگ مورد استفاده مخصوص یک ترکیب باشند و یا یکی از رنگها به هیچ یک از ترکیبات متصل نشده و به صورت باند نشده باقی بماند، تصویر مشاهده شده هیچ گونه تمایزی میان اجزای ساختاری نشان نداده و خصوصیت بارز این تصاویر حضور یک رنگ ثابت با شدت زیاد در تمام نواحی تصویر می باشد که نشان دهنده دست نخورده ماندن رنگ در نمونه می باشد. این رنگ به علت عدم برقراری پیوند، بر روی سطح نمونه باقی مانده و منتشر نمی شود. به همین جهت، زمینه رنگی تصویر نسبتاً ثابت می ماند. در شکل 2 این پدیده به وضوح قابل مشاهده است. در تصویر 2-ب، سبز بودن تصویر حاکی از عدم پخش رنگ فلورسئین در نمونه شاهد فاقد هیدروکلوئید می باشد و نشان می دهد که فلورسئین بر خلاف انتظار قادر به رنگ آمیزی پروتئین ها در حضور ردآمین نمی باشد و ممکن است قادر به رنگ آمیزی هیدروکلوئیدها باشد؛ در حالی که آزمایش این رنگ به همراه ردآمین در نمونه حاوی هیدروکلوئید (شکل ب) خلاف این امر را اثبات کرد و عدم انتشار فلورسئین و ادغام آن با ردآمین و ایجاد تصویری ناواضح، حاکی از

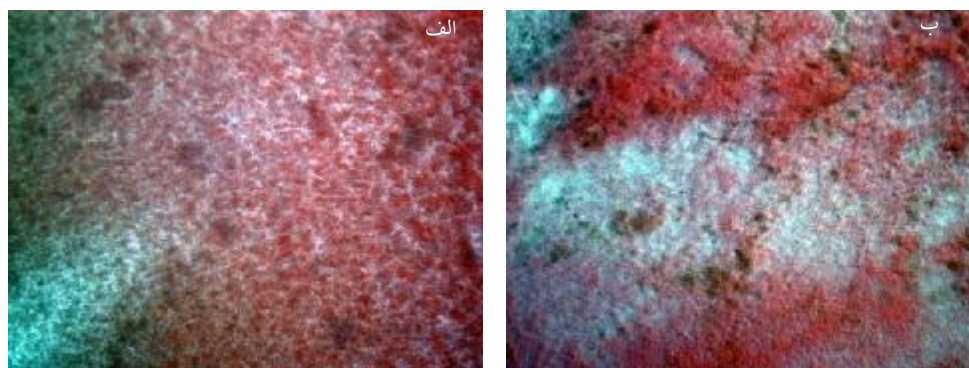


غیر اختصاصی بودن رنگ فلورسین برای هیدروکلوئیدها و عدم امکان رنگ آمیزی پروتئین در رقابت با رد امین بود. سایر رنگها نیز به همین ترتیب مورد بررسی قرار گرفتند.

در تصاویر حاصل از آزمون ترکیب رد امین با رنگهای اورنج جی، آزربلو، متیل رد و کریستال ویوله علی رغم این که برخی از قسمت های روشن مشته بر هیدروکلوئید می باشد اما به جهت عدم تمایز کامل و عدم وضوح اجزای مختلف و مشخص نبودن کامل ریزساختار، قابل استناد نبودند. هم چنین برخی از رنگها از جمله نیگروزین دقیقاً بر روی رد امین منطبق گردید که نشان دهنده اختصاصی بودن این رنگ برای پروتئین ها در ماست بود. حلال برخی از رنگهای مورد استفاده، آب و برخی دیگر 2- متواکسی اتانول بود. از آنجا که ماست دارای یک فاز آبی می باشد و ممکن بود 2- متواکسی اتانول باعث متلاشی شدن ساختار شبکه ژلی گردد، رنگهای محلول در حلال آلی حذف شده و تمرکز بر روی رنگهای محلول در آب برای ادامه آزمایشات صورت گرفت. در این مرحله چهار رنگ اسید فوشین، لایت گرین و فلورسین دی استات به عنوان رنگهای اختصاصی پروتئین و باز شیف به عنوان رنگ اختصاصی هیدروکلوئید انتخاب شد.



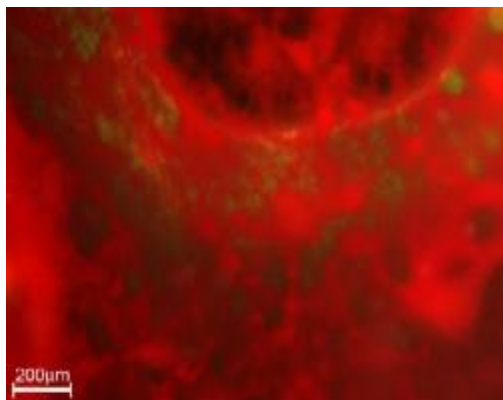
شکل 3، نمونه ماست حاوی 0/05% آلژینات، رنگ آمیزی توسط رنگهای اسید فوشین و بازشیف به روش الف



شکل 4، نمونه ماست رنگ آمیزی شده توسط رنگهای اسید فوشین و بازشیف به روش ج،
الف) 0/05% آلژینات، ب) 0/08% آلژینات

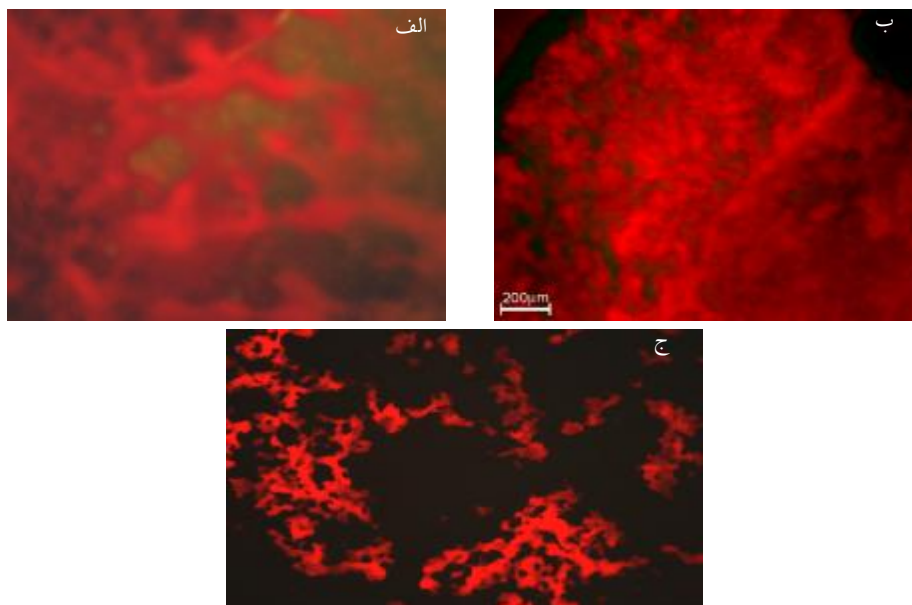


اسید فوشین و بازشیف ترکیب رنگی مناسبی نبوده و علاوه بر عدم تمایز در ریزساختار، به نظر می رسد که نمونه در هر دو روش دچار تخریب نیز گردیده است. تهیه نمونه ماست حاوی هیدروکلوئید آلژینات و رنگ آمیزی آن توسط رنگهای لایت گرین و باز شیف، منجر به ایجاد تصویری گردید که دو فاز پروتئین و پلی ساکارید به خوبی قابل تمایز بودند (شکل 5). این تصویر بلافاصله پس از قراردادن نمونه در جایگاه نمونه میکروسکوپ عکسبرداری گردید. بنابراین این ترکیب رنگی برای بدست آوردن عکس هایی با کیفیت مطلوب، مناسب تشخیص داده شد. رخداد پدیده زایل شدن رنگ¹ در رنگ اختصاصی هیدروکلوئید یعنی باز شیف مشکلی بود که در این مرحله با آن مواجه بودیم. بدین معنا که عکسبرداری تنها در بازه زمانی کمتر از 5 ثانیه مقدور بوده و پس از طی این زمان به دلیل زایل شدن رنگ در معرض نور فلورسنس، تصویر کیفیت خود را تا حد زیادی از دست داده و موردی از تمایز مشاهده نگردید. شکل 8، روند این زایل شدن و افت کیفیت و غیرقابل استفاده بودن تصاویر را به وضوح نشان می دهد.



شکل 5، نمونه ماست حاوی 0/05% آلژینات، رنگ آمیزی توسط لایت گرین و باز شیف، عکسبرداری در کمتر از 5 ثانیه، پروتئینها به رنگ قرمز و پلی ساکاریدها به رنگ سبز مشخص شده اند.

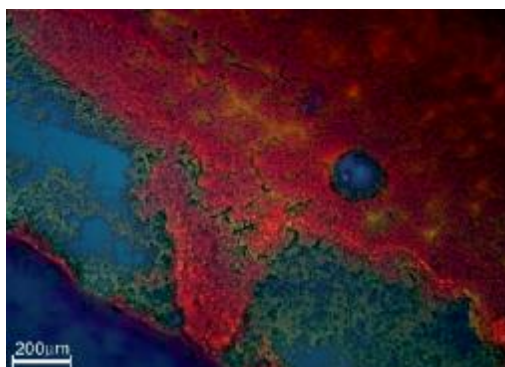
¹ Fading



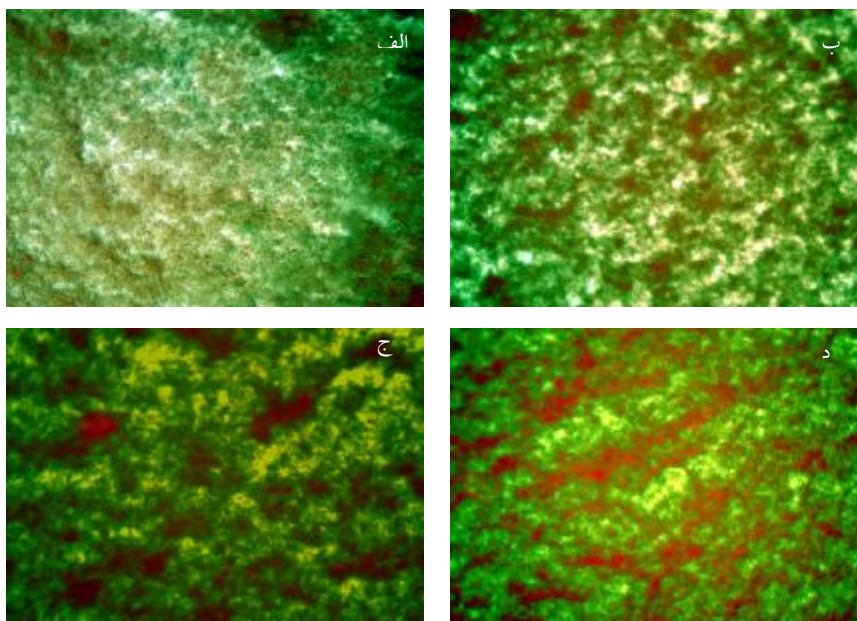
شکل 6، روند زائل شدن رنگ بازشیف در نمونه ماست حاوی 0/05% آلژینات که توسط لایت گرین و بازشیف رنگ آمیزی شده بعد از الف (10، ب) 30 ثانیه و ج) 1 دقیقه پس از قرار گرفتن در معرض نور فلورسنس

راهکارهای زیر برای رفع مشکل زایل شدن رنگ مورد آزمایش قرار گرفت:

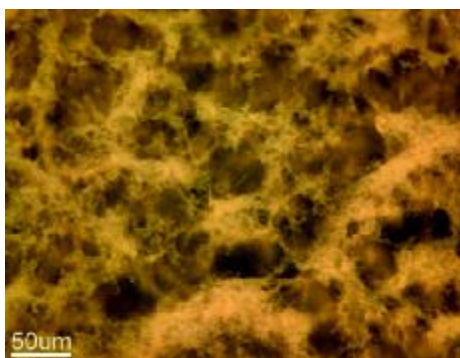
- 1- استفاده از ترکیبات ممانعت کننده از زایل شدن رنگ (Anti Fading)
 - 2- تکنیک تلفیق تصاویر حاصل از نور مرئی و نور فلورسنس که نوآوری صورت گرفته در این تحقیق می باشد.
- مطالعات صورت گرفته در این تحقیق نشان می دهد که با استفاده از راهکار دوم می توان به تصویری مطلوب و با قابلیت تمایز مناسب دسترسی پیدا نمود (شکل 7 و 8).



شکل 7، نمونه ماست حاوی 0/05% کربوکسی متیل سلولز که توسط لایت گرین و باز شیف رنگ آمیزی شده که در آن عکسبرداری با استفاده از تکنیک تلفیق تصاویر حاصل از نور مرئی و نور فلورسنس صورت گرفته است.



شکل 8، نمونه ماست رنگ آمیزی شده توسط لایت گرین و باز شیف و عکسبرداری با تکنیک تلفیق تصاویر حاصل از نور مرئی و نور فلورسنس، نمونه های ماست حاوی الف) 0/01%، ب) 0/03%، ج) 0/05% و د) 0/08% پکتین می باشند.



شکل 9، نمونه ماست حاوی 0/01% آلژینات رنگ آمیزی شده توسط فلورسئین دی استات و باز شیف و عکسبرداری با تکنیک تلفیق تصاویر حاصل از نور مرئی و نور فلورسئنس،

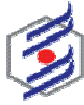
در تصاویر شکل 8 با وجود تمایز عالی بین پروتئین و پلی ساکارید، ساختار شبکه‌ی ژلی ماست به خوبی نشان داده نمی‌شود. از طرفی عیب عمده این روش تکرار پذیر نبودن آن بود که برای سایر هیدروکلئیدها و نیز هیدروکلئید استفاده شده، عکسبرداری مجدد مقدور نشد. با جایگزینی لایت گرین توسط فلورسئین دی استات تصاویر حاصل، علاوه بر داشتن تمایز مناسب، شبکه‌ی ژلی را به خوبی نشان می‌دهند (شکل 9).

4- نتیجه گیری

با بررسی طیف متنوعی از رنگهای فلورسئنس، در نهایت ترکیب رنگی مناسب برای آشکارسازی همزمان پروتئین‌ها و به ویژه هیدروکلئیدها بدست آمد. بدین ترتیب با ارائه روشی جدید در بررسی بهتر ریزساختار که عبارت است از استفاده از فلورسئین دی استات و باز شیف برای رنگ آمیزی نمونه و مشاهده میکروسکوپی به روش تلفیق نور مرئی و فلورسئنس، امکان ارزیابی تأثیر استفاده از هیدروکلئیدها در شبکه‌ی ژلی با استفاده از ریزساختار مقدور گردید.

مراجع

- [1] Aguilera, J.M. 2005. Why food microstructure? Journal of Food Engineering, 67: 3-11.
- [2] Sanchez, C., Zuniga-Lopez, R., Schmitt, C., Despond, S., Hardy J. 2000. Microstructure of acid-Induced skim milk – locust bean gum – xanthan gels. International Dairy Journal, 10: 199-212.



- [3] Hassan, A.L., Frank, J.F., Farmer, A.M., Schmidt, K.A., Shalabi, S.I. 1995. Formation of Yogurt Microstructure and Three-Dimensional Visualization as Determined by Confocal Scanning Laser Microscopy. *Journal of Dairy Science*, 78: 2629-2636.
- [4] Nicolas, Y., Paques, M., van den Ende, D., Dhont, J., van Polanen, R., Knaebel, A., Steyer, A., Munch, J., Blijdenstein, T., Aken, G. 2003. Microrheology: new methods to approach the functional properties of food. *Food Hydrocolloids*, 17: 907-913.
- [5] van de Velde, F., Weinbreck, F., Edelman, M., van der Linden, E., Tromp, R.H. 2003. Visualisation of biopolymer mixtures using confocal scanning laser microscopy and covalent labelling techniques. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31: 159-168.
- [6] Arltoft, D., Madsen, F., Ipsen, R. 2007. Screening of probes for specific localisation of polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 21: 1062-1071.
- [7] Hassan, A.N., Frank, J.F., Qvist, K.B. 2002. Direct observation of bacterial exopolysaccharides in dairy products using confocal scanning laser microscopy. *Journal of Dairy Science*, 85: 1705-1708.



Visualization of microstructure in fat free yoghurt containing hydrocolloids using epifluorescence microscopy as a new method

Sima Badamchizadeh, Ali Bazmi, M.R. Dadpour

*Tabriz university, Faculty of Agriculture, Food Sciences Group
badamchizadeh_s@yahoo.com*

Abstract

Food processing includes some physical or chemical reactions creating the microstructure and texture of food products. The texture has an important fundamental role in consumer acceptance. In this study fat free yoghurt samples were produced using several kinds of hydrocolloids and the corresponding microstructure of the samples were investigated by epifluorescence microscope. Different probes, labeling methods and special microscopy techniques were employed to identify the protein – polysaccharide in the microstructure of yoghurt gels. We finally developed a new observation method in order to localize microstructure compounds.

Keywords: Fat free yoghurt, Hydrocolloid, Microstructure, Epifluorescence microscopy