بررسی فراوانی باکتری های سرمادوست در شیر مخزن تحویلی به کارخانه های شیر پاستوریزه مشهد و تأثیر این باکتری ها بر ویژگی های شیر پاستوریزه تولید شده

امیرهوشنگ فلاح راد- محمد محسن زاده - مهران قائمی بافقی[1]

تاریخ دریافت: ۸۵/۴/۲۸

چکیده

باکتریهای سرمادوست با تولید آنزیم های خارج سلولی مختلف باعث تجزیه ترکیبات مواد غذائی خام و فرآوری و کاهش کیفیت این مواد می شوند. هدف از انجام این پژوهش، بررسی میزان بار کلی میکروبی (TBC) و کل باکتریهای سرما دوست (PBC) در شیر خام تولیدی در مشهد و همچنین اثر این باکتری ها در روند تغییرات بعضی از ترکیبات غذائی شیر پاستوریزه بوده است. در مرحله اول ۱۰۰ نمونه شیر خام از یکصد تانک ذخیره گاوداری های تحویلی به سه کارخانه بزرگ فرآورده لبنی مشهد گرفته شد و در مجاورت یخ به آزمایشگاه حمل گردید. میزان TBC، PBC، درصد چربی و پروتئین نمونه های شیر خام اخذ شده تعیین گردید. در قسمت دوم پژوهش تعداد ۱۰۰ نمونه شامل ۲۰ نمونه شیر خام و ۸۰ نمونه شیر پاستوریزه تولید شده از همان شیر خام گرفته شده و در مجاورت یخ به آزمایشگاه حمل گردید و روند تغییرات میکروبی و شیمیائی شیر پاستوریزه از روز تولید تا انقضاء به طور روزانه تعیین شد. نتایج مرحله اول نشان داد که میانگین تعداد سرمادوستها $۳/۹ \times ۱۰^{۵}$ CFU/ml و میانگین تعداد کل باکتری $۱/۶ \times ۱۰^{۶}$ CFU/ml بود. میانگین درصد چربی و پروتئین به ترتیب ۳/۳۴ و ۳/۱۷ تعیین گردید. در بررسی آماری بین PBC و TBC در نمونه ها ارتباط معنی داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$ و $r = ۰/۴۷۸$). در مرحله دوم میانگین PBC و TBC شیر خام به ترتیب $۳/۸ \times ۱۰^{۷}$ CFU/ml و $۱/۷ \times ۱۰^{۷}$ CFU/ml تعیین گردید. میانگین TBC شیر پاستوریزه بلافاصله بعد از تولید $۱/۷۵ \times ۱۰^{۳}$ CFU/ml و در روز های روز اول تا روز سوم پس از تولید $۷/۶۵ \times ۱۰^{۳}$، $۲/۶۵ \times ۱۰^{۵}$ و $۱/۹۳ \times ۱۰^{۷}$ CFU/ml بدست آمد. در حالیکه میانگین PBC از روز تولید تا سه روز بعد از آن به ترتیب $۳/۷ \times ۱۰^{۲}$، $۱/۲۳ \times ۱۰^{۳}$، $۱/۶ \times ۱۰^{۵}$ و $۱/۵ \times ۱۰^{۷}$ CFU/ml بود. درصد چربی از روز تولید تا روز سوم بطور معنی داری کاهش پیدا کرده بود ($P > ۰/۰۵$). بر اساس استانداردهای موجود میزان مجاز بار کلی میکروبی در شیر پاستوریزه $۷/۵ \times ۱۰^{۴}$ باکتری در هر میلی لیتر می باشد این درحالی است که میانگین تعداد کلی باکتری های نمونه های شیر پاستوریزه در روز پایان تاریخ انقضاء $۲/۶۵ \times ۱۰^{۵}$ باکتری در هر میلی لیتر بود که ۳/۵ برابر حد مجاز می باشد. نتایج بدست آمده در مرحله اول آلودگی باکتریائی بسیار زیادی در شیر خام تحویلی به کارخانه های فرآورده های لبنی مشهد را نشان می دهد که ناشی از عدم رعایت بهداشت پستان، تجهیزات شیردوشی، تانکرها و ظروف انتقال شیر خام به کارخانه های فرآوری است و نتایج حاصله از مرحله دوم عدم رعایت نکات بهداشتی درباره جلوگیری از آلودگی بعد از پاستوریزاسیون را مشخص می سازد.

واژه های کلیدی: شیر پاستوریزه، شیر خام، PBC، TBC

مقدمه

باکتریهای سرمادوست به دلیل اینکه قدرت رشد و فعالیت در دمای پائین را دارند از اهمیت خاصی در فساد موادغذائی نگهداری شده در یخچال برخوردارند. این باکتری ها با تولید آنزیم های خارج سلولی مختلف باعث تغییر ترکیبات موادغذائی می شوند که در نهایت منجر به فساد ماده غذائی می شوند (۵). فعالیت این باکتری ها در شیر خام نیز اهمیت بسزائی دارد زیرا از زمان تولید تا فرآوری حرارتی شیر خام این دسته باکتری ها در سرما به رشد خود ادامه می دهند و با فعالیت آنزیمی خود کیفیت شیرخام و حتی محصولات تولیدی آن را کاهش داده و گاهی نیز غیرقابل مصرف می کنند (۳، ۶ و ۲۱).

اغلب باکتری های سرمادوست در دسته باکتری های میله ای گرم منفی[2] (GNR) بوده و شامل جنسهای سودوموناس، آلکالیژنز، آکروموباکتر، آئروموناس، سراتیا، کروموباکتریوم و

۱- به ترتیب استادیاران و دانشجوی سابق دکترای حرفه ای، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

2) Gram Negative Rods

فلاووباکتریوم می باشند (۷). اگرچه فراوانی گونه های سودوموناس در جمعیت کلی باکتریائی شیر خام از ۱۰ درصد بیشتر نیست ولی این جنس شاخص ترین باکتری فاسد کننده شیر خام (۲۰) و پاستوریزه در سرما محسوب می شود. مهم ترین گونه هائی که باعث فساد در مواد غذائی می شوند عبارتند از: سودوموناس فلورسنس[1]، فراجی[2]، پوتیدا[3] و آئروجینوزا[4] (۱ و ۲).

در مطالعه ای در سوئد برای مشخص کردن عوامل فساد شیر خام و پاستوریزه، باکتریهای جداشده را به روش آنالیز فنوتیپی عددی[5] بررسی نمودند. باکتریهای اصلی ایجاد فساد در شیر خام سودوموناس فلورسانس بیووار۱ و۳، سودوموناس فراجی و سودوموناس لوندنسیس[6] همچنین گونه هائی از انتروباکتریاسه[7] و اسینتوباکتر[8] بودند (۱۷). در۶۵ درصد نمونه های شیر پاستوریزه نگهداری شده در ۵ درجه سلسیوس و در ۵۰ درصد موارد نگهداری شده در ۷ درجه سلسیوس، شیر بوسیله همان باکتریهای گرم منفی فاسد شد. باسیلوس پلی میکسا و باسیلوس سرئوس مسئول فساد ۷۷ درصد نمونه های فاسد شده در نتیجه باکتری های گرم مثبت بود. سایر سویه های باسیلوس و باکتریهای اسید لاکتیک در ایجاد فساد کمتر متداول بودند (۱۴ و ۱۶).

کیفیت شیرخام بر کیفیت شیر محصول پاستوریزه تاثیر بسزائی دارد و شیر خام با کیفیت بالا برای تهیه شیر پاستوریزه با ماندگاری طولانی ضروری است. تنها افزایش تعداد کل باکتریها در شیر خام تعیین کننده نیست بلکه نوع باکتریها نیز در این میان اهمیت بسزائی دارد. شیر خام آلوده به باکتریهای سرمادوست و مخصوصاً گونه های مقاوم به حرارت در مقایسه با شیر خام با همان تعداد کل باکتری ولی دارای انواع متفاوت سبب می شود شیر پاستوریزه تولید شده از گروه اول از ماندگاری کمتری برخوردار باشد (۱).

آلودگی باکتریائی بعد از پاستوریزاسیون نیز یک عامل مهم برای کاهش ماندگاری شیر پاستوریزه است. فساد شیر پاستوریزه ناشی از رشد میله ای های گرم منفی مثل سودوموناس، آلکالیژنز، اسینتوباکتر و غیره است. زمان ماندگاری محصول به تعداد باکتری آلوده کننده بستگی دارد اما شیری که با شرایط مناسب تولید و بسته بندی شده است باید تا بیش از ۱۰ روز در یخچال قابل مصرف بماند (۱۴ و ۱۵). با توجه به اهمیت بهداشتی کیفیت شیر خام در تولید سایر محصولات لبنی، هدف از این تحقیق اندازه گیری میزان بار کلی میکروبی (TBC[9]) و میزان باکتری های سرما دوست (PBC[10]) شیر خام تحویلی به کارخانه های عمده فرآورده های لبنی مشهد و تاثیر این آلودگی بر روند تغییرات میکروبی و شیمیائی شیر پاستوریزه تولیدی از همان شیر خام می باشد.

مواد و روشها

جمع آوری نمونه ها در دو نوبت انجام شد. در مرحله اول آزمایش که به منظور بررسی میزان آلودگی کل باکتریائی و شمارش کل باکتری های سرما دوست انجام شد مجموعا ۱۰۰ نمونه شیر خام طی خرداد لغایت مرداد ماه سال ۱۳۸۴ از یکصد تانک ذخیره گاوداری تحویلی به سه کارخانه عمده فرآورده لبنی مشهد اخذ گردید. در هر بار نمونه گیری مقدار ۱۰ میلی لیتر از شیر در یک لوله آزمایش استریل جمع آوری و پس از ثبت مشخصات، در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل می گردید. در مرحله دوم پژوهش که به منظور بررسی اثر آلودگی باکتریائی شیر خام بر ماندگاری شیر پاستوریزه تولیدی و همچنین بهداشت وسایل و تجهیزاتی که پس از پاستوریزاسیون با شیر در تماس هستند طی شهریور و مهر ماه سال ۱۳۸۴ انجام گرفت. در این مرحله تعداد ۲۰ نمونه از شیر خام ارسالی به سمت پاستوریزاتور و ۸۰ نمونه (پاکت) شیر پاستوریزه تولید شده از همان شیر خام اخذ شده و در مجاورت یخ به آزمایشگاه حمل گردید.

روند تغییرات میکروبی و شیمیائی شیر پاستوریزه از روز تولید تا روز انقضاء به طور روزانه تعیین گردید. در نمونه های شیر خام و پاستوریزه اخذ شده میزان TBC، PBC، درصد چربی و پروتئین به طور روزانه تعیین شد. به منظور تعیین میزان TBC و PBC، ابتدا نمونه های شیر خام و پاستوریزه کاملا یکنواخت گردیده، پس از تهیه رقت های متوالی از 10^{-1} الی 10^{-6} برروی

1) Pseudfluorescens
2) Pseudfragi
3) Pseudputida
4) Pseudaeroginosa
5) Numerical phenotypic analysis
6) Pseudlundensis
7)Enterobacteriacea
8) Acinetobacteriacea
9) Total Bacterial Count
10) Psychrorophic Bacterial Count

محیط کشت شمارش صفحه ای استاندارد[1] (SPC) به روش پورپلیت[2] کشت داده شد.

جهت تعیین TBC، پلیت ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت و برای تعیین میزان باکتری های سرما دوست، در دمای ۶/۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز قرار گرفت. پس از گرمخانه گذاری تعداد پرگنه های رشد کرده برروی محیط های کشت شمارش شده و بر اساس CFU/ml شیر گزارش گردید.

برای اندازه گیری درصد چربی و پروتئین نمونه های شیر گرفته شده، پس از همگن سازی از دستگاه لاکتواستار (Lactostar, Funke Gerber) استفاده گردید.

آنالیز آماری داده ها

برای آنالیز آماری داده ها از نرم افزار SPSS استفاده شد و پس از تعیین نرمالیته توزیع داده های هر دسته رابطه آماری دسته های مختلف به شکل دو به دو تعیین گردید و اگر هر دو دسته یا یکی از طرفین توزیع نرمال نداشتند از آزمونSpearman و اگر هر دو توزیع نرمال داشتند از آزمون Pearson استفاده گردید. در تعیین ارتباط آماری بین اختلاف داده ها در روزهای مختلف نمونه های پاستوریزه اگر داده ها توزیع نرمال داشتند، از روش Repeated measure و اگر توزیع نرمال نداشتند از آزمون Friedman استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج مرحله اول پژوهش که شامل شمارش تعداد کل آلودگی باکتریائی، شمارش باکتری های سرمادوست، درصد چربی و پروتئین در ۱۰۰ نمونه شیر خام تانک ذخیره گاوداری های تحویلی به کارخانه های فرآورده های لبنی می باشد درجدول(۱) آمده است.

ارتباط آماری بین تعداد باکتری های سرما دوست و تعداد کلی باکتری ها بوسیله آزمون آماری Spearman بررسی شد و بین این دو ارتباط معنی داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$ و $r = ۰/۴۷۸$). بین باکتری های سرمادوست و چربی شیر و باکتریهای سرمادوست و پروتئین شیر ارتباط معنی داری وجود نداشت ($P < ۰/۰۵$). همچنین بین تعداد کل باکتری ها و درصد چربی و درصد پروتئین ارتباط معنی داری یافت نشد ($P < ۰/۰۵$).

نتایج بدست آمده از مرحله دوم پژوهش که شامل تعداد باکتری های سرمادوست، تعداد کل باکتری ها، درصد چربی و پروتئین نمونه های ترکیبات غذائی شیر خام ارسالی و نمونه های شیر پاستوریزه تولید شده از همان شیر خام از روز تولید تا تاریخ انقضاء می باشد در جدول شماره ۲ آورده شده است.

جدول(۱) درصد پروتئین، چربی، PBC و TBC در شیر تانک ذخیره گاوداری ها

نوع نمونه	تعداد نمونه	TBC (CFU/ml) Mean±SEM	PBC (CFU/ml) Mean±SEM	Fat (%) Mean±SEM	Protein (%) Mean±SEM
شیر خام	۱۰۰	۱/۶× ۱۰^{۶}± ۵/۹×۱۰^{۵}	۳/۹× ۱۰^{۵}± ۹/۸×۱۰^{۴}	۳/۳۴±۰/۰۳	۳/۱۷±۰/۰۱۶

جدول(۲) تعداد کل باکتری ها، باکتری های سرمادوست، درصد چربی و پروتئین در شیر خام قبل از پاستوریزاسیون و شیر پاستوریزه حاصله از آن در روز تولید تا تاریخ انقضاء (حداکثر سه روز براساس مندرجات کارخانه تولید کننده).

فاکتور / منبع	TBC (CFU/ml) Mean±SEM	PBC (CFU/ml) Mean±SEM	چربی (%) Mean±SEM	پروتئین (%) Mean±SEM
شیر خام ارسالی به پاستوریزاتور	۳/۸ ×۱۰^{۸} ± ۶/۷×۱۰^{۶}	۱/۷ × ۱۰^{۷} ± ۳/۵×۱۰^{۵}	۱/۳ ± ۰/۰۵	۳/۲± ۰/۰۳
شیر پاستوریزه روز تولید	۱/۷۵×۱۰^{۳} ± ۳/۹×۱۰^{۲}	۴/۷×۱۰^{۲} ± ۶/۹×۱۰	۲/۳۴± ۰/۰۳۹	۳/۲±۰/۰۲۶
شیر پاستوریزه روز اول پس از تولید	۷/۶۵× ۱۰^{۳} ± ۱/۹×۱۰^{۲}	۱/۲۳× ۱۰^{۳} ± ۳/۲×۱۰^{۲}	۲/۳۴±۰/۰۳۹	۳/۲± ۰/۰۲۷
شیر پاستوریزه روز دوم پس از تولید	۲/۶۵× ۱۰^{۵} ± ۹/۷×۱۰^{۴}	۱/۶× ۱۰^{۵} ± ۶/۱×۱۰^{۴}	۲/۲۹± ۰/۰۴	۳/۲±۰/۰۳۱
شیر پاستوریزه روز سوم پس از تولید	۱/۹۳× ۱۰^{۷} ± ۵/۸×۱۰^{۶}	۱/۵× ۱۰^{۷} ± ۳×۱۰^{۴}	۲/۲۸± ۰/۰۳۶	۳/۲± ۰/۰۲۹

1) Standard Plate Count
2) Pour plate

بین تعداد کل باکتری های شیر خام و تعداد کل باکتری های شیر پاستوریزه در روز تولید اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$). میزان چربی شیر خام ارسالی به پاستوریزاتور کمتر از شیر پاستوریزه بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین، درصد چربی شیر از روز تولید تا سه روز بعد دارای کاهش معنی داری بود (از ۲/۳۴ تا ۲/۲۸) ($P < ۰/۰۵$) ولی بین تعداد باکتری های سرمادوست در شیر خام و کاهش درصد چربی شیر پاستوریزه ارتباط معنی داری وجود نداشت ($P < ۰/۰۵$). بین تعداد کل باکتری های شیر پاستوریزه در روز تولید با شیر پاستوریزه روز اول بعد از تولید ارتباط معنی داری وجود داشت ($P < ۰/۰۵$). همچنین افزایش تعداد باکتری های سرمادوست در شیر پاستوریزه هر روز آزمون نسبت به روز قبل معنی دار بود ($P < ۰/۰۵$). در بررسی انجام شده بین تغییرات تعداد کل باکتری های شیر پاستوریزه با درصد چربی و تعداد باکتریهای سرمادوست با درصد چربی همان روز ارتباط معنی داری یافت نشد ($P < ۰/۰۵$).

بحث

نتایج حاصل از مرحله اول این پژوهش آلودگی کلی باکتریائی بسیار بالائی ($۱/۶ \times ۱۰^۶$) را مشخص کرد (جدول ۱) که درمقایسه با جمهوری چک $۲/۱ \times ۱۰^۴$ (۹) و انگلستان (۱۸) ۲×۱۰^۴ نشان دهنده ورود تعداد زیادتر باکتری از منابع آلوده کننده شیر خام به آن است (۹). نتایج بدست آمده با مطالعه سمپیر کووا و همکاران که بین میزان TBC و PBC تعداد ۱۴۴ نمونه شیر خام اخذ شده از سه گله همبستگی معنی داری پیدا کردند ($r = ۰/۶۹$، $P < ۰/۰۱$) مطابقت دارد (۸).

در مطالعه انجام شده توسط Panes و همکاران (۱۹۷۹) بر روی شیر خام ۳۳۳ گاو داری در انگلستان مشاهده گردید که ۸۶/۴ درصد نمونه ها دارای شمارش کلی باکتریائی کمتر از ۱×۱۰^۵ باکتری در هر میلی لیتر می باشند (یعنی در دسته های A و B قرار می گیرند) (۱۹) و در مطالعه دیگری در انگلستان در سال ۱۹۸۸ انجام شد این میزان به ۹۸/۱ درصد افزایش یافته، ۸۳ درصد در دسته A، ۱۶/۲ درصد در دسته B و ۰/۸ درصد در دسته C قرار گرفتند. کاهش درصد نمونه های دسته C از ۱۳/۶ به ۰/۸ طی ۹ سال در انگلستان به خاطر جریمه های سنگین و تصاعدی تولید کنندگان این دسته می باشد (۱۹).

Elmer و همکاران (۲۰۰۱)، بر اساس شمارش کلی باکتریها، شیر خام را در چهار کلاس طبقه بندی نمودند. شیرهای خام دارای بار کلی میکروبی کمتر از ۵×۱۰^۴ در هر میلی لیتر در کلاس ۱، بین ۵×۱۰^۴ تا ۲×۱۰^۵ در کلاس ۲، بین ۲×۱۰^۵ تا ۱×۱۰^۶ در کلاس ۳ و بالاتر از آن در کلاس ۴ دسته بندی می شوند (۱۲). پراکندگی نمونه ها در مطالعه حاضر بر این اساس در جدول ۴ ذکر شده است.

مطابق استاندارد ملی ایران، شیر خام بر اساس میزان TBC در هر میلی لیتر به چهار درجه تقسیم شده است (۵). شیر درجه ۱ حداکثر دارای ۱×۱۰^۵ باکتری در هر میلی لیتر، شیر درجه۲ ۱×۱۰^۵ تا ۵×۱۰^۵، شیر درجه ۳ ۵×۱۰^۵ تا ۱×۱۰^۶ و شیر درجه ۴ حداکثر تا ۵×۱۰^۶ تعیین شده است (۳). بر این اساس فراوانی نمونه های شیر خام اخذ شده در پژوهش حاضر در جدول شماره ۵ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که بین TBC و PBC شیر خام تانک ذخیره گاوداری ها که به کارخانه های شیر مشهد تحویل شده همبستگی معنی داری وجود دارد ($P < ۰/۰۱$،

جدول(۳) پراکندگی نمونه های شیرخام مطالعه حاضر براساس استاندارد درجه بندی شده شیر خام در انگلستان

CFU/ml	کمتر از ۲×۱۰^۴ (دسته A)	از ۲×۱۰^۴ تا ۱×۱۰^۵ (دسته B)	بیش از ۱×۱۰^۵ (دسته C)
پراکندگی نمونه ها	٪۷	٪۲۵	٪۶۸

جدول(۴) پراکندگی نمونه های شیرخام در مطالعه حاضر براساس درجه بندی

CFU/ml	کمتر از ۵×۱۰^۴ (کلاس۱)	بین ۵×۱۰^۴ تا $۱۰^۵ \times$ ۲ (کلاس۲)	بین ۲×۱۰^۵ تا $۱۰^۶$ (کلاس۳)	بیشتر از $۱۰^۶$ (کلاس۴)
پراکندگی نمونه ها	٪۲۱	٪۲۱	٪۲۷	٪۳۱

جدول(۵) پراکندگی نمونه های شیرخام مطالعه حاضر براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۰۶(۳):

CFU/ml	کمتر از ۱×۱۰^{۵} (درجه ۱)	بین ۱×۱۰^{۵} تا $۱۰^{۵}\times$ ۵ (درجه ۲)	بین $۱۰^{۵}\times۵$ تا ۱×۱۰^{۶} (درجه ۳)	حداکثر تا ۵×۱۰^{۶} (درجه ۴)	شیرخام غیر استاندارد
پراکندگی نمونه ها	٪۳۳	٪۲۷	٪۱۰	٪۲۲	٪۸

r = ۰/۴۷۸). سمپیرکووا و همکاران (۲۰۰۲) نیز همبستگی معنی داری بین TBC و PBC به دست آوردند (P < ۰/۰۱ و r = ۰/۶۹). در مطالعه مذکور TBC و PBC در ۱۴۴ نمونه شیر خام اخذ شده از سه گله تعیین گردید که TBC با استفاده از میلکواسکن و PBC با کشت در ۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۲۵ ساعت مشخص شد (۸).

در مطالعه انجام شده در انگلستان ضریب همبستگی ۰/۶۶ بین میزان PBC و میزان کلی باکتریها در نمونه های شیر خام اخذ شده از تانک ذخیره گاوداری ها به دست آمد (۱۹). در این بررسی میانگین عددی باکتریهای سرمادوست در هر میلی لیتر شیر خام $۱/۳\times۱۰^{۳}$ و میانگین بار کلی میکروبی ۲×۱۰^{۴} بود که تعداد سرمادوست ۷ درصد تعداد کل باکتری ها تعیین گردید. در مطالعه حاضر نسبت PBC به TBC حدوداً ۲۵ درصد بود و این نشان دهنده آلودگی زیاد به باکتری های سرمادوست و یا رشد آنها در شیر سردکن می باشد (۱۹). Esther و همکاران (۲۰۰۴)، در بوتسوانا کیفیت میکروبی شیر خام تحویلی به دو کارخانه فرآوری مواد لبنی را مورد مطالعه قرار دادند. میانگین TBC در شیر خام دو کارخانه ۳×۱۰^{۷} و ۱×۱۰^{۶} باکتری در هر میلی لیتر و میانگین PBC ۴×۱۰^{۵} و ۱×۱۰^{۷} باکتری در هر میلی لیتر به دست آمد. میانگین TBC در شیر پاستوریزه ۷×۱۰^{۳} و ۱×۱۰^{۴} باکتری در هر میلی لیتر و میانگین PBC ۲×۱۰^{۲} و ۶×۱۰^{۵} محاسبه شد (۱۳). در تحقیق انجام شده توسط Chye و همکاران (۲۰۰۴) در مالزی بر روی ۹۳۰ نمونه شیر خام که از ۳۶۰ گاوداری شیری تهیه شده بود میانگین PBC $۷/۵\times۱۰^{۳}$ و میانگین TBC ۱۲×۱۰^{۶} بدست آمد. ضریب همبستگی بین TBC و PBC ۰/۴۲ بود (۱۰). در پژوهش حاضر میانگین PBC، $۳/۹\times۱۰^{۵}$ و میانگین TBC، $۱/۶\times۱۰^{۶}$ به دست آمد که در مقایسه با مطالعه انجام شده درمالزی، میانگین باکتری های سرمادوست ۵۰۰ برابر بیشتر ولی میانگین TBC ۷/۵ برابر کمتر است. این مقایسه نشان می دهد که باکتریهای آلوده کننده شیر خام در مشهد بیشتر از انواع سرمادوست می باشد. ضریب همبستگی PBC و TBC در هر دو مطالعه نزدیک به هم است.

در مرحله دوم پژوهش، همبستگی بین PBC شیر خام قبل از فرآوری با زمان ماندگاری شیر پاستوریزه و روند کاهش میزان بعضی از ترکیبات غذائی شیر پاستوریزه حاصل از همان شیر خام از زمان تولید تا انقضاء (حداکثر سه روز بعد از تولید، بر اساس مندرجات کارخانه) اندازه گیری شد. بدین ترتیب روند تغییرات باکتریائی و شیمیائی شیر پاستوریزه از زمان تولید تا تاریخ انقضاء و همچنین زمان ماندگاری محصول مورد مطالعه قرار گرفت. در این راستا میزان اثربخشی پاستوریزاسیون در کاهش TBC شیرخام و میزان آلودگی باکتری ها بعد از پاستوریزاسیون ارزیابی گردید. میانگین PBC در شیر خام گاوداریهای صنعتی مشهد $۳/۹\times۱۰^{۵}$ باکتری در هر میلی لیتر بود (جدول ۲). این باکتری ها بر کیفیت، ترکیبات و ماندگاری شیر پاستوریزه تولید شده از آن اثر دارند زیرا آنزیم های لیپاز و پروتئاز آزاد شده بوسیله آنها در شیر خام به حرارت پاستوریزاسیون مقاوم بوده و در شیر پاستوریزه نیز به فعالیت خود ادامه می دهند همچنین برخی از باکتریهای سرمادوست مقاوم به حرارت بوده و بعد از پاستوریزاسیون نیز زنده مانده و آنزیم تولید می کنند که در نهایت باعث تغییر در ترکیبات شیر و فساد آن می شوند (۱۱). اگر باکتریهای سرمادوست در شیر خام بیش از $۱۰^{۵}$ باکتری در هر میلی لیتر باشند، می توانند قبل از پاستوریزاسیون به اندازه کافی آنزیم های خارج سلولی ایجاد کنند که سبب تندی چربی های شیر و تجزیه کازئین در شیر فرآوری شده شوند (۶). میانگین PBC شیر خام گاوداریهای مشهد حدود ۴ برابر تعداد ذکر شده فوق است بنابراین، انتظار می رود اثرات نامطلوب حضور باکتریهای سرمادوست شیر خام در شیر پاستوریزه وجود داشته باشد. در مرحله دوم مطالعه حاضر با وجود اینکه میانگین PBC در شیر خام ارسالی به پاستوریزاتور $۱/۷\times۱۰^{۷}$ باکتری در هر میلی لیتر بود، ولی بین PBC و میزان کاهش بعضی از ترکیبات شیر پاستوریزه از زمان

تولید تا انقضاء همبستگی آماری معنی داری به دست نیامد ($P < ۰/۰۵$).

در پژوهش حاضر میانگین TBC شیر پاستوریزه در روز تولید $۱/۷۵ \times ۱۰^{۳}$ و میانگین PBC $۴/۷ \times ۱۰^{۲}$ باکتری در هر میلی لیتر بود که نسبت به TBC و PBC در مطالعه Esther و همکاران در کشور بوتسوانا (۱۳) کمتر است. این امر نشان دهنده آلودگی کمتر بعد از پاستوریزاسیون مورد بررسی در این مطالعه است. در روز پایانی تاریخ انقضاء شیر پاستوریزه، TBC بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی شماره ۲۴۰۶ بود. مطابق استاندارد فوق، میزان مجاز بار میکروبی شیر پاستوریزه $۷/۵ \times ۱۰^{۴}$ باکتری در هر میلی لیتر می باشد. در پژوهش حاضر میانگین TBC شیر پاستوریزه در روز پایان تاریخ انقضاء $۲/۶۵ \times ۱۰^{۵}$ باکتری در هر میلی لیتر به دست آمد که ۳/۵ برابر حد مجاز می باشد که نشان دهنده میزان بالای آلودگی بعد از پاستوریزاسیون بود. این آلودگی باکتریائی از باکتریهای باقی مانده در لوله های انتقال شیر بعد از پاستوریزاتور، تانک نگهداری شیر پاستوریزه و بیشتر از همه از دستگاه پرکننده و هوای ورودی به پاکت همراه شیر منشا می گیرد.

بنابراین می توان نتیجه گیری کرد که آلودگی میکروبی شیر خام تاثیر بسزائی در سایر فرآورده های لبنی تولید شده از آن دارد. چنانچه میزان آلودگی کلی باکتریائی و بخصوص آلودگی باکتری های سرمادوست در شیر خام بالا باشد به علت تولید آنزیم های خارج سلولی مقاوم به حرارت می تواند از زمان ماندگاری شیر پاستوریزه تولید شده کاسته و ارزش غذائی آن را کاهش داده و یا باعث فساد این محصولات شود.

منابع

۱. استاندارد ملی شماره۳۴۵۱ . ۱۳۷۲ . روش شمارش میکرو ارگانیسم های سرمادوست در شیر و فرآورده های آن در ۶/۵ درجه سلسیوس. چاپ اول. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۲. استاندارد ملی شماره ۹۳ . ۱۳۷۴ . ویژگیهای شیر پاستوریزه. چاپ ششم. تجدید نظر دوم. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۳. استاندارد ملی شماره ۵۲۷۲ . ۱۳۷۹ . میکروبیولوژی مواد غذائی و خوراك دام - روش شمارش کلی میکروارگانیسم ها در ۳۰ درجه سانتی گراد، چاپ اول ، مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۴. استاندارد ملی شماره ۲۴۰۶ . ۱۳۸۱ . شیر و فرآورده های آن- ویژگیهای میکروبیولوژی. چاپ اول. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

۵. جیمز ام جی. میکروبیولوژی غذائی مدرن. جلد اول. ترجمه دکتر علی مرتضوی و همکاران. نشر مشهد، صفحات ۳۹۲ تا ۳۹۳.

6. Adams M. R. and Moss M. O. 2000, Food microbiology, 2nd Ed, Cambridge (England), Royal society of chemistry, PP:106-112
7. Adham M. A. 2003, Purification and partial characterization of psychrotrophic Serratia marcescens lipase, J. Dairy Sci. 86: 127-132
8. Cempircova R. 2002, Psychrotrophic vs. total bacterial counts in bulk milk samples, Vet. Med. Czech, 47(8):227-233
9. Champagne C. P., Laing R. R. and Roy D. 1994, Psychrotrophic bacteria in dairy products: their effects and their control, Crit. Rev. Food sci. Nutr. 34(1): 1-30
10. Chye F. Y., Aminah A., Mohd Khan A. 2004, Bacteriological quality and safety of raw milk in

Malaysia, Food Microbial. 21: 535-541

11. Doyle M. P., Beuchat L. R. and Montville T. J. 2001, Food microbiology; fundamentals and frontiers, 2nd Ed, Washington DC: ASMPress PP: 118 - 114
12. Elmer H. M. and James L. S. 2001, Applied dairy microbiology, 2nd Ed, NewYork: Marcel Dekker PP: 59-65
13. Esther N. A., Ernest K. C. and Berhanu A. G. 2004, Microbiological qualiy of milk from two processing plants in Gaborne Botswana, Food Control 15: 181-186
14. Kim J. I., Lee S. M. and Jung H. J. 2005, Characterization of calcium-activated bifunctional peptidase of psychrotrophic Bacillus Cereus, J. Microbiol. 43(3): 237-43
15. Manzano S., Ordonez J. A. and de la hoz L. 2005, A rapid method for the estimation of microbiological quality of refrigerated raw milk based on the aminopeptidase activity of gram negative bacteria, Int. dairy journal 15: 79-84
16. Nielsen S. S. 2002, Plasmin system and microbial proteases in milk: characteristic roles and relationship, J. Agric. Food Chem. 50(23): 6628-34
17. Rajmohan S., Dodd C. E. and Waites W. M. 2002, Enzymes from isolates of Pseudomonas fluorescens involved in food spoilage, J.Appl. Microbiol. 93(2): 205-13
18. Robinson K. R. 1990, Dairy microbiology, 2nd Ed, London, New York: Elsevier Applied Science PP: 233- 209
19. Robinson R. K. 2002, Hand book of dairy microbiology, 3rd Ed, New York: Wiley-interscience PP: 39-49, 60-65, 78-85 ,98-99
20. Tondo E. C., Lakus F. R. and Oliveria F. A. 2004, Identification of heat stable protease of Klebsiella oxytoca isolated from raw milk, Lett. Appl. Microbiol. 38(2): 146-150
21. Vanderzant C. and Splittstoesse D. F. 1992, Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd Ed, Amr. Pub. Helth. Assn, Washington DC PP: 163 - 153

A study about psychrotrophic bacterial content of the bulk tank milk delivered to the Mashhad pasteurization plants and effects of these bacteria on the specifications of produced pasteurized milk

A.H. Fallah rad– M. Mohssenzadeh – M. Ghaemi Bafghi[1]

Abstract

Psychrotrophic bacteria change the chemical composition of dairy products by producing different extra cellular enzymes and reduce the quality of the processed dairy food stuff. The aim of this study was to find out the total bacterial count (TBC), psychrotroph bacterial count (PBC) of raw milk produced in Mashhad, and effect of these bacteria on the changes that happens in the chemical composition of pasteurized milk. In phase I of the study, 100 raw milk samples were obtained from 100 bulk tanks of the dairy farms delivered to three pasteurization plants in Mashhad. Samples were kept refrigerated and transferred to the microbiology lab. TBC, PBC, fat and protein percentage of the milk samples were determined. In phase II of the experiment, 20 raw and 80 pasteurized milk samples produced from the same raw milk were obtained, refrigerated and sent to the lab for analysis. From the time of production to the end of expiration, daily bacteriological and chemical changes in the composition of the processed milk were determined.

Phase I results showed that in the bulk tank raw milk, mean TBC, PBC, milk fat and protein content were 3.9×10^5 and 1.6×10^6 CFU/mL, 3.34 and 3.17%, respectively. There was a significant correlation between TBC and PBC ($P<0.05$, $r = 0.478$). Phase II results showed that mean TBC and PBC of the raw milk was 3.8×10^7 and 1.7×10^7 CFU/mL, respectively. Mean TBC of pasteurized milk on the production day, day 1, 2 and 3 were 1.75×10^3, 7.65×10^3, 2.65×10^5 and 1.93×10^7 CFU/mL, respectively while, PBC in the pasteurized milk on the production day, day 1, 2 and 3 were 4.7×10^2, 1.23×10^3, 1.6×10^5, and 1.5×10^7 CFU/mL, respectively. Mean fat percentage was reduced significantly from 2.34 on the day of production into 2.28 on the third day ($P<0.05$).

According to the present standards, TBC in the pasteurized milk should not be more than 7.5×10^4 CFU/mL but, it was determined to be 2.65×10^5 at the end of expiry date which is 3.5 times more than standard. High bacterial contamination of the raw milk brought into the pasteurization plants in phase I was due to low hygiene of the mammary glands, milking equipments, raw milk tanks, and all the milk pipelines conveying milk into the factory. Results of the phase II shows that hygienic techniques were not followed properly after pasteurization in the factory.

Key words: Pasteurized milk, raw milk, PBC, TBC

1- Contribution from College of vet.Med, Ferdowsi University of Mashhad.