



Ferdowsi University of Mashhad

**Agricultural  
Sciences  
&  
Technology  
Journal**

Vol. 20 No. 6

2007

ISSN : 1029 - 4791

Mailing Address: P.O. Box 91775-1163, Mashhad, Iran

## 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<sup>1</sup> - M. Mohsenzadeh - M. Ghazemi Baghi<sup>1</sup>

### 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  $3.9 \times 10^5$  and  $1.6 \times 10^6$  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  $3.8 \times 10^7$  and  $1.7 \times 10^7$  CFU/mL, respectively. Mean TBC of pasteurized milk on the production day, day 1, 2 and 3 were  $1.75 \times 10^5$ ,  $7.65 \times 10^5$ ,  $2.65 \times 10^5$  and  $1.93 \times 10^5$  CFU/mL, respectively while, PBC in the pasteurized milk on the production day, day 1, 2 and 3 were  $4.7 \times 10^5$ ,  $1.23 \times 10^5$ ,  $1.6 \times 10^5$ , and  $1.5 \times 10^5$  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  $7.5 \times 10^4$  CFU/mL, but, it was determined to be  $2.65 \times 10^5$  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

## 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

امیر هوشنگ فلاح راد - محمد محسن رازده - مهراں زلفی باغلی<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۲۸ / ۴ / ۸۵

#### چکیده

باکتری های سرمادوست با تولید آنزیم های خارج سلولی مختلف باعث تجزیه ترکیبات مواد غذایی خام و فرآوری و کاهش کیفیت این مواد می شوند. هدف از انجام این پژوهش، بررسی میزان بار کلی میکروبی (TBC) و کل باکتری های سرما دوست (PBC) در شیر خام تولیدی در مشهد و همچنین اثر این باکتری ها در روند تغییرات بعضی از ترکیبات غذایی شیر پاستوریزه بوده است. در مرحله اول ۱۰۰ نمونه شیر خام از یکصد نانک ذخیره گارخانه 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 شیمیایی شیر پاستوریزه از روز تولید تا انقضاء به طور روزانه تعیین شد. نتایج مرحله اول نشان داد که میانگین تعداد سرمادوستها  $3.9 \times 10^6$  CFU/ml و میانگین تعداد کل باکتری  $1.0 \times 10^8$  CFU/ml بود. میانگین درصد چربی و پروتئین به ترتیب  $3.7$  و  $3.17$  تعیین گردید. در بررسی آماری بین PBC و TBC در نمونه ها ارتباط معنی داری وجود داشت ( $P < 0.05$  و  $r = 0.278$ ). در مرحله دوم میانگین TBC و PBC شیر خام به ترتیب  $1.0 \times 10^7$  CFU/ml و  $3.8 \times 10^8$  CFU/ml تعیین گردید. میانگین TBC شیر پاستوریزه بلافاصله بعد از تولید  $1.0 \times 10^7$  CFU/ml و در روزهای روز اول تا روز سوم پس از تولید  $1.0 \times 10^7$ ،  $7.65 \times 10^6$  و  $2.65 \times 10^6$  CFU/ml بدست آمد. در حالیکه میانگین TBC از روز تولید تا سه روز بعد از آن به ترتیب  $1.0 \times 10^7$ ،  $3.7 \times 10^6$ ،  $1.23 \times 10^6$ ،  $1.6 \times 10^6$  و  $1.6 \times 10^6$  CFU/ml بود. درصد چربی از روز تولید تا روز سوم بطور معنی داری کاهش پیدا کرده بود ( $P > 0.05$ ). بر اساس استانداردهای موجود میزان مجاز بار کلی میکروبی در شیر پاستوریزه  $1.0 \times 10^7$  باکتری در هر میلی لیتر می باشد این در حالی است که میانگین تعداد کلی باکتری های نمونه های شیر پاستوریزه در روز پایان تاریخ انقضاء  $2.65 \times 10^6$  باکتری در هر میلی لیتر بود که ۳ برابر حد مجاز می باشد. نتایج بدست آمده در مرحله اول گروهی باکتریایی 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، نانکرها 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

فرآوری حرارتی شیر خام این دسته باکتری ها در سرما به رشد خود ادامه می دهند و با فعالیت آنزیمی خود کیفیت شیر خام و حتی محصولات تولیدی آن را کاهش داده و گاهی نیز غیر قابل مصرف می کنند (۳، ۶ و ۲۱).

المطلب باکتری های سرمادوست در دسته باکتری های میله ای گرم منفی<sup>۱</sup> (GNR) بوده و شامل جنسهای سودوموناس، آکاتوباکتر، آکروموناس، آکروموناس، سراتیا، کروموباکتریوم و

باکتری های سرمادوست به دلیل اینکه قدرت رشد و فعالیت در دمای پایین را دارند از اهمیت خاصی در فساد مواد غذایی نگهداری شده در یخچال برخوردارند. این باکتری ها با تولید آنزیم های خارج سلولی مختلف باعث تغییر ترکیبات مواد غذایی می شوند که در نهایت منجر به فساد ماده غذایی می شوند (۵). فعالیت این باکتری ها در شیر خام نیز اهمیت بسزایی دارد زیرا از زمان تولید تا

۱- به ترتیب استفانز و دانشجوی سابق دکتری ارشدی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد.

فلاورباکتریوم می باشد (۷). اگر چه فراوانی گونه های سودوموناس در جمعیت کلی باکتریایی 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 های که باعث فساد در مواد غذایی می شوند عبارتند از: سودوموناس فلورسنس<sup>۱</sup>، فرانس<sup>۲</sup>، پوئیدا<sup>۳</sup> و آروچینوزا<sup>۴</sup> (۱) و (۲).

در مطالعه ای در سوئد برای مشخص کردن عوامل فساد شیر خام و پاستوریزه، باکتریهای جدا شده را با روش آنالیز فنوتیپی عددی<sup>۵</sup> بررسی نمودند. باکتریهای اصلی ایجاد فساد در شیر خام سودوموناس فلورسنس بیوزا<sup>۱</sup> و ۳، سودوموناس فرانس<sup>۲</sup> و سودوموناس لوندنسیس<sup>۶</sup> همچنین گونه های از آنژیوباکتریا<sup>۷</sup> و اسپیشوباکتر<sup>۸</sup> بودند (۱۷). در ۶۵ 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 پلیمیکسا و باسیلوس سرتوس 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 (۱۲) و (۱۶).

کیفیت شیر خام بر کیفیت شیر محصول پاستوریزه تأثیر بسزایی دارد و شیر خام با کیفیت بالا برای تهیه شیر پاستوریزه<sup>۹</sup> مانند گاری طولانی ضروری است. تنها افزایش تعداد کل باکتریها در شیر خام تعیین کننده نیست بلکه نوع باکتریها نیز در این میزان اهمیت بسزایی دارد. شیر خام آلوده به باکتریهای سرد دوست 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).

گلودگی باکتریایی 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، آنکالیزونز، اسپیشوباکتر و غیره است. زمان ماندگاری محصول به تعداد باکتری

گروه 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 بعادت (۱۲) و (۱۵). با توجه به اهمیت بهداشتی کیفیت شیر خام در تولید سایر محصولات لبنی، هدف از این تحقیق اندازه گیری میزان پار کلی میکروبی (TBC<sup>۱۰</sup>) و میزان باکتری های سرما دوست (PBC<sup>۱۱</sup>) شیر خام تحویل شده به کارخانه های عمده فرآورده های لبنی مشهد و تأثیر این آلودگی بر روند تغییرات میکروبی و شیمیایی شیر پاستوریزه تولیدی از همان شیر خام می باشد.

### مواد و روشها

جمع آوری نمونه ها در دونیت انجام شد. در مرحله اول آزمایش که به منظور بررسی میزان آلودگی کل باکتریایی و شمارش کل باکتری های سرما دوست انجام شد مجموعاً 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 باکتریایی 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 شیمیایی 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 کاملاً پکتو لانت گردیده، پس از تهیه وقت های متوالی از ۱۰<sup>-۱</sup> الی ۱۰<sup>-۶</sup> بروی

1) Pseudofluorescens

2) Pseudofragi

3) Pseudoputida

4) Pseudocroginosa

5) Numerical phenotypic analysis

6) Pseudulandensis

7) Enterobacteriaceae

8) Acinetobacteriaceae

9) Total Bacterial Count

10) Psychrotrophic Bacterial Count

measure و اگر توزیع نرمال نداشتند از آزمون Friedman استفاده شد.

**نتایج و بحث**

نتایج مرحله اول پژوهش که شامل شمارش تعداد کل باکتری‌های، شمارش باکتری‌های سرمادوست، درصد چربی و پروتئین در ۱۰۰ نمونه شیر خام تانک ذخیره گاوداری‌های نحویلی به کارخانه‌های فرآورده‌های لبنی می‌باشد در جدول (۱) آمده است.

ارتباط آماری بین تعداد باکتری‌های سرمادوست و تعداد کلی باکتری‌ها بوسیله آزمون آماری Spearman بررسی شد و بین این دو ارتباط معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ,  $r = 0.478$ ).

بین باکتری‌های سرمادوست و چربی شیر و باکتریهایی سرمادوست و پروتئین شیر ارتباط معنی‌داری وجود نداشت ( $P < 0.05$ ). همچنین بین تعداد کلی باکتری‌ها و درصد چربی و درصد پروتئین ارتباط معنی‌داری یافت نشد ( $P < 0.05$ ).

نتایج بدست آمده از مرحله دوم پژوهش که شامل تعداد باکتری‌های سرمادوست، تعداد کل باکتری‌ها، درصد چربی و پروتئین نمونه‌های ترکیبات خلطی شیر خام ارسالی و نمونه‌های شیر پاستوریزه تولید شده از همان شیر خام از روز تولید تا تاریخ انقضای می‌باشد در جدول شماره ۲ آورده شده است.

محیط کشت شمارش صفحه‌ای استاندارد<sup>۱</sup> (SPC) به روش پورپلیت<sup>۲</sup> کشت داده شد.

جهت تعیین TBC، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت و برای تعیین میزان باکتری‌های سرمادوست، در دمای ۶٫۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز قرار گرفت. پس از گرمخانه‌گذاری تعداد پرگشته‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت شمارش شده و بر اساس CFU/ml شیر گزارش گردید.

برای اندازه‌گیری درصد چربی و پروتئین نمونه‌های شیر گرفته شده، پس از همگن‌سازی از دستگاه لاکتواستار (Lactostar, Funke Gerber) استفاده گردید.

**آنالیز آماری داده‌ها**

برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد و پس از تعیین نرمالیت توزیع داده‌های هر دسته رابطه آماری دسته‌های مختلف به شکل دو به دو تعیین گردید و اگر هر دو دسته با یکی از طرفین توزیع نرمال نداشتند از آزمون Spearman و اگر هر دو توزیع نرمال داشتند از آزمون Pearson استفاده گردید. در تعیین ارتباط آماری بین اختلاف داده‌ها در روزهای مختلف نمونه‌های پاستوریزه اگر داده‌ها توزیع نرمال داشتند، از روش Repeated

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

Protein (%)	Fat (%)	PBC (CFU/ml)	TBC (CFU/ml)	تعداد نمونه	نوع نمونه
Mean±SEM	Mean±SEM	Mean±SEM	Mean±SEM		شیر خام
۲۱۷۸±۰.۱۶	۳۳۸±۰.۰۲	۲۱۴×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۳۸×۱۰ <sup>۴</sup>	۱۶۴×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۵۴×۱۰ <sup>۴</sup>	۱۰۰	

جدول (۲) تعداد کل باکتری‌ها، باکتری‌های سرمادوست، درصد چربی و پروتئین در شیر خام قبل از پاستوریزاسیون و شیر پاستوریزه حاصله از آن در روز تولید تا تاریخ انقضای (حد اکثر سه روز بر اساس مندرجات کارخانه تولید کننده).

Protein (%)	Fat (%)	PBC (CFU/ml)	TBC (CFU/ml)	فلکتور	
				منبع	منبع
Mean±SEM	Mean±SEM	Mean±SEM	Mean±SEM		
۲۱۷۸±۰.۰۲	۳۳۸±۰.۰۵	۱۷×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۳۵×۱۰ <sup>۴</sup>	۲۱۴×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۵۷×۱۰ <sup>۴</sup>	شیر خام ارسالی به پاستوریزاسیون	
۲۱۷۸±۰.۰۲۶	۳۳۸±۰.۰۲۹	۵۷×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۳۸×۱۰ <sup>۴</sup>	۱۷۵×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۲۸×۱۰ <sup>۴</sup>	شیر پاستوریزه روز تولید	
۲۱۷۸±۰.۰۲۷	۳۳۸±۰.۰۲۹	۱۲۴×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۲۲×۱۰ <sup>۴</sup>	۷۶×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۱۴×۱۰ <sup>۴</sup>	شیر پاستوریزه روز اول پس از تولید	
۲۱۷۸±۰.۰۲۱	۳۳۸±۰.۰۰۲	۱۶۴×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۳۸×۱۰ <sup>۴</sup>	۱۶۴×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۵۴×۱۰ <sup>۴</sup>	شیر پاستوریزه روز دوم پس از تولید	
۲۱۷۸±۰.۰۲۹	۳۳۸±۰.۰۲۶	۱۵۴×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۳۸×۱۰ <sup>۴</sup>	۱۷۲×۱۰ <sup>۵</sup> ± ۵۸×۱۰ <sup>۴</sup>	شیر پاستوریزه روز سوم پس از تولید	

1) Standard Plate Count

2) Pour plate

روی شیر خام ۳۳۳ گاو داری در انگلستان مشاهده گردید که ۸۶٪ درصد نمونه ها دارای شمارش کلی باکتریایی کمتر از  $1 \times 10^5$  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 تعاضدی 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  $5 \times 10^7$  در هر میلی لیتر در کلاس ۱، بین  $5 \times 10^7$  تا  $2 \times 10^8$  در کلاس ۲، بین  $2 \times 10^8$  تا  $1 \times 10^9$  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 ۲ 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  $1 \times 10^5$  باکتری در هر میلی لیتر، شیر درجه ۲  $1 \times 10^5$  تا  $5 \times 10^5$ ، شیر درجه ۳  $5 \times 10^5$  تا  $1 \times 10^6$  و شیر درجه ۴ حداکثر تا  $5 \times 10^6$  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 نانک ذخیره گاوداری ها که به کارخانه های شیر مشهد تحویل شده همبستگی معنی داری وجود دارد ( $P < 0.01$ ).

بین تعداد کل باکتری های شیر خام و تعداد کل باکتری های شیر پاستوریزه در روز تولید اختلاف معنی داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). میزان چربی شیر خام ارسالی به پاستوریزاتور کمتر از شیر پاستوریزه بود ( $P < 0.05$ ). همچنین، درصد چربی شیر از روز تولید تا سه روز بعد دارای کاهش معنی داری بود (از ۲٫۳۴ تا ۲٫۲۸) ( $P < 0.05$ ) ولی بین تعداد باکتری های سرمادوست در شیر خام و کاهش درصد چربی ششپه پاستوریزه ارتباط معنی داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). بین تعداد کل باکتری های شیر پاستوریزه در روز تولید با شیر پاستوریزه روز اول بعد از تولید ارتباط معنی داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). همچنین افزایش تعداد باکتری های سرمادوست در شیر پاستوریزه هر روز آزمون نسبت به روز قبل معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). در بررسی انجام شده بین تغییرات تعداد کل باکتری های ششپه پاستوریزه با درصد چربی و تعداد باکتریهای سرمادوست با درصد چربی همان روز ارتباط معنی داری یافت نشد ( $P < 0.05$ ).

**بحث**

نتایج حاصل از مرحله اول این پژوهش آلودگی کلی باکتریایی بسیار بالایی ( $1.6 \times 10^6$ ) را مشخص کرد (جدول ۱) که در مقایسه با جمهوری چک  $1.1 \times 10^5$  (۹) و انگلستان (۱۸)  $2 \times 10^7$  نشان دهنده ورود تعداد زیادتر باکتری از منابع گرده کننده شیر خام به آن است (۹). نتایج بدست آمده با مطالعه سمیر کوروا و همکاران که بین میزان TBC و PBC تعداد ۱۲۴ نمونه شیر خام اخذ شده از سه گله همبستگی معنی داری پیدا کردند ( $P < 0.01$ )،  $P < 0.05$ ) مطابقت دارد (۸).

در مطالعه انجام شده توسط Panes و همکاران (۱۹۷۹) بر

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

CFU/ml	کمتر از $2 \times 10^4$ (دسته ۱)	$2 \times 10^4$ تا $1 \times 10^5$ (دسته ۲)	بیشتر از $1 \times 10^5$ (دسته ۳)
پراکندگی نمونه ها	ZY	ZY5	ZPA

جدول (۴) پراکندگی نمونه های شیر خام در مطالعه حاضر بر اساس درجه بندی

CFU/ml	کمتر از $5 \times 10^7$	بین $5 \times 10^7$ تا $1 \times 10^8$	بین $1 \times 10^8$ تا $2 \times 10^8$	بیشتر از $1 \times 10^9$
پراکندگی نمونه ها	ZY1	ZY2	ZY3	ZY4

جدول (۵) پراکندگی نمونه های شیر خام مطالعه حاضر بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۴۴۰۶ (۳):

CFU/ml	کثر از $1 \times 10^4$ (درجه ۱)	بین $10^3$ و $10^4$ (درجه ۲)	بین $10^2$ و $10^3$ (درجه ۳)	حداکثر ۱ (درجه ۴)	شیر خام غیر استاندارد
پراکندگی نمونه ها	۲۲۲	۲۱۰	۲۲۷	۲۸	۲۸

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 مقدمات 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 اثر بخشی پاستوریزاسیون در کاهش TBC شیر خام و میزان آلودگی باکتری ها بعد از پاستوریزاسیون ارزیابی گردید. میانگین PBC در شیر خام گاودارهای صنعتی مشهد  $3.9 \times 10^8$  باکتری در هر میلی لیتر بود (جدول ۲). این باکتری های بکثیر، ترکیبات و ماندگاری شیر پاستوریزه تولید شده از آن اثر دارند زیرا آرزیم 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 باکتریهایی سرمادوست مقاوم به حرارت بوده و بعد از پاستوریزاسیون نیز زنده مانده و آرزیم تولید می کنند که در نهایت باعث تغییر در ترکیبات شیر و فساد آن می شوند (۱۸). اگر باکتریهایی سرمادوست در شیر خام بیش از  $10^4$  باکتری در هر میلی لیتر باشند، می توانستند قبل از پاستوریزاسیون به اندازه کافی آرزیم های خارج سلولی ایجاد کنند که سبب تندی چربی های شیر و تجزیه کازئین در شیر فرآوری شده شوند (۱۶). میانگین PBC شیر خام گاودارهای مشهد حدود ۲ برابر تعداد ذکر شده فوق است بنابراین، انتظار می رود اثرات نامطلوب حضور باکتریهایی سرمادوست شیر خام در شیر پاستوریزه وجود داشته باشد. در مرحله دوم مطالعه حاضر با وجود اینسکه میانگین PBC در شیر خام ارسالی به پاستوریزاتور  $1.7 \times 10^7$  باکتری در هر میلی لیتر بود، ولی بین PBC و میزان کاهش بعضی از ترکیبات شیر پاستوریزه از زمان

۲۷۸، ۲۰۰۲). سمیرکوا و همکاران (۲۰۰۲) نیز همبستگی معنی داری بین TBC و PBC به دست آوردند ( $P < 0.01$ ) و در مطالعه مذکور TBC و PBC در ۱۲۴ نمونه شیر خام اخذ شده از سه گله تعیین گردید که TBC با استفاده از میکرواسکن و PBC با کشت در ۲۱ درجه مسلیوس به مدت ۲۵ ساعت مشخص شد (A).

در مطالعه انجام شده در انگلستان ضریب همبستگی 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 باکتریهایی سرمادوست در هر میلی لیتر شیر خام  $1.3 \times 10^7$  و میانگین بار کلی میکروبی  $2 \times 10^7$  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 (۲۰۰۲)، در یونسوا کیفیت میکروبی شیر خام لحوایی به دو کارخانه فرآوری مواد لبنی را مورد مطالعه قرار دادند. میانگین TBC در شیر خام دو کارخانه  $3 \times 10^7$  و  $1 \times 10^8$  باکتری در هر میلی لیتر و میانگین PBC  $2 \times 10^5$  و  $1 \times 10^7$  باکتری در هر میلی لیتر به دست آمد. میانگین TBC در شیر پاستوریزه  $7 \times 10^2$  و  $1 \times 10^2$  باکتری در هر میلی لیتر و میانگین PBC  $2 \times 10^2$  و  $6 \times 10^2$  محاسبه شد (۱۳). در تحقیق انجام شده توسط Chye و همکاران (۲۰۰۲) در مالزی بر روی ۹۳۰ نمونه شیر خام که از ۳۶۰ گاوداری شیری تهیه شده بود میانگین PBC  $7.5 \times 10^7$  و میانگین TBC  $1.2 \times 10^9$  بدست آمد. ضریب همبستگی بین TBC و PBC  $0.22$  بود (۱۰). در پژوهش حاضر میانگین PBC،  $3.9 \times 10^8$  و میانگین TBC،  $1.6 \times 10^9$  به دست آمد که در مقایسه با مطالعه انجام شده در مالزی، میانگین باکتری های سرمادوست ۵۰۰ برابر بیشتر ولی میانگین TBC ۷٫۵ برابر کمتر است. این مقایسه نشان می دهد که باکتریهایی آلوده کننده شیر خام در مشهد بیشتر از انواع

دست آمد که ۳٫۵ برابر حد مجاز می باشد که نشان دهنده میزان بالای آلودگی بعد از پاستوریزاسیون بود. این آلودگی باکتریایی از باکتریهای باقی مانده در لوله های انتقال شیر بعد از پاستوریزاسیون، نانک نگاهداری شیر پاستوریزه و بیشتر از همه از دستگاه پرکننده و هوای ورودی به پالت همراه شیر منشا می گیرد.

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

تولید نا انقباض همبستگی آماری معنی داری به دست نیامد ( $P < 0.05$ ).

در پژوهش حاضر میانگین TBC شیر پاستوریزه در روز تولید  $1.75 \times 10^7$  و میانگین PBC  $2.7 \times 10^7$  باکتری در هر میلی لیتر بود که نسبت به TBC و PBC در مطالعه Esther و همکاران در کشور برونسوانا (۱۳) کمتر است. این امر نشان دهنده آلودگی کمتر بعد از پاستوریزاسیون مورد بررسی در این مطالعه است. در روز پاپایی تاریخ انقباض شیر پاستوریزه، TBC بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی شماره ۲۲۰۶ بود. مطابق استاندارد فوق، میزان مجاز بار میکروبی شیر پاستوریزه  $10^7$  باکتری در هر میلی لیتر می باشد. در پژوهش حاضر میانگین TBC شیر پاستوریزه در روز پایان تاریخ انقباض  $2.65 \times 10^8$  باکتری در هر میلی لیتر به

#### منابع

۱. استاندارد ملی شماره ۳۲۵۱-۱۳۷۲. روش شمارش میکروارگانیسم های سرمادوست در شیر و فرآورده های آن در ۶٫۵ درجه سلسیوس- چاپ اول. موسسه استانداردها و تحقیقات صنعتی ایران.
۲. استاندارد ملی شماره ۹۳-۱۳۷۲. ویژگیهای شیر پاستوریزه. چاپ ششم. تجدید نظر دوم. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
۳. استاندارد ملی شماره ۵۲۷۲-۱۳۷۹. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراکی دام - روش شمارش کلی میکروارگانیسم ها در ۳۰ درجه سانتی گراد، چاپ اول، مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
۴. استاندارد ملی شماره ۲۲۰۶-۱۳۸۱. شیر و فرآورده های آن- ویژگیهای میکروبیولوژی. چاپ اول. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.
۵. جیمز ام جی. میکروبیولوژی غذایی مدرن. جلد اول. ترجمه دکتر علی مرتضوی و همکاران. نشر مشهد، صفحات ۱۳۹۲ 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: ASM Press PP: 118 - 114
  12. Elmer H. M. and James L. S. 2001, Applied dairy microbiology, 2nd Ed, New York: Marcel Dekker PP: 59-65
  13. Esther N. A., Ernest K. C. and Berhanu A. G. 2004, Microbiological quality of milk from two processing plants in Gaborone 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 Splittstoesser D. F. 1992, Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 3rd Ed, Amr. Pub. Helth. Assn, Washington DC PP: 163 - 153