مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۷، دوره ۷۳، شماره ۱، ۹۲-۸۳
DOI: 10.22059/jvr.2018.130328.2350
Original Article
Archive of SID

بررسی مقایسه‌ای تأثیر مواد شیمیایی و تخمیر طبیعی بر روی کیفیت میکروبی و آنتی بادی IgG آغوز گاو به منظور افزایش ماندگاری آن

شراره ستوده[1] محمد ربانی خوراسگانی[2*] زهرا اعتمادی فر[2] سید حمید زرکش اصفهانی[2]

۱) دانش آموخته میکروبیولوژی، دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

(دریافت مقاله: ۲ دی ماه ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۲ فروردین ماه ۱۳۹۷)

چکیده

زمینه مطالعه: آغوز گاوی اولین شـیر ترشح شـده پس از تولد گوساله می‌باشد و ماده‌ای بسیار مغذی سرشار از فاکتورهای ایمنی‌بخش، فاکتورهای ضدمیکروبی، فاکتورهای رشد و ترمیم بافت می‌باشد. با توجه به ضرورت بهره مندی از آغوز و نیز فواید ارزشمند آن برای گوساله، نگهداری و ذخیره آغوز همواره مورد توجه بوده است. آلودگی میکروبی آغوز موجب تداخل در جذب آنتی‌بادی‌های موجود در آغوز می‌شود. **هدف:** بررسی اثر نگهدارنده‌های شیمیایی و تخمیر طبیعی جهت ذخیره سازی آغوز به منظور حفظ کیفیت آن می‌باشد. **روش کار:** برای انجام این تحقیق آغوز حاصل از شیردوشی اولیه بعد از زایمان، از ۵ گاو نژاد هلشتاین به‌طور مجزا جمع‌آوری شد. نمونه‌ها فوراً به آزمایشگاه منتقل شدند و آزمایشات میکروبی بر روی نمونه‌های آغوز تازه انجام شد. سپس نمونه‌های آغوز بعد از انجام تیمار با اسید پروپیونیک، اسید فرمیک، سوربات پتاسیم و روش تخمیر طبیعی در روزهای ۱،۱۰،۲۰ و ۳۰ ذخیره سازی از نظر باکتری‌های شاخص شامل بارمیکروبی کل و اشرشیا کلی، کلی‌فرم و کپک ومخمر مورد ارزیابی قرار گرفتند. بعد از انجام آزمون میکروبی از نمونه کلستروم تازه (شاهد) و نمونه‌های تیمار شده در پایان روز ۳۰ Whey تهیه شد و آزمون SRID به‌منظور سنجش آنتی‌بادی IgG در نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده انجام شد. **نتایج:** سوربات پتاسیم نقشی در کاهش باکتری‌های اشرشیا کلی و کلی فرم نداشت اما مانع افزایش تعداد آن‌ها در طی ۳۰ روز نگهداری گردیده است. اسید فرمیک و اسید پروپیونیک موجب کاهش باکتری اشرشیاکلی و کلی فرم ($p<0/05$) شدند. همچنین این دو اسید به علت ماهیت اسیدی موجب رشد بیش از حد کپک و مخمر در مقایسه با سوربات پتاسیم شدند. اما سه تیمار یاد شده نقشی در کاهش بارمیکروبی کل ($p>0/05$) نداشته‌اند. تخمیر طبیعی نیز فقط در کاهش اشرشیا کلی و کلی فرم نقش داشته است و در مقایسه با تیمارهای دیگر بار میکروبی کل از روز بعد از تیمار افزایش بسیار شدیدی داشته است. در بین تیمارها، سوربات پتاسیم و اسید فرمیک در حفظ کیفیت بهداشتی آغوز نقش مؤثرتری داشته‌اند. همچنین نتایج حاصل از سنجش آنتی بادی IgG نشان دهنده آن است که نقش سوربات پتاسیم نسبت به دو اسید آلی و تخمیر طبیعی در کاهش میزان آنتی بادی IgG معنی‌دار نبوده است($p>0/05$) و اثر حفاظتی بهتری داشته است. **نتیجه‌گیری نهایی:** سوربات پتاسیم و اسید فرمیک نسبت به اسید پروپیونیک و تخمیر طبیعی نقش بهتری در حفظ خواص و کیفیت آغوز برای نگهداری کوتاه مدت جهت تغذیه گوساله داشته است.

واژه‌های کلیدی: آغوزگاو، آلودگی میکروبی، اسید فرمیک، اسید پروپیونیک، سوربات پتاسیم، آنتی بادی IgG

مقدمه

آغوز مایعی غلیظ و زرد رنگ اسـت که از غدد شیری پستانداران بلافاصله در طی ۲۴ تا ۷۲ سـاعت اولیه بعد از زایمان تولید می‌شـود و موجب رشـد وحفـظ نـوزاد گونه‌های پسـتانداران درمقابل عوامـل بیماریزای مختلف می‌شـود. آغوز (کلستروم) از لحاظ غذایی بسـیار غنی است وشامل مقدار قابل ملاحظه‌ای از عوامل رشـد، عوامـل ضدمیکروبی (لاکتوفرین)، مواد تنظیم‌کننده سیسـتم ایمنـی بدن (کلسـترونینین و پلی‌پپتیدهای غنی از پرولین) و ویتأمین‌ها (A،E،B۱۲) می‌باشـد (۱۵). بیشترین اهمیت آغوز به خاطر داشتن فاکتورهای ایمنی وآنتی‌بادی‌ها به مقدار فراوان می‌باشد (۸،۹). در گاو آنتی‌بادی‌ها قادر به عبور از جفت نمی‌باشند و بنابراین آنتی-بادی‌ها فقط از طریق آغوز به گوساله انتقال می‌یابند (۱۰). امروزه درصنعت پرورش گاوهای شیری تولید مقدار زیاد کلستروم بعد از زایمان یکی از مشکلات به شـمار می‌آید. بر طبق گزارشات موجود هر گاو شیری به طورمتوسط بعداز زایمان ۴۳/۵ kg کلستروم تولید می‌کند که از این مقدار فقط بخشی طی ۳ روز اول بعد از تولد به مصرف گوسـاله می‌رسـد؛ بنابراین قسمتی از آن اضافـی خواهد بود (۱۳). آنتی بادی‌های موجـود در آغوز از جمله IgG به عنوان آنتی بادی غالب نقش مهمی در ایمنی اکتسابی گوساله بعد از زایمان ایفا می‌کند. اما با توجه به غنی بودن کلستروم رشد سریع میکروارگانیسم‌ها موجب کاهش جذب آنتی‌بادی‌های آغوز می‌شود(۳). از جمله باکتری‌های آلـوده کننـده در آغـوز می‌توان بـه باکتری‌هایـی ماننـد مایکوباکتریوم آویوم، مایکوباکتریوم پاراتوبرکلوزیس، سـالمونلا، مایکوپلاسما، لیستریا مونوسیتوجنز، کمپیلوباکترژژونی، مایکوباکتریوم بویس، اشرشیا کلی،کلی فرم‌هـای مدفوعی و اسـتافیلوکوکوس‌اورئوس اشـاره نمـود. این عوامل بیماریـزا علاوه بر ایجاد بیماری در انسـان وحیوان، در جذب آنتی‌بادی در روده کوچـک بـه هنگام مصرف آغوز اختلال ایجـاد می‌کنند. علل ایجاد این اختلال ناشـی از رقابت بین باکتـری وایمنوگلوبولین برای اتصال به پذیرنده‌های سلول‌های اپیتلیال روده ویا اتصال فیزیکی ایمنوگلوبولین به

www.SID.ir
*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۳۱-۳۷۹۳۲۴۶۹، نمابر: ۰۳۱-۳۷۹۳۲۴۵۶ Email: m.rabbani@biol.ui.ac.ir

Archive of SID

باکتری‌های بیماریزا در لومن روده می‌باشد. بدین ترتیب آلودگی میکروبی آغوز در جذب آنتی‌بادی‌های موجود در آن تداخل ایجاد خواهد کرد(۱۸).

استفاده از مواد شیمیایی و نگهدارنده‌ها یکی از راه‌های کنترل تخمیر نامطلوب آغوز است که در افزایش پذیرش آغوز توسط گوساله نقش دارد. با توجه به اهمیت رشد نامطلوب باکتری‌ها در کاهش جذب آنتی بادی موجود در آغوز، لذا جهت تغذیه گوساله با آغوز اضافی استفاده از روشی مناسب و ساده جهت نگهداری آغوز اضافی ضروری به نظر می‌رسد. هدف از انجام این مطالعه بررسی تأثیر اسیدهای آلی شامل اسید پروپیونیک و اسید فرمیک، نگهدارنده سوربات پتاسیم و تخمیر طبیعی در جلوگیری از رشد شاخص‌های میکروبی و محافظت از آنتی بادی IgG برای ذخیره سازی کلستروم اضافی در یک دوره یک ماهه جهت تغذیه گوساله بوده است .

مواد و روش کار

تهیه آغوز: آغوز حاصل از شیر دوشی اولیه بعد از زایمان ۵ گاو نژاد هلشتاین از دامداری صنعتی واقع در یزد به‌طور مجزا و در ظرف‌های استریل جمع‌آوری شد وتحت شرایط مناسب دمایی و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل گردید. بعد از انتقال نمونه آغوز به آزمایشگاه، نمونه در حجم‌های ۲۵۰ ml توسط مزور استریل در ۴ ارلن استریل تقسیم‌بندی شد.

تیمارها و تعداد تکرار: در این آزمایش چهار تیمار و در هر تیمار هم پنج تکرار وجود داشت

آغوز تازه (شاهد)

آغوز با اسید پروپیونیک ۰/۳ ٪ وزنی

آغوز با اسید فرمیک ۰/۳ ٪ وزنی

آغوز با سوربات پتاسیم ۰/۳ ٪ وزنی

آغوز با تخمیر طبیعی

آزمون‌های میکروبی: نمونه آغوز تازه از لحاظ شاخص‌های میکروبی شامل بار میکروبی کل، اشرشیا کلی، باکتری‌های کلی فرم، کپک ومخمر مورد آزمون قرار گرفت. بعد از انجام تیمارهای ذکر شده کلستروم تازه جهت تخمیر طبیعی در دمای ثابت ۳۰ °C نگهداری شد و کلستروم‌های تیمار شده جهت تخمیر کنترل شده در دمای یخچال نگهداری شد. سپس در طی روزهای ۱، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ بعد از تیمار، هر کدام از نمونه‌ها از لحاظ شاخص‌های میکروبی مورد آزمون قرار گرفتند تا روند رشد آن‌ها در طی ۳۰ روز پس از تیمار بررسی شود. برای آزمون میکروبی ابتدا در آزمایشگاه رقت‌های مختلف از آغوز مطابق با استاندارد ملی ایران شماره (۵-۸۹۲۳) تهیه شد.

شمارش بار میکروبی کل: شمارش بارمیکروبی کل با استفاده از محیط کشت(Q-LAB, UK) plate count skim milk agar و به روش پورپلیت انجام شد و پس از ۳روز گرمخانه گذاری در ۳۰ °C طبق استاندارد ملی ایران شماره ۵۴۸۴ شمارش گردید.

شمارش اشرشیاکلی و کلی فرم‌ها: شمارش اشرشیا کلی (محیط‌های کشت) (Q-LAB, UK)، EC broth، lauryl sulphate broth، Tryptone water و کلی فرم‌ها (Q-LAB, UK) (BGB broth)با استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی(MPN) مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۳۴ و ۵۴۸۶-۲ انجام شد.

شمارش کپک ومخمر: شمارش کپک و مخمر با استفاده از روش پورپلیت در محیط کشت(Q-LAB, UK) YGC مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۱۵۴ انجام شد.

سنجش آنتی بادی IgG: برای سنجش غلظت آنتی‌بادی IgG از Whey استفاده می‌شود تا کازئین به‌عنوان عامل مزاحم حذف شود. به منظور بررسی محتوی آنتی بادی IgG از تست آگار ژل ایمنودیفیوژن (SRID) استفاده شد. در این روش از کیت SRID آماده وطراحی شده در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران استفاده شد. پلیت آماده شامل آگارز با غلظت مشخص و مقدار مشخصی از آنتی‌بادی ضد IgG گاوی می‌باشد. در این پلیت چاهک‌هایی با فاصله تقریبی ۲ cm از یکدیگر تعبیه شده است. نمونه‌های استاندارد با دوتکرار و نمونه‌های Whey مربوط به هر تیمار با رقت ۱:۵۰ وهرکدام به مقدار ۱۰ میکرولیتر به ترتیب در چاهک‌ها ریخته شد. سپس پلیت‌ها دردمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند و قطر دایره رسوبی ناشی از تشکیل کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی‌بادی(R) مورد اندازه‌گیری قرارگرفت و مقدار R۲ محاسبه شد. نمودار استاندارد بر اساس مقادیرR۲ نمونه‌های استاندارد وغلظت آن‌ها با استفاده از برنامه آماری Excel ترسیم شد و معادله خط آن به‌دست آمد. سپس مقادیر غلظت آنتی بادی IgG در نمونه‌های آغوز با مشخص بودن R۲ در فرمول معادله خط به‌دست آمده از نمودار استاندارد قرار داده شد و غلظت آنتی‌بادی نمونه‌ها بر حسب mg/ml تعیین شد. سپس مقادیر به‌دست آمده در عکس رقت(۵۰) تأثیر داده شد تا مقادیر واقعی آنتی‌بادی در نمونه‌ها مشخص شود.

آنالیز آماری: اطلاعات به دست آمده توسط برنامه Excel بایگانی و دسته بندی شد. با توجه به پراکندگی زیاد داده‌های میکروبی به منظور نرمال کردن داده‌ها تبدیل لگاریتمی بر روی این داده‌ها انجام شد و سپس برای بررسی اثرات تیمارهای مختلف برروی تغییرات میکروبی و تأثیر تیمارها بر محتوی آنتی‌بادی IgG از نرم افزار SPSS۱۷ استفاده شد. آنالیز آماری مقایسه دوتایی میانگین‌های تغییرات میکروبی در روزهای مختلف یک تیمار با توجه به یکسان بودن نمونه در روزهای مختلف از آزمونPaired Samples T test، نرم افزارSPSS ۱۷/۰ وسطح معنی‌داری $p<0/05$ استفاده شد. آنالیز آماری مقایسه میانگین‌های تغییرات میکروبی بین هر تیمار با آغوز تازه با توجه به منشاء یکسان نمونه آغوز تازه وآغوز تیمار شده با استفاده از آزمون Paired Samples T test ، نرم افزارSPSS ۱۷/۰ وسطح معنی‌داری $p<0/05$ انجام شد. آنالیز آماری مقایسه میانگین‌های تغییرات میکروبی در بین تیمارها با استفاده از آزمون General Liner Model با Repeated Measures، نرم افزار SPSS ۱۷/۰ وسطح

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌داری p<۰/۰۵ انجام شـد. جهت مقایسه بین تیمارها از روش LSD اسـتفاده گردید. به علت وابسـتگی بین نوع تیمار و زمـان پس از تیمار با شاخص‌های آلودگی مورد ارزیابی، از این روش استفاده گردید. آنالیز آماری مقایسـه دوتایی بین آغوز فاقد تیمار با هرکدام از آغوزهای تیمار شـده در مقدار آنتی بادی IgG به روشPaired Samples T test ومقایسـه بین تیمارها با یکدیگربا اسـتفاده از one way ANOVA با روش LSD نرم افزار SPSS۱۷/۰ انجام شد.

نتایج

نتایج آمار توصیفی آغوز تازه فاقد تیمار: نتایج مربوط به ارزیابی کیفیت میکروبی ۵ نمونه آغوز تازه از لحاظ شـاخص‌های اشرشیاکلی، کلی فرم، کپک ومخمر، شمارش میکروبی کل و همچنین غلظت آنتی بادی IgG در جدول۱ ارائه شده است.

بررسـی نمونه‌های آغوز تیمار شده از نظر فاکتورهای میکروبی مورد آزمـون در طـی روزهـای ۱، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ پس از تیمـار: نتایج حاصل از سـنجش شـاخص‌های میکروبی در نمونه‌های آغوز تیمار شده (سوربات پتاسـیم۰/۳ ٪، اسـید پروپیونیک ۰/۳ ٪، اسـید فرمیک۰/۳ ٪، و تخمیر طبیعی) در روزهای۱، ۱۰، ۲۰و۳۰ بعد از تیمار در جدول ۲ ارائه شده است. در این جدول مقادیر حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف استاندارد (SD) مربوط بـه هر کدام از این شـاخص‌ها در روزهای مختلـف و همچنین تیمارهای مختلف بیان شده است.

مقایسه بین میانگین‌های هر شـاخص میکروبی در روزهای مختلف تیمارهـای متفاوت (مقایسـه بین میانگیـن بار میکروبـی کل در روزهای مختلف تیمارهای متفاوت): نتایج جدول ۲ نشـان دهنده آن اسـت که در تیمارهای اسـید پروپیونیک، اسید فرمیک و سوربات پتاسیم بار میکروبی کل در طی سی روز به صورت تدریجی افزایش یافته است (p <۰/۰۵)، در حالیکه تخمیر طبیعـی در روز اول بعد از تیمار افزایش معنی‌داری را در بار میکروبی کل نشـان می‌دهد و سـپس در طی روزهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ بعد از تیمار این افزایش ادامه داشته است (p <۰/۰۵) به گونه‌ای که در پایان روز ۳۰ بالاترین بار میکروبی مربوط به تیمار تخمیر طبیعی بوده است. نمودار میانگین تغییرات بار میکروبی در طی ۳۰ روز در تیمارهای مختلف در تصویر ۱ آورده شده است.

مقایسـه بین میانگین اشرشـیا کلی و کلی فـرم در روزهای مختلف تیمارهای متفاوت: نتایج جدول ۲ نشـان می‌دهد که نگهدارنده سـوربات پتاسـیم در طی ۳۰ روز ذخیره سـازی کلسـتروم مانع از افزایش معنی‌دار باکتری‌های کلی فرم و اشرشیا کلی شده است (p>۰/۰۵). اسیدهای آلی فرمیک و پروپیونیک علاوه بر ممانعت از افزایش این باکتری‌ها در کاهش آن‌ها نیز در طی سـی روز نقش داشـته اند (p<۰/۰۵). در حالیکه تخمیر طبیعـی تا روز ۱۰ پس از تیمـار موجب افزایش معنی‌دار باکتری‌های کلی

جدول ۱. نتایج شـاخص‌های میکروبی در۵ نمونه آغوز تازه فاقد تیمار (بر حسـب log۱۰ cfu/ml) و غلظـت آنتـی بـادی IgG (برحسـب mg/ml) TC: شـمارش بـار میکروبی کل، EC: اشرشیاکلی، CC: کلی فرم، MY: کپک و مخمر.

پارامتر میکروبی / نمونه	TC	EC	CC	MY	IgG
نمونه۱	۵/۶۹	۱/۴۴	۱/۸۷	۲/۰۰	۶۱/۷۰
نمونه۲	۶/۹۰	۲/۰۴	۲/۹۰	۲/۴۷	۶۵/۶۳
نمونه۳	۵/۷۷	۱/۴۳	۱/۶۹	۱/۹۰	۶۱/۵۰
نمونه۴	۵/۹۲	۱/۳۰	۱/۸۴	۱/۶۹	۵۴/۷۲
نمونه۵	۴/۴۳	۲/۰۴	۲/۶۰	۲/۳۰	۵۸/۲۰
میانگین	۵/۷۴	۱/۶۵	۲/۱۸	۲/۰۷	۶۰/۳۵

فرم و اشرشـیا کلی شـده است و سـپس به دلیل بالا رفتن اسیدیته آغوز بـه دلیل تخمیر نامطلوب موجب کاهش معنـی‌دار این باکتری‌ها گردیده است(p <۰/۰۵). نمودار میانگین تغییرات شاخص‌های اشرشیاکلی و کلی فـرم در طـی ۳۰ روز در تیمارهای مختلف به ترتیب در تصویر ۲ و ۳ آورده شده است.

مقایسـه بیـن میانگین کپک ومخمـر در روزهای مختلـف تیمارهای مختلف: نتایج نشان می‌دهد تا روز ۲۰ پس از تیمار سوربات پتاسیم افزایش معنی‌دار در تعداد کپک و مخمر مشاهده نشد(p>۰/۰۵) در حالی‌که از روز بیسـتم تا سی ام کپک و مخمر شـروع به افزایش معنی‌دار نمودند که در مقایسـه با سایر تیمارها این افزایش آهسـته تر بوده است. شاخص کپک و مخمر در نمونه‌های تیمار شـده با اسـید پروپیونیک و اسـید فرمیک در روزهای مختلف به تدریج افزایش یافته است در حالیکه در تخمیر طبیعی ایـن افزایـش به صورت صعودی در روز اول پس از تیمار مشـاهده شـده اسـت(p<۰/۰۵) و این افزایش تا روز ۲۰ پس از تیمار ادامه داشـته است و بعد از آن کاهش معنی‌دار در تعداد کپک و مخمر مشاهده شده است. نمودار میانگین تغییرات شاخص کپک ومخمردر طی ۳۰ روز در تیمارهای مختلف در تصویر ۴ آورده شده است.

مقایسـه بین میانگین شـاخص‌های میکروبی در روز۱و۳۰ هر تیمار بـا میانگین‌های شـاخص‌های میکروبی آغوز تازه: مقایسـه بین میانگین شـاخص‌های میکروبی در روز ۱و ۳۰ هر تیمار با میانگین شـاخص‌های میکروبی اشرشیاکلی، کلی فرم، بار میکروبی کل و کپک ومخمر به تفکیک در جدول۳ آورده شده است.

شاخص میکروبی اشرشیاکلی: در مقایسه با آغوز تازه، سوربات پتاسیم مانع از افزایش تعداد اشرشـیا کلی در طی ۳۰ روز بوده است (p>۰/۰۵) و تیمار با اسـید فرمیک و اسید پروپیونیک موجب کاهش معنی‌دار اشرشیا کلی در طی ۳۰ روز گردیده اسـت(p<۰/۰۵). در تخمیر طبیعی در طی روز اول افزایش معنی‌دار درتعداد اشرشیا کلی نسبت به آغوز تازه دیده شد، اما در طی ۳۰ روز نگهداری این تعداد به علت افزایش زیاد اسـیدیته درحدی کاهش یافته که کمتر از تعداد آن در آغوز تازه گردیده است(p<۰/۰۵)

شـاخص میکروبی کلی فرم: تیمار با سوربات پتاسیم هیچ تأثیری در

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲. میانگین شاخصهای میکروبی برحسب(cfu/ml log۱۰) در نمونه‌های کلستروم تیمار شده(سوربات پتاسیم۰/۳ ٪، اسید فرمیک۰/۳ ٪، اسید پروپیونیک ۰/۳ ٪ و تخمیر طبیعی در طی روزهای ۲۰، ۱۰، ۱ و ۳۰ بعد از تیمار و میانگین غلظت آنتی بادی برحسب IgG (mg/ml) بعد از روز ۳۰. حروف غیرهمنام در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵در بین میانگین روزهای مختلف هر شاخص میکروبی مربوط به یک تیمار می‌باشد. مقادیر حداکثر و حداقل در زیر میانگین در پرانتز آورده شده است. TC: شمارش بار میکروبی کل، EC: اشرشیاکلی، CC: کلی فرم، MY: کپک و مخمر،ND: Not Detected و *: انحراف استاندارد (SD).

شاخص و روز بعد از تیمار		نوع تیمار کلستروم			
		تخمیر طبیعی	اسید پروپیونیک ۰/۳ ٪	اسید فرمیک۰/۳ ٪	سوربات پتاسیم ۰/۳ ٪
EC	روز۱	۵/۶۴±۰/ ۴۸[a*] (۵/۰۴ -۶/۱۸)	۲/۱۸±۰/۶۲ [a] (۱/۳۶ -۳/۰۴)	۱/۴۳±۰/۵۶ [a] (۰/۶ -۲/۰۴)	۱/۲۸±۱/۰۲۸ [a] (ND -۲/۸۸)
EC	روز۱۰	۶/۴۰±۰/۵۶ (۶/۰۴ -۷/۳۲)	۰/۹۹±۰/۷۷ [b] (۰/۳۶ -۲/۳۰)	۱/۱۹±۱/۴۳ [a] (ND -۳/۶۶)	۱/۳۳±۱/۲۵ [a] (ND -۳/۳۸)
EC	روز۲۰	۳/۲۸±۱/۰۱[c] (۲/۰۴ -۴/۸۷)	۰/۸۴±۱/۰۲ [b] (ND -۰/۶۷)	۰/۹۶۷±۱/۱۵ [a] (ND -۲/۹۶)	۱/۱۹±۰/۸۶ [a] (۰/۴۸ -۲/۶۳)
EC	روز۳۰	۰/۹۹±۰/۵۲ [d] (۰/۴۸ -۱/۸۸)	۰/۴۱±۰/۶۹ [b] (ND -۱/۶۰)	۰/۳۹±۰/۴۳ [b] (ND -۱/۰۴)	۰/۹۷±۰/۸۷ (ND -۲/۳۰)
CC	روز۱	۶/۱۹±۰/۶۵ [a] (۵/۳۰ -۶/۸۶)	۲/۸۹±۰/۶۱ [a] (۲/۳۶ -۳/۹۰)	۲/۵۴±۰/۴۸ [a] (۲/۰۰ -۳/۳۰)	۲/۰۳±۰/۵۶ [a] (۱/۶۰ -۳/۰۰)
CC	روز۱۰	۶/۸۳±۰/۴۱ [b] (۶/۴۸ -۷/۳۸)	۱/۷۰±۰/۴۳ [b] (۱/۳۰ -۲/۳۰)	۲/۰۶±۱/۴۴ [a] (ND -۴/۰۴)	۱/۶۹۸±۱/۲۲ [a] (۰/۴۸ -۳/۶۶)
CC	روز۲۰	۳/۷۳±۰/۹۹ [c] (۲/۶۴ -۴/۹۵)	۱/۴۲±۰/۳۷ [c] (۱/۰۰ -۱/۹۵)	۱/۶۵±۱/۱۳ [b] (ND -۳/۱۸)	۱/۸۳±۰/۷۴ [a] (۰/۸۶ -۲/۹۰)
CC	روز۳۰	۱/۱۳±۰/۶۱ [d] (۰/۴۸ -۲/۰۸)	۱/۸۹±۰/۳۲ [bc] (۱/۴۸ -۲/۳۶)	۰/۹۵±۰/۵۷ [b] (ND -۱/۴۸)	۱/۴۷±۰/۹۶ [a] (ND -۲/۶۳)
MY	روز۱	۵/۴۵±۰/۴۱ [a] (۵/۰۰ -۶/۰۸)	۲/۷۴±۰/۳۴ [a] (۲/۳۰ -۳/۰۸)	۲/۵۸±۰/a۵۴ (۲/۰۰ -۳/۴۸)	۲/۳۵±۰/۳۸ [a] (۲/۰۰ -۲/۹۵)
MY	روز۱۰	۶/۵۸±۰/۲۷ [b] (۶/۳۰ -۶/۹۰)	۴/۳۶±۰/۵۲ [b] (۳/۷۰ -۴/۹۵)	۴/۲۸±۰/۷۸ [b] (۳/۴۸ -۵/۳۶)	۲/۴۰±۰/۲۶ [a] (۲/۱۸ -۲/۷۰)
MY	روز۲۰	۷/۷۳±۰/۲۷ [c] (۷/۳۸ -۸/۴۸)	۵/۸۴±۰/۶۶ [c] (۶/۹۰ -۶/۷۸)	۴/۸۳±۰/۸۷ [c] (۳/۹۵ -۵/۹۵)	۳/۷۸±۰/۴۷ [b] (۳/۴۸ -۳/۹۵)
MY	روز۳۰	۵/۶۳±۰/۳۶ [a] (۵/۳۰ -۶/۲۰)	۶/۲۴±۰/۴۵ [c] (۵/۷۰ -۶/۷۸)	۵/۵۳±۰/۸۸ [d] (۴/۴۵ -۶/۴۸)	۳/۴۷±۰/۵۸ [b] (۲/۷۸ -۳/۷۷)
TC	روز۱	۸/۸۱±۰/۷۲ [a] (۷/۹۲ -۹/۹۳)	۵/۶۶±۱/۰۳ [a] (۴/۴۱ -۶/۷۳)	۵/۳۳±۰/۷۸ [a] (۴/۴۶ -۶/۴۱)	۵/۱۳±۰/۷۶ [a] (۴/۳۰ -۶/۳۴)
TC	روز۱۰	۹/۳۰±۰/۷۱ [b] (۸/۳۴ -۱۰/۱۵)	۶/۷۳±۰/۸۳ [b] (۵/۹۵ -۸/۰۰)	۵/۸۵±۰/۶۹ [a] (۵/۰۰ -۶/۹۰)	۶/۱۱±۰/۴۶ [b] (۵/۷۰ -۶/۸۵)
(۵/۷۰ -۶/۸۵)	روز۲۰	۹/۵۹±۰/۲۷ [c] (۹/۳۰ -۹/۹۵)	۷/۶۹±۰/۷۹ [bc] (۷/۰۰ -۸/۹۴)	۶/۷۲±۰/۶۸ [b] (۶/۱۵ -۷/۸)	۸/۱۳±۰/۵۹ [c] (۷/۶۲ -۸۲/۸۵)
TC	روز۳۰	۹/۵۳±۰/۲۶ [d] (۹/۲۰ -۹/۹۰)	۸/۵۰±۰/۶۸ [d] (۷/۷۵ -۹/۴۰)	۸/۵۴±۰/۶۹ [c] (۷/۷۸ -۹/۵۱)	۹/۰۸±۰/۷۴ [d] (۷/۹۵ -۹/۹۰)
IgG	روز۳۰	۳۱/۵۳±۶/۹۷ (۲۵/۷۰-۴۷/۵۳)	۲۷/۹۷±۶/۸۷ (۲۱/۲۰ -۳۸/۵۶)	۳۶/۰۵±۹/۵۴ (۴۸/۲۰ -۲۴/۷۰)	۴۹/۲۷±۱۱/۴۴ (۳۸/۵۶ -۶۱/۷۰)

کاهش تعداد کلی‌فرم نداشته است اما از افزایش تعداد آن نیز ممانعت به عمل آورده است($p>0/05$) در تیمار با اسید فرمیک و اسید پروپیونیک بین آغوز تازه و روز اول افزایشی معنی‌دار در تعدادکلی‌فرم دیده شد و سپس تعداد آن کاهش یافت ، به طوری در روز ۳۰ در مقایسه با آغوز تازه کاهش معنی‌داری در تعداد کلی فرم مشاهده شده است($p<0/05$). در فرآیند تخمیر طبیعی در طی روز اول افزایش معنی‌دار درتعداد کلی‌فرم نسبت به آغوز تازه دیده شد، اما در طی ۳۰ روز نگهداری این تعداد به علت افزایش زیاد اسیدیته درحدی کاهش یافته که کمتر از تعداد آن در آغوز تازه گردیده است ($p<0/05$).

شاخص کپک ومخمر: در بین تیمارها فقط سوربات پتاسیم در مقایسه با آغوز تازه مانع از افزایش معنی‌دار کپک و مخمر شده است و فقط در روزهای پایان دوره ذخیره سازی مقدار کپک و مخمر به طور معنی‌دار افزایش یافت که در مقایسه با سه تیمار دیگر این افزایش ناچیز بوده است.

شاخص بارمیکروبی کل: همانگونه که در جدول ۳ نشان داده شده است هیچ کدام از تیمارها در جلوگیری از افزایش بار میکروبی نمونه‌های تیمار شده در طی ۳۰ روز نقشی نداشته اند و افزایش معنی‌دار در بار میکروبی کل مشاهده شده است ($p<0/05$).

مقایسه بین میانگین تیمارها با یکدیگر (مقایسه بین میانگین تیمارها

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳. مقایسه بین میانگین مقادیر شاخص‌های میکروبی روزهای ۱و ۳۰ هر کلستروم تیمار شده با کلستروم تازه و غلظت آنتی بادی IgG در روز۳۰ پس از تیمار با کلستروم تازه. حروف غیرهمنام در هر سطر نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح۰/۰۵،در بین میانگین کلستروم تازه با روزهای ۱و ۳۰ هر تیمار می‌باشد. TC: شمارش بار میکروبی کل، EC: اشرشیاکلی، CC: کلی فرم، MY: کپک و مخمر.

شاخص‌های میکروبی	کلستروم تازه	نوع تیمار: تخمیر طبیعی		اسید پروپیونیک ۰/۳ ٪		اسید فرمیک ۰/۳ ٪		سوربات پتاسیم ۰/۳ ٪	
		روز۱	روز ۳۰	روز۱	روز ۳۰	روز۱	روز ۳۰	روز۱	روز ۳۰
TC	۵/۷۴ a	۸/ ۸۱ c	۹/۵۳ d	۵/۶۶ a	۸/۵۰ c	۵/۳۳ b	۸/۵۴ c	۵/۱۳ b	۹/۰۸ c
EC	۱/۶۵ a	۵/۶۴ c	۰/۹۹ b	۲/۱۸ a	۰/۴۱ b	۱/۴۳ a	۰/۳۹ b	۱/۲۸ a	۰/۹۷ a
CC	۲/۱۸ a	۶/۱۹ c	۱/۱۳ b	۲/۸۹ c	۱/۸۹ a	۲/۵۴ a	۰/۹۵ b	۲/۰۳ a	۱/۴۷ a
MY	۲/۰۷ a	۵/۴۵ c	۵/۶۳ c	۲/۷۴ b	۶/۲۴ c	۲/۵۸ b	۵/۵۳ c	۲/۳۵ a	۳/۴۸ b
IgG	۶۳/۳۵ a	-	۳۱/ ۵۳ c	-	۲۷/۹۷ c	-	۳۶/۰۵ b	-	۴۹/۲۷ a

جدول۴. نتایج حاصل از آمار توصیفی مقدار آنتی بادی IgG در آغوز تازه وتیمار شده (مقادیر برحسب mg/ml است).

تیمار	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	تعداد نمونه
فاقد تیمار	۵۴/۷۰	۶۵/۷۰	۶۰/۴	۴/۱۵	۵
تخمیر طبیعی	۲۵/۷۰	۴۱/۳۶	۳۱/۵۳	۶/۹۷	۵
سوربات پتاسیم	۳۸/۵۶	۶۱/۷	۴۹/۲۷	۱۱/۴۴	۵
اسید پروپیونیک	۲۱/۲۰	۳۸/۵۶	۲۷/۹۷	۶/۸۷	۵
اسید فرمیک	۲۴/۷۰	۴۸/۲۰	۳۶/۰۵	۹/۵۴	۵

از نظر شاخص میکروبی اشرشیا کلی): نتایج حاصل از این مقایسه حاکی ازآن است که تیمارها به ترتیب زیر در کاهش اشرشیاکلی نقش داشته‌اند.

اسیدفرمیک> اسید پروپیونیک> سوربات پتاسیم>تخمیر طبیعی

مقایسه بین میانگین تیمارها از نظر شاخص میکروبی کلی‌فرم: نتایج حاصل از این مقایسه حاکی ازآن است که تیمارها به ترتیب زیر در کاهش کلی‌فرم نقش داشته‌اند.

اسیدفرمیک> تخمیر طبیعی >سوربات پتاسیم ≥ اسید پروپیونیک

مقایسه بین میانگین تیمارها از نظر شاخص کپک ومخمر: نتایج حاصل از این مقایسه حاکی ازآن است که تیمارها به ترتیب زیر در کاهش کپک ومخمر نقش داشته‌اند.

سوربات پتاسیم > اسید فرمیک ≥ اسیدپروپیونیک >تخمیر طبیعی

مقایسه بین میانگین تیمارها از نظر شاخص بارمیکروبی کل: نتایج حاصل از این مقایسه حاکی ازآن است که تیمارها به ترتیب زیر در کاهش بارمیکروبی کل نقش داشته‌اند.

اسید فرمیک> اسیدپروپیونیک > سوربات پتاسیم> تخمیر طبیعی

بررسی نتایج حاصل از مقایسه آنتی بادی IgG درنمونه‌های آغوز تازه وتیمار شده: نتایج اولیه حاصل از اندازه‌گیری IgG با استفاده از کیت SRID در نمونه آغوز فاقد تیمار و نمونه‌های آغوز تیمار شده بعد از ۳۰ روز از لحاظ آمار توصیفی مورد بررسی قرار گرفت و مقادیر حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار در جدول۴ ارائه شده است

مقایسه بین میانگین‌های تیمارها با آغوز فاقد تیمار از نظر مقدار IgG: نتایج به‌دست آمده از مقایسه بین میانگین‌ها با آغوز فاقد تیمار، نشان‌دهنده آن است که به استثنای سوربات پتاسیم($p > ۰/۰۵$) بقیه تیمارها شامل اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و تخمیر طبیعی موجب کاهش معنی‌دار مقدار آنتی‌بادی IgG شدند ($p < ۰/۰۵$).

مقایسه بین میانگین‌های تیمارها با یکدیگر از نظر مقدار IgG: نتایج به‌دست آمده از مقایسه بین میانگین‌ها با یکدیگر، نشان‌دهنده آن است که تیمار سوربات پتاسیم کمترین تأثیر و اسید پروپیونیک بیشترین تأثیر منفی در مقدار آنتی بادی IgG داشته‌اند.

نتایج حاصل از این مقایسه حاکی ازآن است که تیمارها به ترتیب زیر در کاهش مقدار آنتی بادی IgG نقش داشته‌اند.

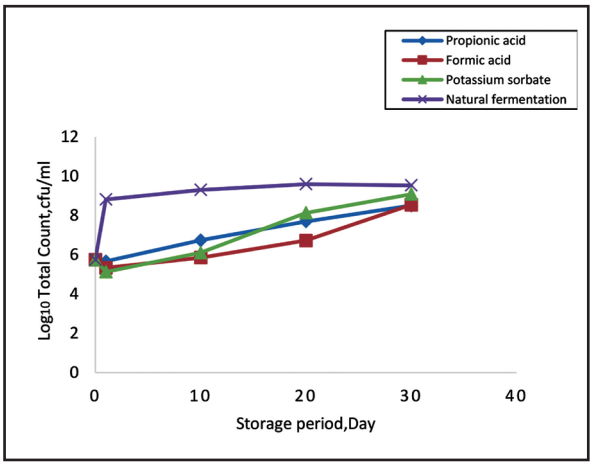
سوربات پتاسیم> اسیدفرمیک > تخمیر طبیعی ≥ اسید پروپیونیک

بحث

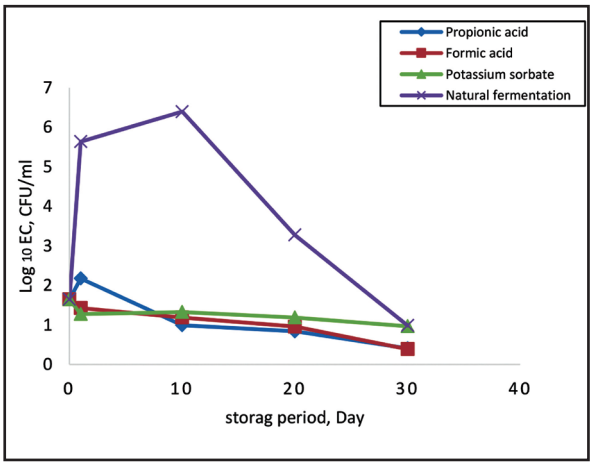
آغوز گاوی اولین شیر تولید شده توسط غدد شیری در طی ۲۴ تا ۷۲ ساعت اولیه پس از زایمان می‌باشد. آغوز به عنوان غذای حیات-بخش در طی روزهای اول پس از تولد گوساله نقش مهمی در رشد جسمی و تکامل سیستم ایمنی بازی می‌کند (۱). این ماده مغذی علاوه برداشتن مقدار بالاتری از مواد مغذی و ایمنوگلوبولین‌ها نسبت به شیرگاو، شامل مقدار زیادی فاکتورهای رشد و مواد زیستی فعال و ضدمیکروبی (لاکتوفرین، پروستاگلاندین، لاکتوپراکسیداز، لیزوزیم و...) می‌باشد (۷). اگرچه فاکتورهای ایمنی موجود در آغوز برای سلامتی بسیار مهم وضروری هستند، اما آلودگی میکروبی آغوز ممکن است تأثیر منفی بر روی فوائد آن داشته باشد. این عوامل بیماریزا علاوه بر ایجاد بیماری، در جذب آنتی‌بادی در روده کوچک به هنگام مصرف آغوز اختلال ایجاد می‌کنند. علل ایجاد

www.SID.ir

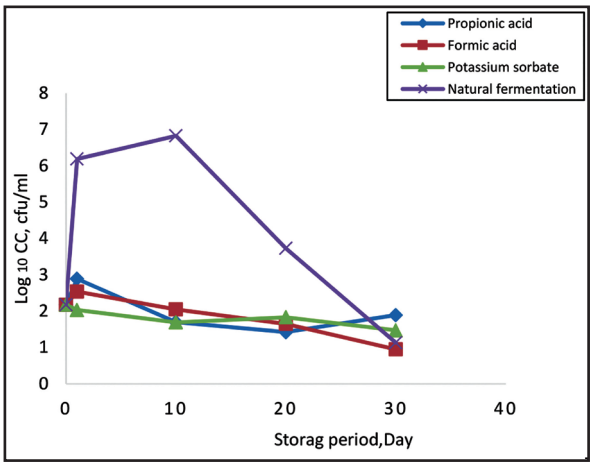
Archive of SID



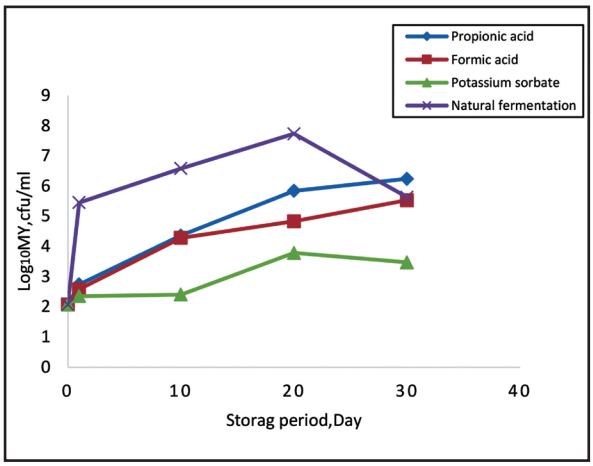
تصویر۱. تأثیر تیمارها(اسید پروپیونیک۰/۳ ٪، اسید فرمیک۰/۳ ٪، سوربات پتاسیم ۰/۳ ٪ و تخمیر طبیعی بر روی میانگین شمارش میکروبی کل(log۱۰) در طی روزهای ۲۰، ۱۰، ۱ و ۳۰ پس از تیمار درمقایسه با کلستروم تازه.



تصویر۲. تأثیر تیمارها(اسید پروپیونیک۰/۳ ٪، اسید فرمیک۰/۳ ٪، سوربات پتاسیم ۰/۳ ٪ و تخمیر طبیعی بر روی میانگین شمارش اشرشیاکلی(log۱۰)(EC) در طی روزهای ۲۰، ۱۰، ۱ و ۳۰ پس از تیمار درمقایسه با کلستروم تازه.



تصویر۳. تأثیر تیمارها(اسید پروپیونیک۰/۳ ٪، اسید فرمیک۰/۳ ٪، سوربات پتاسیم ۰/۳ ٪ و تخمیر طبیعی بر روی میانگین شمارش کلی فرم (log۱۰) (CC) در طی روزهای ۲۰، ۱۰، ۱ و ۳۰ پس از تیمار درمقایسه با کلستروم تازه.



تصویر۴. تأثیر تیمارها(اسید پروپیونیک۰/۳ ٪، اسید فرمیک۰/۳ ٪، سوربات پتاسیم ۰/۳ ٪ و تخمیر طبیعی بر روی میانگین شمارش کپک ومخمر (log۱۰)(MY) در طی روزهای ۲۰، ۱۰، ۱ و ۳۰ پس از تیمار درمقایسه با کلستروم تازه.

این اختلال ناشی از رقابت بین باکتری و ایمنوگلوبولین برای اتصال به رسپتورهای سلول‌های اپیتلیال روده ویا اتصال فیزیکی ایمنوگلوبولین به باکتری‌های پاتوژن در لومن روده می‌باشد. بدین ترتیب آلودگی میکروبی آغوز در جذب آنتی‌بادی‌های موجود در آن تداخل ایجاد خواهد کرد (۱۷). باکتری‌های آلوده کننده آغوز با تولید پروتئازها موجب تقلیب شدن و از بین رفتن پروتئین‌های آغوز می‌شوند (۴). لذا توجه به آلودگی آغوز با توجه به اهمیت آن جهت تغذیه گوساله بسیار منطقی به نظر می‌رسد اما تحقیقات اندکی در رابطه با آلودگی میکروبی آغوز وجود دارد (۵). در صنعت پرورش گاوهای شیری تولید اضافی آغوز بعد از زایمان یکی از مشکلات به شمار می‌آید و بخش اندکی از آغوز تولید شده به مصرف گوساله می‌رسد. بنابراین باقیمانده آغوز به‌طور عمومی فاسد می‌شود(۱۳). امروزه جهت نگهداری آغوز به‌منظور ذخیره غذایی دام ویا تجاری سازی برای مصارف انسانی در مدت زمان کوتاه و یا طولانی، از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. در این تحقیق به منظور سنجش تأثیر روش‌های مختلف ذخیره سازی بر روی شاخص‌های میکروبی مهم و همچنین تأثیر این روش‌ها بر محتوی آنتی بادی IgG ، تعداد ۵ نمونه آغوز گاو از نژاد هلشتاین از دامداری صنعتی جمع آوری گردید و سپس نمونه‌ها بعد از انجام تیمار در طی روز ۱، ۱۰، ۲۰ و ۳۰بعد از تیمار از لحاظ شاخص‌های میکروبی اشرشیاکلی، کلی‌فرم، بارمیکروبی کل، کپک‌ومخمر، مورد آزمون میکروبی قرارگرفتند. سپس روند تغییرات میکروبی بین این روش‌ها با یکدیگر و با آغوز اولیه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از ذخیره سازی آغوز با مواد شیمیایی اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و نگهدارنده سوربات پتاسیم نشان داد که سوربات پتاسیم نقشی در کاهش باکتری اشرشیاکلی وکلی‌فرم نداشته است، اما از افزایش تعداد آن نیز جلوگیری به عمل آورده است. اسید فرمیک واسید پروپیونیک هر دو در طی ۳۰ روز در کاهش باکتری اشرشیاکلی نقش داشته‌اند و این به خاطر افزایش اسیدیته وکاهش pH و در نتیجه حساسیت باکتری اشرشیاکلی به pH پایین می‌باشد. به طور میانگین pH بین ۴ تا ۴/۵ بوده است. اسید فرمیک، اسید پروپیونیک وسوربات پتاسیم نتوانسته‌اند از

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش بار میکروبی آغوز جلوگیری کنند. اسید فرمیک و سوربات پتاسیم فقط در روزهای آغازین تا حدودی مانع افزایش بار میکروبی شدند. به علت ماهیت اسیدی اسید فرمیک واسید پروپیونیک وهم‌چنین مساعد بودن رشد کپک ومخمردر شـرایط اسـیدی، تعداد کپک ومخمر افزایش معنی‌داری درآغوزهای تیمار شـده با این دو ماده داشت. سوربات پتاسیم تا حد زیادی توانسـته است از رشـد کپک ومخمر جلوگیری کند. علاوه براین تحقیق، Naserian در سال ۱۹۹۴ به بررسی نقش اسید پروپیونیک با درصد وزنی ۱٪ در محافظـت ازپروتئین‌های آغوز در طـی ۳۰ روز نگهداری در دمای ثابت ۳۰° پرداخته است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داده است اسید پروپیونیک در کنترل روند تخمیر وحفاظت از پروتئین‌های آغوز با جلوگیری از رشد باکتری‌ها وتجزیه پروتئین به مواد ازته غیر پروتئینی، نقش مؤثری داشته است. در این تحقیق pH در طی ۳۰ روزتیمار تقریباً برابر ۴/۵-۴ ثابت بود و بنابراین اسید پروپیونیک توانسته است مانع از تخمیر نامطلوب آغوز در اثر رشد باکتری‌هاشود. در اثر تخمیر نامطلوب برخی از ترکیبات آغوز به صورت گاز از محیط خارج و باعث کاهش مواد جامد آغوز می‌شود (۱۳). در سـال ۱۹۷۷ Muller and smallcomb نشـان دادند که افزودن مواد شیمیایی مانند اسید پروپیونیک واسید فرمیک(۱٪) از رشد کلی‌فرم در طی ۱۴روز ذخیره سازی در دمای ۳۲° جلوگیری می کند (۱۴). در تحقیق دیگری که توسطCollings و همکارانش در سال ۲۰۱۱ انجام شد به بررسی تأثیر اسید فرمیک در محافظت از آنتی بادی IgG و بار میکروبی نمونه آغوز گاو جهت تغذیه گوسـاله‌ها پرداخته شـد که در این تحقیق گزارش شده است که اسـید فرمیک در کاهش بارکلی میکروارگانیسـم‌ها در آغوز تیمار شده نسبت به آغوز تیمار نشده در طی ۲۴ ساعت پس از نگهداری تأثیر داشته اسـت تعداد بار میکروبی در طی ۲۴ ساعت پس از نگهداری در آغوز تیمار نشده ۲×۱۰^{۸} و در آغوز تیمار شده $۵/۴\times۱۰^{۲}$ بوده است و تعداد کلی فرم در طی ۲۴ ساعت در آغوز تیمار نشده افزایش داشته در حالیکه در آغوز تیمار شـده با اسید فرمیک بعد از ۲۴ ساعت کلی فرم مشاهده نشده است(۲)که با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، در روز اول بعد از تیمار مطابقت دارد. Thampson و همکارش در سـال ۱۹۷۶ در طی تحقیقی نشـان دادند افزودن اسـید پروپیونیک می‌تواند موجب تاخیر در افزایش تعداد کلی‌فرم شـود، اما فقط اسـید پروپیونیک با درصد وزنی۱ تا ۱/۵ ٪ می‌تواند به‌طور مؤثری در کاهش رشـد باکتری‌های کلی‌فرم در طی ۲۸ روز تخمیر نقش داشته باشد در حالی‌که در این تحقیق اسید پروپیونیک با درصد وزنی ۰/۳ ٪ نیز در کاهش اشرشیاکلی و کلی فرم نقش داشته است. علاوه براین نشان دادند که تعداد کپک بعد از ۱۰ روز از شروع تخمیر کاهش یافت، اما تعداد مخمر تا روز ۲۱ بعد از تخمیر نیزهم‌چنان به رشد خود ادامه داد (۱۹) که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. Kaya و همکاران در سال ۲۰۰۳ با بررسی افزودن اسید فرمیک به آغوز، به این نتیجه رسیدند که با اسیدی کردن آغوز بلافاصله بعد از دوشش و نگهداری آن در یخچال می‌توان ارزش تغذیه‌ای آن را بـا جلوگیـری از تکثیر میکروب‌ها حفظ نمـود (۶). در فرآیند تخمیر طبیعـی در ابتدا تا روز ۱۰ سـیر صعودی در تعداد اشرشـیا وکلی‌فرم وجود داشـت، اما بعد از آن تا روز ۳۰ سیر نزولی در تعداد اشرشیا وکلی‌فرم وجود داشـت به‌گونه‌ای که در پایان روز ۳۰ تعـداد این باکتری‌ها به کمتر از حد اولیه قبل از تیمار رسیده بود. به نظر می‌رسد علت این پدیده کاهش pH و افزایش اسیدیته بوده باشد که به عنوان مشخصه منفی در رشد باکتری‌های روده‌ای محسـوب می‌شـود. بار میکروبی کل تـا روز ۲۰ در فرآیند تخمیر طبیعی افزایش شـدید داشته به‌گونه‌ای که تا حدود $۱۰^{۱۰}$ -$۱۰^{۹}$ باکتری در هر میلی لیتر مشـاهده شـد، ولی بعد از آن به مقدار بسیار کمی کاهش در بار میکروبی وجود داشـت. در فرآیند تخمیر طبیعی به علت ایجاد محیط اسـیدی افزایش در تعداد کپک ومخمرتا روز ۱۰ وجود داشـت سپس این تعداد در محدوده $۱۰^{۵}$ تا $۱۰^{۶}$ ثابت شد. بنابراین تخمیر طبیعی فقط درکاهش اشرشیاکلی وکلی‌فرم بعد از گذشت زمان و به دلیل افزایش اسیدیته نقش داشت اما نتوانسته از کاهش بار میکروبی وکپک ومخمر جلوگیری کند(۱۲). از سـوی دیگر در تحقیقی که از سـوی Saalfeldو همکارانش در سـال ۲۰۱۳ صورت گرفت مشخص شد که تخمیر آغوز در شرایط بی‌هوازی بعد از ۱۴ روز پس از نگهداری کلستروم موجب از بین رفتن اشرشیا کلی شده است اما تعداد باکتریهای لاکتوباسیلوس افزایش یافت(۱۶). از سوی دیگر دراین تحقیق به بررسی تأثیر تیمارها بر محتوی آنتی‌بادی IgG پرداخته شد و با مقایسه مقدار آنتی بادی IgG در آغوز فاقد تیمار وآغوزهای تیمار شده مشخص شد که فقط تیمار با ماده نگهدارنده سوربات پتاسیم تأثیر زیادی در کاهش وآسیب آنتی‌بادی IgG نداشت. اما مقایسه بین تیمارها نشان داد که اسید فرمیک نسبت به اسید پروپیونیک کمتر به ساختار آنتی‌بادی آسیب رسانده است. Schipper و همکارانش در سال ۱۹۸۱ به بررسی اثر تخمیر طبیعی، اسـید فرمیک، اسـید پروپیونیک بر روی غلظت آنتی‌بادی IgG پرداختند. نتایج حاصل از سنجش آنتی‌بادی نشان داد اسید فرمیک از روز ۲۸ به بعد موجب کاهش در غلظت ایمنوگلوبولین می‌گردد. درفرایند تخمیر طبیعی در روزهای نخست کاهشی نسبتا خفیف در آنتی‌بادی IgG دیده شد وسپس در مقدار ثابت باقی ماند، اما اسید پروپیونیک از همان ابتدا موجب کاهش آنتی بادی گردید و این‌گونه نتیجه‌گیری شد که تیمارها به ترتیب اسید فرمیک> تخمیر طبیعی> اسید پروپیونیک در حفظ آنتی‌بادی IgG مؤثر می‌باشـند واین نتیجه با نتایج به‌دسـت آمده در این تحقیق مطابقت دارد(۱۸). هم‌چنین Mbuthia و همکارانش در سـال ۱۹۹۸ به بررسی اثر فرمالدهید واسـید فرمیک ۱٪ بر روی آنتی‌بادی IgG در آغوز گاو پس از ۴ هفته بعد از تیمار و مقایسـه با نمونه تیمار نشده پرداختند. نتایج به‌دست آمده نشان داد که اسید فرمیک موجب کاهش نسبتا زیاد در مقدار آنتی‌بادی IgG1 وکاهش کمتر در IgG2 می‌شود ولی در نمونه تیمارشده با فرمالدهید به طور نسـبی تغییری در آنتی‌بادی ایجاد نشـد (۱۱). با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد برای نگهداری بهتر آغوز در مدت زمان طولانی

www.SID.ir

Archive of SID

و حفظ کیفیت آن از نظر بهداشتی وآنتی بادی، استفاده از سوربات پتاسیم و اسـید فرمیک بهتر از اسـید پروپیونیک و تخمیر طبیعی می‌باشد، البته بررسی اثر ترکیبی سوربات پتاسیم و اسید فرمیک و درصدهای متفاوت این مواد نیز می‌تواند به عنوان پیشنهاد ارائه شود که مستلزم انجام آزمایشات و بررسی‌های لازم می‌باشد

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان است. نویسندگان مقاله از دانشکده داروسازی دانشگاه اصفهان و دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران که در به انجام رسانیدن این پژوهش همکاری فراوان نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Berge, A.C.B., Besser, T.E., Moore, D.A., Sischo, W.M. (2009) Evaluation of the effects of oral colostrum supplementation during the first fourteen days on the health and performance of preweaned calves. J Dairy Sci. 92: 286-295.
2. Collings, LKM., Proudfoot, KL., Veira, DM. (2011) The effects of feeding untreated and formic acid-treated colostrum ad libitum on intake and immunoglobulin levels in dairy calves. J Anim Sci. 91: 55-59.
3. Elizondo-Salazar, J.A., Heinrichs, A.J. (2009) Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. J Dairy Sci. 92: 4565-4571.
4. Gapper, L., Copestake, D., Otter, D., Indyk, H. (2007) Analysis of bovine immunoglobulin G in milk, colostrum and dietary supplements: a review. Anal Bioanal Chem. 389: 93-109.
5. Houser, B.A., Donaldson, S.C., Kehoe, S.I., Heinrichs, A.J., Jayarao, B.M. (2008) A survey of bacteriological quality and the occurrence of Salmonella in raw bovine colostrum. Foodborne Pathog Dis. 5: 853-858.
6. Kaya, I., Uzmay, C., Uysal, H., Kaya, A. (2003) Utilization possibilities of surplus colostrum by acidification with formic acid in rearing calves i. changes in some characteristics of acidified colostrum stored at summer ambient temperatures or in a refrigerator. Pak J Biol Sci. 6: 1208-1213.
7. Kelly, D., Coutts, A.G. (2000) Early nutrition and development of immune functions in the neonate. Proc Nutr Soc. 59: 177-185.
8. Kelly, G.S. (2003). Bovine colostrum: A review of clinical uses. Altern Med Rev. 8: 378- 394.
9. Korhonen, H., Marnila, P., Gill, H.S. (2000) Milk immunoglobulins and complement factors. Br J Nutr. 84: S75-S80.
10. Lilius, E.M., Marnila, P. (2001). The role of colostral antibodies in prevention of microbial infections. Curr Opine Infect Dis. 14: 295-300.
11. Mbuthia, E.W., Klobasa, F., Gachuiri, C.K., Abate, A. (1998) Effect of treatment with formaldehyde and formic acid on immunoglobulin content of stored bovine colostrum. Anim Feed Sci Technol. 67: 291-298.
12. McGuirk, Sh. M., Collins, M. (2004) Managing the production, storage, and delivery of colostrum. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 20: 593-603.
13. Naserian, A. (1994) In vitro evaluation of the effect of chemical protection to maintain colostrum.J Pazhohesh and Sazandegi. 24: 130-131.
14. Muller, L.D., Smallcomb, J. (1977). Laboratory evaluation of several chemicals for preservation of excess colostrum. J Dairy Sci. 60: 627-631.
15. Playford, R.J., Macdonald, C.E., Johnson, W.S. (2000) Colostrum and milk-derived peptide growth factors for the treatment of gastrointestinal disorders. Am J Clin Nutr. 72: 5-14.
16. Saalfeld, M. H., Pereira, D. I. B., Silveira, K. R. K., Schramm, R., Valente, J. d. S. S., Borchardt, J. L., Gularte, M. A., Leite, F. P. L. (2013) Anaerobically fermented colostrum: an alternative for feeding calves. Cienc. Rural. 43: 1636-1641.
17. Schipper, I.A., Kotta, P., Fisher, G.R., Erickson, G.M. (1981). Immunoglobulin-G content in bovine colostrum Preserved by freezing, fermentation and chemical Preservatives. Farm Research. 39: 25-27.
18. Stewart, S., Godden, S., Bey, R., Rapnicki, P., Fetrow, J., Farnsworth, R., Scanlon, M., Arnold,

www.SID.ir

Archive of SID

Y., Clow, L., Mueller, K., Ferrouillet, C. (2005) Preventing bacterial contamination and Proliferation during the harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. J Dairy Sci. 88: 2571-2578.

19. Thompson, T.L., Marth, E.H. (1976) Changes in the microflora of bovine colostrum during natural fermentation. J. Milk Food Technol. 39: 27-35.

www.SID.ir

Archive of SID

Comparative Survey of the Effects of Chemical Preservatives and Natural Fermentation on Microbial Quality and IgG Antibodies in Order to Increase Shelf Life of Bovine Colostrum

Sotudeh, Sh.[1], Rabbani Khorasgani, M.[2*], Etemadifar, Z.[2], Zarkesh Esfahani, S.H.[2]

[1]*Graduated from Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran*
[2]*Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran*
(Received 23 December 2017, Accepted 11 April 2018)

Abstract:

BACKGROUND: Colostrum is the first milk produced after birth and is particularly rich in immunoglobulins, growth factors and antimicrobial peptides. Therefore, maintenance and storage of bovine colostrum has always been considered due to benefits of colostrum for the calf. Microbial contamination of colostrum is a concern because it is thought that bacteria in colostrum may interfere with passive absorption of colostral antibodies. **OBJECTIVES:** The aim of this study was to evaluate the effects of chemical preservatives and natural fermentation on quality and storage of colostrum. **METHODS:** Colostrum from the first milking of five Holstein cows was stored separately. Then colostrum samples were studied at days 1, 10, 20, and 30 of storage after treatment. All samples underwent microbiological culture for total plate count and detection of *Escherichia coli*, Coliforms, mold and yeast. Then whey was provided from untreated and treated samples at the end of 30th day and SRID (single radial immune diffusion) test was performed for assaying IgG antibody. Then the effect of treatments on colostrum antibody level was studied. **RESULTS:** The results showed that potassium sorbate did not have a role in reducing *E.coli* and coliforms count. However, it has prevented an increase in *E.coli* and coliform count during 30 days. Formic acid and propionic acid reduced the number of E. coli and coliform ($p<0.05$). In addition, the two organic acids promoted the growth of mold and yeasts compared with potassium sorbate. Nonetheless, the mentioned three treatments did not have an important role in reducing total count ($p>0.05$). The natural fermentation contributed to the decline of E. coli and coliform count while total count increased one day after treatment compared with other treatments, however among the treatments, formic acid and potassium sorbate were more effective than propionic acid and natural fermentation treatment for maintaining hygienic quality of colostrum. The result of measuring IgG antibody indicated that potassium sorbate has had more protective effect than other treatments. **CONCLUSIONS:** The results exposed that potassium sorbate and formic acid are better than other treatments to maintain colostrum quality with regard to increasing shelf life of colostrum.

Keyword: Bovine colostrum, bacterial contamination, propionic acid, potassium sorbate, formic acid, IgG antibody

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Counts (log_{10} cfu/ml) of the microbial groups and IgG concentration (mg/ml) in five raw Bovine colostrum.

Table 2. Mean Counts (log10 cfu/ml) of the microbial groups in treated colostrum during different days after treatment and mean IgG concentration (mg/ml) after 30th days.

Table 3. Comparison between Counts (log_{10} cfu/ml) of the microbial groups and IgG concentration (mg/ml) in raw colostrum with treated colostrum after 1 and 30 days of storage.

Table 4. The results of the descriptive statistics of IgG concentration in row colostrum and treated colostrum (mg/ml).

Figure 1. Effect of storage method on mean Log_{10} TC (Total Count) in comparison with raw colostrum during 1, 10, 20 and 30 days after treatment.

Figure 2. Effect of storage method on mean Log_{10} EC (*E.coli*) in comparison with raw colostrum during 1, 10, 20 and 30 days after treatment.

Figure 3. Effect of storage method on mean Log_{10} CC (Coliform) in comparison with raw colostrum during 1, 10, 20 and 30 days after treatment.

Figure 4. Effect of storage method on mean Log_{10} MY (Mold and Yeast) in comparison with raw colostrum during 1, 10, 20 and 30 days after treatment.

***Corresponding author's email: m.rabbani@biol.ui.ac.ir, Tel: 031-37932469, Fax: 031-37932456**

www.SID.ir