

شمارش باکتری های مقاوم به حرارت در شیر خام صنعتی و سنتی دامداری های

استان مرکزی

عبدالرضا بادرستانی¹، بهارک سعیدی²، ماندانا نادری نیا³

1-مدیر اداره نظارت بر مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی اراک، کارشناس ارشد شیمی، دانشگاه آزاد

اسلامی اراک، ایران

2-نویسنده مسئول، مدیر کنترل کیفیت صنایع لبنی اراک (صلا)، کارشناس ارشد مدیریت

اجرایی، کارشناس علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، اراک ایران، کدپستی

3818997846، پست الکترونیکی: b_saedi@yahoo.com، تلفن تماس: 09183648498.

3-کارشناس میکروبیولوژی کنترل کیفیت صنایع لبنی اراک، کارشناس میکروبیولوژی دانشگاه آزاد

اراک، اراک ایران.

کلمات کلیدی: باکتری، ترمودریک، شیر.

تعداد کلمات: 1954

تعداد جداول: 4

شمارش باکتری های مقاوم به حرارت در شیرخام صنعتی و سنتی دامداری های استان مرکزی

چکیده:

زمینه و هدف: وجود باکتری های مقاوم به حرارت (ترمودوریک) در شیرخام ورودی به کارخانجات، نقش بسیار مهمی در کیفیت و ماندگاری محصولات لبنی دارد. با توجه به اینکه بخش عمده ای از محصولات صنایع لبنی اراک دارای عمر نگهداری طولانی می باشند (محصولات استریل و پنیر)، این پژوهش با هدف تعیین میزان آلودگی شیرخام به باکتری های مقاوم به حرارت در صنایع لبنی اراک انجام شد.

روش بررسی:

این پژوهش از نوع توصیفی - تحلیل است که در خردادماه 1392 در شرکت صنایع لبنی اراک صورت گرفت. تعداد 200 نمونه شیرخام دامداری های استان مرکزی ، نمونه برداری شد و پس از انجام پاستوریزاسیون، آزمایشگاهی، به روش کشت آمیخته بر روی محیط کشت پلیت کانت آکار حاوی شیرخشک بدون چربی، شمارش باکتری های ترمودوریک صورت گرفت و داده ها با استفاده از نرم افزار spss19 مورد تجزیه و تحلیل واقع شد و میانگین ، انحراف معیار و بار میکروبی دامداری های صنعتی و سنتی تعیین گردید.

یافته ها: میانگین بار میکروبی دامداری های صنعتی به باکتری های ترمودوریک $3/4 \times 10^4 \pm 2 \times 10^4 cfu/ml$ بود. کمترین میزان بار میکروبی دامداری های صنعتی $2 \times 10^3 cfu/ml$ با 10/2 درصد و بیشترین میزان بار میکروبی دامداری های صنعتی $2 \times 10^5 cfu/ml$ با 0/8 درصد فراوانی بوده است.

میانگین بار میکروبی دامداری های سنتی $4/1 \times 10^5 \pm 2 \times 10^5 cfu/ml$ بود که کمترین میزان بار میکروبی $2 \times 10^5 cfu/ml$ بود که کمترین میزان بار میکروبی $2 \times 10^5 cfu/ml$ با 23/6 درصد و بیشترین میزان بار میکروبی $8 \times 10^5 cfu/ml$ با 25 درصد بوده است.

نتیجه گیری: با توجه به میزان آلودگی شیرخام به خصوص در فصول گرم سال به باکتری های مقاوم به حرارت، رعایت اصول و موازین بهداشتی در دامداری و نیز نظارت در مرحله تهیه، حمل و نقل و نگهداری شیرخام و خارج کردن شیرهایی که دارای بار میکروبی بالا می باشند از چرخه تولید محصولات استریل و فرآورده هایی که عمر نگهداری طولانی دارند ضروری می باشد.

واژگان کلیدی: باکتری، ترمودوریک، شیر.

مقدمه:

میکروارگانسیم های مقاوم به حرارت میکروبیهای هستند که در بعضی از دماهای مورد استفاده در فرایندهای حرارتی می تواند زنده باقی بمانند. این میکروارگانسیم ها حرارت بین 80-60 درجه سانتی گراد را به راحتی تحمل می کنند. (12)

تیمار حرارتی پاستوریزاسیون در دمای 72 درجه سانتی گراد به مدت 15 ثانیه برای از بین بردن مقاومترین میکروارگانسیم های غیراسپوزای بیماری زا مانند مایکوباکتریوم توبرکولوزیس کافی می باشد. درجه حرارت پاستوریزاسیون شیر سبب نابودی کلیه مخمرها، کپک ها و باکتری های گرم منفی و برخی از باکتری های گرم مثبت می شوند. دو گروه از میکروارگانسیم هایی که پس از پاستوریزاسیون شیر زنده می مانند ترموفیل ها و ترمودوریک ها هستند. ترمودوریک ها در درجه حرارت های بالا زنده می مانند ولی رشد زیادی ندارند، میکروارگانسیم های ترموفیل نه تنها در درجه حرارت های بالا زنده می مانند بلکه قادر به رشد هم می باشند. (8)

باکتری های مقاوم به حرارت از نظر شیر و فرآورده های آن اهمیت خاصی دارند زیرا در اثر حرارت پاستوریزاسیون از بین نمی روند، جنس های میکروکوک، میکروباکتریوم، استرپتوکوک، لاکتوباسیلوس، باسیلوس کلوستریدیوم و گروه کورینه فرم، باکتری هایی هستند که شامل انواع مقاوم به حرارت می باشند، سایر جنس ها اغلب از باکتری های میله ای شکل گرم منفی تشکیل شده اند که گاهی بعد از حرارت سالم سازی غذا به تعداد چند سلول ممکن است زنده بمانند آن هم زمانی است که جمعیت اولیه آنها در ماده غذایی زیاد باشد. باکتری های ترمودوریک در دمای طبیعی در منابعی مانند خاک، آب آلوده، غبار و سبزیجات وجود دارند و می توانند در ماشین های شيردوشی رشد کنند بنابراین از طریق شیرخام به محصولات پاستوریزه منتقل می شوند. (20)

شیر و فرآورده های تهیه شده از شیر مانند کره، خامه، و پنیر به دلیل ترکیب شیمیایی خود مستعد فساد میکروبی می باشند (1) شیر یک محیط رشد مناسب برای تمام عوامل معمول فساد می باشد شیرخام صورت طبیعی و با در نظر گرفتن میزان مراقبتی که در تهیه، نظافت، تجهیزات و ظروف و حمل و نقل آن انجام می شود دارای ریز ارگانسیم های¹ مختلف می باشند فساد شیر پاستوریزه ناشی از رشد استرپتوکوکهای مقاوم به حرارت (ترمودوریک) و عمل تجزیه لاکتوز و تولید اسید لاکتیک توسط آنها است این امر باعث کاهش PH به نقطه ایجاد لخته (به PH حدود 4/5) می گردد سپس استرپتوکوکوس لاکتیس با ادامه فعالیت های تخمیری و کاهش بیشتر PH تا حد 4 یا پایین تر زمینه را برای رشد سایر

¹- micro organism

لاکتوباسیلوس ها فراهم می آورد، در صورتی که هاگ قارچ در شیر وجود داشته باشد در سطح شیر ترش شروع به رشد گروه و PH را دوباره در حد خنثی بالا می آورد باکتری های پروتئین شکن (پروتئولیتیک) نظیر سودوموناس در این PH زمینه رشد پیدا کرده و موجب مایع شدن لخته شیر می گردند (7) تعداد مجاز باکتری های گرمادوست طبق استانداردهای بین المللی 1000 کلنی در 1 میلی لیتر شیر می باشد بنابراین رعایت بهداشت در زمان دوشش شیر در جلوگیری از انتقال این میکروارگانیسم بسیار حائز اهمیت است(11)

بیشترین گونه های ترموفیل در شیر متعلق به باسیلوس اس پی پی می باشد که منبع رشد این باکتری در خاک می باشد (16) انواع ترمودوریک های فاقد اسپور عبارتند از: میکروکوکوس، لاکتوباسیلوس، استرپتولوکوس میکروباکتریم، اینرتوکوکوس، کورینه فرم باکتری، آلکالی ژنز، آرتروباکتر. (9)

روش شمارش میکروارگانیسم های مقاوم به حرارت

یکی از روش هایی که توسط آن، تعداد باکتری های مقاوم به حرارت در شیر پاستوریزه، شمارش می شوند، روش پاستوریزاسیون آزمایشگاهی، می باشد. این روش به LPC¹ معروف است و متد ساده ای است که از آن برای اطمینان از کفایت عملیات سالم سازی استفاده می شود. معمولاً شیرخامی که دارای 300/000 cfu/ml کلنی میکروارگانیسم مزوفیل هوازی می باشد حدود 1000 cfu/ml باکتری مقاوم به حرارت دارد. (17)

وجود تعدادی زیادی از باکتری های ترمودوریک در شیرخام سبب افت کیفیت محصولات لبنی می گردد. جدول زیر بیانگر تغییرات صورت گرفته در تعداد باکتری های ترمودوریک پس از گذشت چند روز در شیرخام، می باشد. (5)

شیرخام با 5000 باکتری مقاوم به حرارت (در یک	تعداد ر وزهای نگهداری شده
---	---------------------------

¹ - Laboratory pasteurization count

میلی لیتر)			
درجه حرارت نگهداری شیر (سانتی گراد)	2 روز	3 روز	4 روز
2	5/000	15/000	50/000
4	10/000	30/000	100/000
6	30/000	100/000	1/000/000

جدول شماره (1): تغییرات تعداد باکتری های مقاوم به حرارت (5)

طبق استانداردهای بین المللی، شیرخام بر مبنای تعداد باکتری های مقاوم به حرارت به چند دسته تقسیم می شوند. (9) جدول ذیل بیانگر دسته بندی براساس تعداد باکتری های ترمودریک می باشد:

دسته	تعداد باکتری مقاوم به حرارت در 1 میلی لیتر شیر
طبقه 1	500-1000
طبقه 2	1001-1500
طبقه 3	1501-3000
طبقه 4	3001-5000

جدول شماره (2): طبقه بندی کیفی شیر بر مبنای ترمودریک ها (9)

لازم به توضیح است حد مجاز باکتری های مقاوم به حرارت مطابق با استانداردهای ملی ایران به شماره 4518 در شیرخام و محصولات مشخص نشده است. (7)

منابع آلودگی به باکتری های مقاوم به حرارت

مهمترین منابع آلوده کننده در خاک، علوفه و مدفوع حیوانات می باشد (20).
ماشین شیر دوشی کثیف نیز سبب انتقال آلودگی به داخل شیر می گردد. بنابراین رعایت بهداشت در زمان دوشش در جلوگیری از انتقال این میکروارگانیسم ها بسیار حائز اهمیت است. جهت کاهش سطح آلودگی شیر به باکتری های مقاوم به حرارت موارد ذیل پیشنهاد می گردد:

- تمیز کردن پستان دام جهت دوشش
- تعویض اتصالات لاستیکی دستگاه های شیردوش در مواقع ضروری
- استفاده از آب تمیز و کافی برای شستشو و آبکشی

- استفاده از آب 75-80 درجه سانتی گراد برای شستشوی ماشین ها

- جلوگیری از باقی ماندن آب گرم درپلیت کولر

با رعیات موازین بهداشتی از انتقال میکروب از دام به شیر و از شیر به ماشین های شیردوشی باید جلوگیری گردد. (6)

دلایل دیگری که سبب بروز آلودگی در کارخانجات و مراکز جمع آوری شیر می شوند عبارتند از:

- عملکرد نامناسب همزن موجود در تانک جمع آوری شیر و تشکیل سنگ شیر¹ بر جداره تانکها و در گلوگاه لوله ها

- آسیب رسیدن به فیلترها

- مصرف مجدد آبی که برای شستشوی تانک و تجهیزات نوبت قبلی استفاده شده است. (10)

اهمیت باکتری های مقاوم به حرارت در صنایع لبنی

کیفیت و عمر نگهداری محصولات لبنی بستگی به کیفیت شیرخام مورد استفاده در این صنعت دارد. یکی از مهمترین عواملی که سبب ایجاد فساد در فرآورده های لبنی می گردد باکتری های مقاوم به حرارت می باشند. (13)

باکتری های ترمودریک سایکروتروپیک قادرند در دمای پاستوریزه زنده بمانند و در یک محیط خنک به رشد خود ادامه دهند. این میکروب ها در زمان نگهداری در یخچال ایجاد فساد می کنند. هم چنین این باکتری ها، آنزیم های مقاوم به حرارت مانند پروتئاز و لیپاز ایجاد می کنند که این آنزیم ها در حرارت پاستوریزاسیون باقی مانده و پس از فعال شدن در زمان نگهداری محصول به پروتئین و چربی شیر حمله می کنند و طعم های نامطلوبی مانند ترشی، تلخی و تندی را در شیر و محصولات لبنی ایجاد می کند. (4)

(14)

هدف از انجام شمارش باکتری های ترمودریک در صنایع لبنی، ارائه یک روش مرجع به منظور ارزیابی شیرخام و تخمین قابلیت نگهداری شیر پاستوریزه و کیفیت سایر فرآورده های طولانی مدت مانند پنیر و شیر استریل می باشد. (11)

در سالهای گذشته تحقیقات زیادی در خصوص بررسی میزان باکتری های مقاوم به حرارت صورت گرفت. مثلا در سال 2009 تعداد باکتری های ترمودریک و اسپوره های ترموفیل در 30 نمونه شیرخشک در پاکستان صورت گرفت که متوسط شمارش میکروب های گرمادوست آنها

¹ - Milk stone

محصولات تخمیری در هندوستان مورد بررسی قرار گرفت. (6)

در سال 2011 تحقیقاتی در خصوص تعیین باکتری های مقاوم به حرارت در شیر خام و پاستوریزه، خامه و کره در استرالیا انجام شد. (2) و در سال 2012 تعداد میکروارگانیزم های ترموفیل در پودر شیر خشک در امریکا شمارش گردید، (18)

روش کار:

در بررسی میزان میکروارگانیزم های مقاوم به حرارت ابتدا مقالات و رهنمودهای مرتبط با موضوع بررسی شد، لغات کلیدی استفاده شده در این مطالعه عبارتند از: شیرخام، میکروارگانیزم های مقاوم به حرارت (ترمودوریک). سایت های Science Direct، Elsevier، Dairy Science، Science Direct، SID مورد بررسی قرار گرفتند و مقالات مفید مورد مطالعه قرار گرفتند.

این پژوهش از نوع توصیفی - تحلیلی می باشد که در خرداد ماه 1392 بر روی 200 نمونه شیرخام دامداری های صنعتی و سنتی استان مرکزی در آزمایشگاه صنایع لبنی اراک (صلا) انجام شد، برای جمع آوری نمونه های شیرخام شیر موجود در تانکرها توسط همزن مخلوط می شد و با ظروف دسته دار، از هر تانکر نمونه ی لازم برداشت و در یک ظرف استریل ریخته می شد، سپس روی ظروف نام دامدار و تاریخ نمونه برداری نوشته می شد و به آزمایشگاه میکروبیولوژی صنایع لبنی اراک منتقل و در دمای کمتر از 4 درجه سانتیگراد نگهداری می شد، لازم به توضیح است از 200 نمونه برداشت شده 128 نمونه مربوط به دامداری های صنعتی و 72 نمونه مربوط به دامداری های سنتی و شیر جمع کن ها بودند.

برای شمارش باکتری های مقاوم به حرارت از استاندارد شماره 4518 موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران استفاده شد، اساس روش حرارت دادن آزمونه در دمای 63/5 درجه به مدت نیم ساعت و شمارش پرگنه هایی است که در این دما پس از پاستوریزاسیون زنده می مانند، برای انجام این آزمایش ابتدا 10 ml (10 میلی لیتر) از شیرهای خام به لوله آزمایش استریل و درب دار منتقل شد و لوله ها در حمام آب با دمای $63 \pm 0/5$ درجه سلیسوس قرار داده شد پس از 35 دقیقه آنها را خارج و بلافاصله در آب سرد خنک گردیدند. پس از خنک شدن نمونه ها، رقت 0/1، 0/01، 0/001 تهیه کرده و از رقت های موردنظر به روش آمیخته¹ در محیط کشت آگار شیردار² کشت انجام شد. ظروف پتری³ در گرمخانه ی

¹ - Poure plate

² - milk plate agar

³ - pettery

تنظیم شده در دمای 1 ± 30 درجه سیلیسوس به مدت 2 روز قرار داده شد و تعداد باکتری ها مطابق با استاندارد شماره 356 موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی شمارش گردد لازم به توضیح است محیط کشت مورد استفاده مربوط به کمپانی merck می باشد.

یافته ها:

بررسی شیر خام: در مجموع 200 نمونه شیرخام شامل 128 نمونه از شیرهای صنعتی و 72 نمونه از شیرهای سنتی خام تحویلی به کارخانه صنایع لبنی اراک (صلا) مورد بررسی قرار گرفت و داده ها با استفاده از نرم افزار spss19 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت در مجموع 128 نمونه از شیرهای صنعتی، کمترین میزان ترمودریک ها با $10/2$ درصد برابر با 1×10^3 cfu/ml و بیشترین تعداد با $0/8$ درصد برابر با 2×10^5 cfu/ml بوده است. از میان 72 نمونه شیرهای سنتی، بیشترین میزان بار میکروبی با 25 درصد فراوانی، 8×10^5 cfu/ml و کمترین میزان بار میکروبی 2×10^5 cfu/ml با $23/6$ درصد فراوانی می باشد.

نتایج در جدول شماره 4 و 3 به تفصیل بیان شده است.

درصد تجمعی	درصد	تناوب	بار میکروبی cfu/ml
10/2	10/2	13	1×10^3
26/6	16/4	21	1×10^4
50	23/4	30	2×10^4
58/6	8/6	11	25×10^3
66/4	7/8	10	4×10^4
75/8	9/4	12	5×10^4
99/2	23/4	30	7×10^4
100	0/8	1	2×10^5
	100	128	کل نمونه

جدول شماره 3: بار میکروبی ترمودریک ها در دامداری های صنعتی

درصد تجمعی	درصد	تناوب	بار میکروبی
23/6	23/36	17	2×10^5
50	26/4	19	3×10^5
75	25	18	35×10^4
100	25	18	8×10^5

کل نمونه	72	100	
----------	----	-----	--

جدول شماره 4

جدول شماره 4: بار میکروبی ترمودریک ها در دامداری های سنتی

بحث: هدف از انجام این پژوهش تعیین میزان آلودگی باکتریولوژیکی شیرخام به باکتری های ترمودریک بود نتایج نشان می دهد که میانگین بار آلودگی شیرهای دامداری صنعتی $3/4 \times 10^4 \pm 2 \times 10^4 cfu/ml$ و میانگین بار آلودگی های شیرهای سنتی در خردادماه 1392 $4/1 \times 10^5 \pm 2 \times 10^5 cfu/ml$ بوده است. با توجه به نتایج حاصل به دامداری های سنتی که بار آلودگی آنها بالا بود تذکرات لازم ارائه شد، هم چنین از ورود شیر دامداری های سنتی به خطوط تولید محصولات با عمر نگهداری طولانی جلوگیری شد با توجه به نتایج پژوهش موجود و تحقیقات مشابه می توان بیان کرد که عدم رعایت زنجیره سرما در حمل و نقل شیر در فصول گرم سال، عدم شست و شو و ضدعفونی کردن مناسب پستان دام به دلیل آلودگی بدن حیوان با مدفوع، عدم رعایت بهداشت فردی کارگران گاوداری ها، عدم استفاده از آب سالن و بهداشتی جهت شستشوی ظروف حمل و نگهداری شیر، پایین بودن سطح آگاهی کارگران دامداری ها در زمینه بهداشت و سلامت شیر، شست و شوی نامناسب تانکرهای ذخیره شیرخام و وجود سنگ شیر و رسوبات در اتصالات لوله ها و تجهیزات، باقی ماندن آب گرم در دستگاه ها دلایل اصلی آلودگی شیر به باکتری های ترمودریک می باشد با توجه به نقاط ضعف موجود پیشنهاد می گردد جمع آوری و حمل شیرخام از دامداری ها به مراکز تولید و کارخانجات در ماههای گرم سال با وسایل نقلیه دارای سیستم سردکننده صورت گیرد هم چنین آموزش دامداران در زمینه رعایت بهداشت دام و شست و شوی پستان دام قبل از دوشش و کنترل ورم پستان در دامها، استانداردسازی دامداری های سنتی و رعایت استانداردهای مربوط به بهداشت محل نگهداری دام ها، استفاده از مواد گندزدا و ضدعفونی دقیق و منظم ظروف، انجام آزمایشات کنترل کیفی در محل گاوداری ها و دامداری ها، شست و شو و ضدعفونی کردن تانکرها و لوله ها و اتصالات و تجهیزات و عدم باقی ماندن آب گرم به مدت طولانی در لوله ها و اتصالات به منظور جلوگیری از آلودگی شیر ضروری است.

نتیجه گیری:

با توجه به تاثیر باکتری های ترمودریک بر کیفیت شیرخام و امکان باقی ماندن این باکتری ها پس از فرآیندهای حرارتی و تاثیر منفی این گروه بر عمر نگهداری محصولات لبنی، رعایت اصول و موازین

بهداشتی در دامداری ها و شست و شوی مرتب تجهیزات حمل شیر و پایش و کنترل شیرهای خام ورودی به کارخانجات لبنی خصوصاً در فصول گرم سال الزامی است.

سپاسگزاری:

بدینوسیله از زحمات مدیریت محترم صنایع لبنی اراک، جناب آقای مهندس محمدرضا سراییان که ما را در انجام این پژوهش یاری رساندند، صمیمانه سپاسگزاری می گردد.

References

- 1- Burdoua, O. Hygeiene of pasteurized milk depending on psychotropic microorganism, I. dairy science. 2002, 46 (1) , 325-329.
- 2- colghill, D. studies of thermoduric bacteria in south east Queen sland. Dairy Industry Association of australlia 2011, 37(2) , 200-211.
- 3- Eliona , H. Cultury psychotropic bacteria communities in raw milk . Appk, Environ micro, 2007, 73(3) , 7162-7168.
- 4- Emaucele, s. purification and characterization of two extracellular proterinase from Arthrobacter nicotine, Federation of European microbiological societies , 2006, 170(2), 327-333.
- 5-Gleesn, D. cleaning procedures to achieve low bulk milk bacteria counts . Annual ucc food research conference , 2009.3.12.
- 6- Gleeson , D., Bacterial contamination on milk contact surfaces of different cleaning procedures . Annual ucc food research conference. 2011. 3.31.
- 7- Institute of standards and Industrial research of Iran. Micro biological examination for daring purposes enumeration of thermo uric microorganisms bacteria: Nom: u 518, 1998, 1-7.
- 8- James, m. food protection with hig temperature and character ristic of ther mephtic microorganism . modern food microbiology 2005, volu: 2, 415-441.
- 9- Karim, Giti. Microbiological Examination of foods. Tehran university publications . No: 2103: 1991. Pp: 261-263.
- 10- Kieffer, K. How to prevent thermopile growth in Milk evaporator. Tetra pack Inc. 20133. February.
- 11- Laurie , D. Effects of premilking sanitation on The quality of raw milk . pepartment of agriculture western. 2002, 1-36.
- 12- Mavy , Auley . thermofilic bacteria in washed milk churn , journal of applied microbiology. 2007, 9. 54-55.
- 13- Murphy, s. shelf – life of fluid milk products. Microbiology department of cornell university , 2011.

- 14- Neetav, M. studies on proteolytic thermophilic psychotropic bacteria in milk and fermented milk products . Journal of environmental research and development, 2010, 1(2) 70-80.
- 15- Rajpul, I. Enumeration of thermophilic and thermophilic spores in commercial repacked milk powder . Pakistan journal of nutrition . 2007, 8(8) – 1194-1198.
- 16- sanjeev, Aa. Thermophilic and thermophiles in dairy processing environment . Associate professor of dairy science department south pakoto state university. NCCTA, Presentation. 2011.
- 17- stocking , H. Dairy food science notes of cornen university. Milk quality Improvement program of food science. 2007. 114583.
- 18- Tromp, R, Endospore of thermophilic bacteria in ingredient milk powders and their significance to the manufacture of sterilized milk product. Food review International . 2012. 28(3) 30-37.
- 19- Williams , D. Thermophilic and their effect quality of milk. Journal of applied microbiology . article first, published on line . 2008, doi : 1001111.
- 20- www. Faem file. Ie.