ارزیابی کمی میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در برخی فرآورده‌های شیری صنعتی و سنتی عرضه شده در اهواز به‌عنوان شاخص پاستوریزاسیون

مهدی زارعی[1*]، مهدی پور مهدی بروجنی[2]، آتنا منافعیان[3]

۱. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۲. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۳. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: zarei@scu.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹٤/۸/۳۰ پذیرش نهایی: ۳/۲۳ /۹۵)

Archive of SID

چکیده

فسفاتاز قلیایی یکی از آنزیم‌های طبیعی شیر و احتمالاً مهم‌ترین آنزیم طبیعی شیر از نظر کاربردی می‌باشد که از اندازه‌گیری فعالیت آن جهت تشخیص صحت عمل پاستوریزاسیون استفاده می‌گردد. هدف از انجام تحقیق حاضر، ارزیابی میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تعداد ۲۰۰ نمونه ماست، پنیر و بستنی سنتی و صنعتی و نیز شیر خام و پاستوریزه بود. جهت رسیدن به این هدف از پی نیتروفنیل فسفات به‌عنوان سوبسترا استفاده گردید و مقدار پی‌نیتروفنل آزاد شده به روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری گردید. میزان پی‌نیتروفنل آزاد شده در تمامی نمونه‌های شیر خام بسیار زیاد بود (٤۰۷۰±٦۸۳۹ میکروگرم پی نیتروفنل در میلی‌لیتر) اما در نمونه‌های شیر پاستوریزه این میزان در محدوده ۵۲/۹٦-۰/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و ۸۸ درصد نمونه‌ها حاوی مقدار کمتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پی نیتروفنل بود که حداکثر میزان مجاز این ماده در محصولات پاستوریزه می‌باشد. میزان پی‌نیتروفنل آزاد شده در پنیرهای سنتی و صنعتی به‌ترتیب در محدوده ۱۲۱۰-۵/٦۸ و ۱۸/۲۲-۲/٦۱ میکروگرم در میلی‌لیتر بود و در بستنی‌های سنتی و صنعتی به‌ترتیب در محدوده ۲٦/٦۷-۰/۷۵ و ۳۵/۸۲-۰/۷۱ میکروگرم در میلی‌لیتر برآورد شد. کمترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در نمونه‌های ماست سنتی و صنعتی مشاهده گردید. درحالی‌که ۱۲ درصد از نمونه‌های پنیر صنعتی، ٤٤ درصد از نمونه‌های پنیر سنتی و ۱٦ درصد از نمونه‌های بستنی سنتی و صنعتی حاوی مقادیر بالاتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پی نیتروفنل بودند که این می‌تواند درنتیجه پاستوریزاسیون ناکافی محصول باشد. نتایج این تحقیق لزوم توجه و دقت بیشتر در پاستوریزاسیون شیر و فرآورده‌های آن را نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: فرآورده‌های شیری، پنیر، فسفاتاز قلیایی، پاستوریزاسیون

www.SID.ir

مقدمه

شیر خام به‌منظور تهیه و تولید فرآورده‌های مختلف شیر مثل شیر پاستوریزه، کره، ماست، پنیر، شیر خشک، فرآورده‌های استریلیزه شیر و غیره نیاز به سالم‌سازی دارد. شیر باید به‌گونه‌ای سالم‌سازی شود که تمام میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای موجود در آن از بین بروند. این امر با به‌کارگیری روش‌های حرارتی امکان‌پذیر است. از روش‌های متداول سالم‌سازی شیر، پاستوریزاسیون است که در بسیاری از کشورها الزامی است؛ بنابراین فرایند پاستوریزاسیون باید به‌دقت انجام و کنترل شود تا شیر یا فرآورده‌های آن ایمن و عاری از اجرام بیماری‌زا در اختیار مصرف‌کنندگان قرار گیرد (Britz and Robinson, 2008؛ Fox and McSweeney, 1998؛ Walstra *et al.*, 2006).

آنزیم فسفاتاز قلیایی (ALP: Alkaline phosphatase) یکی از آنزیم‌های طبیعی شیر است که مقاومت حرارتی آن از کلیه باکتری‌های بیماری‌زای غیراسپورزایی که احتمال حضورشان در شیر وجود دارد، اندکی بیشتر است. فرایند حرارتی پاستوریزاسیون کمینه دمای (دمای ۷۱/۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه) علاوه بر این‌که قادر است کلیه باکتری‌های بیماری‌زای شیر را از بین ببرد، قادر به غیرفعال کردن این آنزیم نیز می‌باشد؛ بنابراین از دهه ۳۰ میلادی تاکنون از اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم جهت کنترل صحت انجام عمل پاستوریزاسیون شیر و فرآورده‌های آن استفاده می‌گردد (Shakeel-ur-Rehman *et al.*, 2003؛ Fox, 2003؛ Fox and Kelly, 2006؛ Payne and Wilbey, 2009).

به‌طورمعمول در تهیه فرآورده‌های صنعتی شیر از شیرهای پاستوریزه استفاده می‌گردد، بنابراین مشاهده فعالیت این آنزیم در شیر و فرآورده‌های صنعتی آن نشانه پاستوریزاسیون ناکافی و یا آلودگی ثانویه محصول پاستوریزه با شیر یا محصول غیرپاستوریزه است (Fox and McSweeney, 1998؛ Fox and Kelly, 2006؛ Britz and Robinson, 2008). در محصولاتی که به روش سنتی تهیه می‌شوند بایستی جهت حفظ سلامت مصرف‌کنندگان به شیر مورد استفاده حرارت کافی در حد پاستوریزاسیون متداول داده شود. در این صورت علاوه‌بر باکتری‌های پاتوژن، آنزیم فسفاتاز قلیایی نیز غیرفعال می‌گردد. در بین فرآورده‌های شیر، اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم در پنیرهای سنتی از اهمیت خاصی برخوردار است (Yoshitomi, 2004) با توجه به این‌که تولیدکنندگان پنیرهای سنتی جهت حفظ خواص انعقادی شیر ترجیح می‌دهند که به شیر حرارت بالایی داده نشود، بنابراین احتمال عدم پاستوریزاسیون کامل شیر مورد استفاده در تهیه پنیرهای سنتی وجود دارد. یکی از روش‌های کنترل پاستوریزاسیون در پنیرهای سنتی اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی می‌باشد. طبق مطالعات مختلف بستنی‌های سنتی ایرانی برخی اوقات از کیفیت بهداشتی مناسبی برخوردار نبوده‌اند. این مسئله شاید به دلیل عدم انجام فرایند حرارتی کامل و کافی در این محصولات باشد. مطالعه حاضر باهدف ارزیابی کمی میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در پاره‌ای از فرآورده‌های صنعتی و سنتی شیر نظیر پنیر، بستنی و ماست و نیز شیرهای خام و پاستوریزه موجود در بازار انجام گردید.

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر بر روی تعداد ۲۰۰ نمونه از فرآورده‌های شیری مختلف شامل شیر خام، شیر پاستوریزه، پنیر سنتی، پنیر صنعتی، ماست سنتی، ماست صنعتی، بستنی سنتی و بستنی صنعتی انجام پذیرفت. کلیه نمونه‌ها در طول فصل پاییز و با مراجعه به مراکز فروش لبنیات سنتی و یا سوپرمارکت‌های معتبر جمع‌آوری گردید. در هنگام تهیه لبنیات سنتی استفاده شده در این تحقیق، نوع شیر به‌کاررفته در تهیه محصول از فروشنده سؤال گردید و تنها اقدام به نمونه‌گیری از محصولات تهیه‌شده از شیر گاو شد.

برای محلول بافرسوبسترا مقدار ۱/۵۸ گرم دی‌اتانول‌آمین هیدروکلراید را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده، سپس ۰/٤٥ گرم دی‌سدیم پی‌نیتروفنیل فسفات به آن افزوده و pH محلول بر روی ۱۰/۵ تنظیم گردید. به‌منظور افزایش مدت‌زمان نگه‌داری محلول بافر سوبسترا در دمای یخچال، مقدار ۰/۱ درصد کلروفرم به آن افزوده شد (International Dairy Federation, 1987).

- ارزیابی فعالیت آنزیم

مقدار یک میلی‌لیتر یا یک گرم از نمونه موردنظر با ۲/۵ میلی‌لیتر محلول بافر سوبسترا سرد مخلوط و میزان pH آن به کمک محلول سود یک نرمال بر روی ۱۰/۵- ۱۰/۰ تنظیم گردید. سپس به‌مدت ۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. به‌منظور رسوب پروتئین‌های موجود در نمونه و برطرف شدن کدورت نمونه، ۱۰ میلی‌لیتر اتانول مطلق به نمونه افزوده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد. سپس سانتریفیوژ در دور ٤۰۰۰ و به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام و ۳ میلی‌لیتر از محلول شفاف فوقانی به‌منظور اندازه‌گیری میزان جذب نوری در طول موج ٤۰۵ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت (Aschaffenburg and Mullen, 1949; International Dairy Federation, 1987).

یافته‌ها

همان‌گونه که در جدول (۱) مشاهده می‌گردد میزان فعالیت آنزیم در نمونه‌های شیر خام بسیار زیاد بود. به‌طوری‌که میزان پی نیتروفنل آزاد شده در طی واکنش آنزیمی در محدوده ۱٦۹۵۰-۲۰۹۰ میکروگرم در میلی‌لیتر (میانگین ٦۸۳۹ میکروگرم در میلی‌لیتر) بود. در مقابل در نمونه‌های شیر پاستوریزه میزان پی نیتروفنل آزاد شده در طی واکنش آنزیمی بسیار کم و در محدوده ۵۲/۹٦-۰/۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید.

در نمونه‌های پنیر سنتی میزان پی نیتروفنل آزاد شده در طی واکنش آنزیمی در محدوده وسیعی پراکنده بود. کمترین میزان پی نیتروفنل ۵/٦۸ میکروگرم در میلی‌لیتر و بیشترین میزان آن ۱۲۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در مقابل در نمونه‌های پنیر صنعتی این میزان در محدوده ۱۸/۲۲-۲/٦۱ میکروگرم در میلی‌لیتر مشاهده گردید. در بین نمونه‌های مورد آزمایش کمترین میزان پی نیتروفنل در نمونه‌های ماست به دست آمد، به‌طوری‌که حداکثر میزان پی نیتروفنل در نمونه‌های ماست سنتی ۹/۲۳ و در نمونه‌های ماست صنعتی ۹/۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. میزان پی نیتروفنل در نمونه‌های بستنی سنتی و صنعتی نیز تقریباً در یک

Archive of SID
www.SID.ir

حدود و با میانگین ٦/١١ در بستنی‌های سنتی و ٧/٩٥ در بستنی‌های صنعتی مشاهده شد.

در جدول (٢) توزیع مقادیر پی نیتروفنل اندازه‌گیری شده در نمونه‌های مختلف نشان داده شده است.

همان‌گونه که مشاهده می‌شود ٢٢ نمونه از ٢٥ نمونه شیر پاستوریزه حاوی مقادیر کمتر از ١٠ میکروگرم در میلی‌لیتر پی نیتروفنل بودند. در نمونه‌های پنیر صنعتی نیز تعداد مشابهی از نمونه‌ها حاوی مقادیر کمتر از ١٠ میکروگرم در میلی‌لیتر پی نیتروفنل بودند. حال آن‌که در نمونه‌های پنیرهای سنتی تنها در ١٤ نمونه مقادیر کمتر از ١٠ میکروگرم در میلی‌لیتر پی‌نیتروفنل مشاهده گردید و مابقی (١١ نمونه) حاوی مقادیر بالاتری از پی‌نیتروفنل بودند. در ٢١ نمونه بستنی سنتی و صنعتی مورد آزمایش و در کلیه نمونه‌های ماست سنتی و صنعتی میزان پی‌نیتروفنل اندازه‌گیری شده کمتر از ١٠ میکروگرم در میلی‌لیتر بود.

جدول (١) – فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بر مبنای میزان پی نیتروفنل (میکروگرم در میلی‌لیتر)

ماده غذایی	تعداد نمونه	حداقل	حداکثر	میانگین	انحراف معیار	میانه
شیر خام	٢٥	٢٠٩٠	١٦٩٥٠	٦٨٣٩	٤٠٧٠	٥٨٧٨
شیر پاستوریزه	٢٥	٠/٧٥	٥٢/٩٦	٧/٨٢	١٠/١٧	٥/٤٨
پنیر سنتی	٢٥	٥/٦٨	١٢١٠	١٢٤/٣	٣٠٦/٣	٩/٦٣
پنیر صنعتی	٢٥	٢/٦١	١٨/٢٢	٨/٤٧	٣/١٧	٨/٣٢
ماست سنتی	٢٥	٠/٧٥	٩/٢٣	٣/٩٤	٢/٥٥	٣/٠٤
ماست صنعتی	٢٥	٠/٧٥	٩/٥٠	٣/٩١	٢/٧٧	٣/٠٧
بستنی سنتی	٢٥	٠/٧٥	٢٦/٦٧	٦/١١	٦/٣٠	٣/٧
بستنی صنعتی	٢٥	٠/٧١	٣٥/٨٢	٧/٩٥	٧/١١	٧/٤

جدول (٢) – توزیع فراوانی مقادیر پی نیتروفنل اندازه‌گیری شده در نمونه‌های مختلف

ماده غذایی	تعداد نمونه	میزان پی نیتروفنل (میکروگرم در میلی‌لیتر)									
		٧٠	٤٠	٣٠	٢٠	١٥	١٠	٥	٤	٣	٢
شیر خام	٢٥	–	–	–	–	–	–	–	١٠	١٠	٥
شیر پاستوریزه	٢٥	٢٢	٢	–	–	١	–	–	–	–	–
پنیر سنتی	٢٥	١٤	٥	–	–	٢	١	٢	١	–	–
پنیر صنعتی	٢٥	٢٢	٣	–	–	–	–	–	–	–	–
ماست سنتی	٢٥	٢٥	–	–	–	–	–	–	–	–	–
ماست صنعتی	٢٥	٢٥	–	–	–	–	–	–	–	–	–
بستنی سنتی	٢٥	٢١	٣	١	–	–	–	–	–	–	–
بستنی صنعتی	٢٥	٢١	٣	–	١	–	–	–	–	–	–

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر باهدف ارزیابی میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تعدادی از فرآورده‌های صنعتی و سنتی شیر مثل پنیر، بستنی، ماست و نیز شیرهای خام و پاستوریزه موجود در بازار انجام گرفت. بدین منظور از پی‌نیتروفنیل فسفات به‌عنوان سوبسترا استفاده گردید و میزان پی نیتروفنل آزاد شده در اثر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی اندازه‌گیری شد. این روش امروزه در اروپا و بسیاری نقاط دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Fox and Kelly, 2006) بر اساس نظر سازمان جهانی خواروبار و کشاورزی، در صورت انجام صحیح فرایند پاستوریزاسیون میزان پی‌نیتروفنل در محصول کمتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر خواهد بود (FAO, 2005).

همان‌گونه که در بخش نتایج نشان داده شد، میزان پی‌نیتروفنل آزاد شده در اثر فعالیت این آنزیم در شیر خام بسیار زیاد و به‌طور میانگین ٦٨٣٩±٤٠٧٠ میکروگرم در میلی‌لیتر بود؛ اما در نمونه‌های شیر پاستوریزه صنعتی میزان پی نیتروفنل آزاد شده بسیار کم برآورد شد. در ۸۸ درصد نمونه‌های شیر پاستوریزه میزان پی‌نیتروفنل در محدوده تعیین‌شده توسط FAO بود. در ۸ درصد نمونه‌ها (۲ نمونه از ۲۵ نمونه) میزان پی‌نیتروفنل آزاد شده بین ۱۰ تا ۲۰ میکروگرم در میلی-لیتر و در ٤ درصد نمونه‌ها (۱ نمونه از ۲۵ نمونه) میزان پی‌نیتروفنل آزاد شده بین ۵۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. قضاوت در مورد علت بالا بودن مقادیر پی‌نیتروفنل اندازه‌گیری شده در این سه نمونه شیر پاستوریزه مشکل است. مطالعاتی که بین سال‌های ۱۹۵۳ تا ۱۹٥٦ روی این آنزیم صورت گرفت، نشان داد که شیرهایی که به‌روش فرا دما (دمای ۱٤۰-۱۳۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵-٤ ثانیه) استریلیزه شده‌اند، پس از گذشت مدت‌زمانی از انجام فرایند حرارتی و بدون وقوع آلودگی ثانویه، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در آن‌ها مجدداً قابل‌تشخیص است. همچنین نشان دادند که حداقل دمای فرایند حرارتی شیر که منجر به باز فعال شدن آنزیم در طی دوره نگه‌داری می‌گردد، ۸٤ درجه سلسیوس است و در شیرهایی که به‌روش متداول (کمینه دمای ۷۱/۷ درجه به‌مدت ۱۵ ثانیه) پاستوریزه می‌شوند، باز فعال شدن آنزیم فسفاتاز قلیایی طی دوره نگه‌داری اتفاق نمی‌افتد (Wright and Tramer, 1953a; 1953b; 1954; 1956).

بنابراین درصورتی‌که شیرهای پاستوریزه استفاده شده در این تحقیق به روش متداول پاستوریزه شده باشند، امکان باز فعال شدن آنزیم در آن‌ها وجود ندارد و بالا بودن مقدار پی‌نیتروفنل در آن‌ها می‌تواند ناشی از پاستوریزاسیون ناقص یا آلودگی ثانویه باشد.

طبق نتایج مطالعه، در تمامی نمونه‌های ماست سنتی و صنعتی میزان پی‌نیتروفنل اندازه‌گیری شده کمتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به دست آمد که این مسئله قابل‌انتظار بود چراکه به‌طورمعمول در تهیه ماست، شیر را به‌مدت چند دقیقه تحت فرایند حرارتی ۹۵-۹۰ درجه سلسیوس قرار می‌دهند.

در بین فرآورده‌های شیر اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم در پنیر، به‌خصوص پنیرهای سنتی از اهمیت خاصی برخوردار است. با توجه به این‌که تولیدکنندگان پنیرهای سنتی جهت حفظ خواص انعقادی شیر ترجیح می‌دهند که به شیر حرارت بالایی ندهند، بنابراین احتمال عدم پاستوریزاسیون کامل شیر مورد استفاده در تهیه پنیرهای سنتی وجود دارد. نتایج تحقیق حاضر نیز

Archive of SID
www.SID.ir

نشان داد که در ۸۸ درصد پنیرهای صنعتی، فرایند پاستوریزاسیون به‌درستی انجام شده است و تنها در ۱۲ درصد نمونه‌ها (۳ نمونه از ۲۵ نمونه) میزان پی نیتروفنل اندازه‌گیری شده بین ۱۰ تا ۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که به نظر می‌رسد به دلیل باز فعال شدن آنزیم در طی مدت‌زمان نگه‌داری پنیر باشد؛ اما در مورد پنیرهای سنتی، تنها در ٥٦ درصد نمونه‌ها فرایند پاستوریزاسیون به‌درستی انجام شده بود و در ٤٤ درصد نمونه‌ها مقادیر بیشتر از ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پی نیتروفنل مشاهده گردید. این میزان در بعضی نمونه‌ها بسیار زیاد بود به‌طوری‌که میزان پی‌نیتروفنل در ٤ درصد نمونه‌ها بین ٤۰ تا ۵۰، در ۸ درصد نمونه‌ها بین ۵۰ تا ۱۰۰، در ۸ درصد نمونه‌ها بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ و در ٤ درصد نمونه‌ها بین ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بود. در مورد این محصول احتمال استفاده از شیرهای غیرپاستوریزه زیاد است.

در نمونه‌های بستنی صنعتی مورد آزمایش، در ۸٤ درصد نمونه‌ها میزان پی نیتروفنل اندازه‌گیری شده در محدوده مناسب جهت پاستوریزاسیون کامل بود و در ١٦ درصد نمونه‌ها مقادیر بالاتر از ۱۰ میکروگرم پی‌نیتروفنل در میلی‌لیتر مشاهده گردید. در مورد نمونه‌های بستنی سنتی نیز نتایج مشابهی مشاهده گردید. در مورد این محصولات قضاوت در مورد علت بالا بودن میزان پی نیتروفنل اندازه‌گیری شده در تعدادی از نمونه‌ها دشوار است زیرا که در تهیه بستنی‌های صنعتی، مخلوط بستنی (Ice cream mix) معمولاً در دمایی بالاتر از دمای پاستوریزاسیون متداول شیر، پاستوریزه می‌گردد و این مسئله امکان باز فعال شدن آنزیم را فراهم می‌کند اما از طرف دیگر، نگه‌داری این محصول در دمای انجماد، احتمال باز فعال شدن آنزیم را کم می‌کند؛ اما در مورد بستنی سنتی احتمال پاستوریزاسیون ناکافی مخلوط بستنی وجود دارد.

مطالعات اندکی درزمینه فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در شیر و فرآورده‌های آن در سایر کشورها صورت گرفته است اما با توجه به تنوع روش‌های اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم در تحقیقات صورت گرفته، مقایسه نتایج و اعداد ارائه‌شده با یکدیگر و نتیجه‌گیری از آن‌ها کمی مشکل است. به‌عنوان نمونه میزان فعالیت و مقاومت حرارتی آنزیم فسفاتاز قلیایی در شیر گاو، گوسفند و بز به‌وسیله یک روش فلوریمتری مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت و میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در شیر گاو، گوسفند و بز به‌ترتیب ۲٦۰±۷۷٤ (در محدوده ۱۱۵۵-۳۲۸ واحد در لیتر)، ٤۹۷±۱٤۱۳ (در محدوده ۲٦۹۱-۷۲۲ واحد در لیتر) و ۲۹±٦۷ (در محدوده ١٤٤-۳۰ واحد در لیتر) واحد در لیتر گزارش گردید (Lorenzen *et al.*, 2010).

همچنین مشخص گردید که پس از پاستوریزاسیون شیر در دمای ٦۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه یا ٦۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۲ دقیقه، میزان فعالیت فسفاتاز قلیایی در شیر تمامی گونه‌ها کمتر از ۰/٦ واحد در لیتر بود و پس از پاستوریزاسیون شیر به‌روش دمای بالا زمان کوتاه (دمای ۷۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۲۸ ثانیه) میزان فعالیت فسفاتاز قلیایی در شیر تمامی گونه‌ها کمتر از ۰/۱ واحد در لیتر گزارش گردید (Lorenzen *et al.*, 2010). براساس نظر اتحادیه اروپا شیرهایی که به‌طور صحیح و کامل پاستوریزه شده‌اند میزان فعالیت این آنزیم در آن‌ها در صورت استفاده از روش فلوریمتری

www.SID.ir
Archive of SID

کمتر از ۰/۳۵ واحد در لیتر خواهد بود (European Union Commission Regulation, 2006).

در مطالعه دیگری مشخص گردید که میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در شیر گاو و بز پاستوریزه شده به‌روش دمای بالا زمان کوتاه خریداری شده از سوپرمارکت‌های آلمان کمتر از ۰/۰۷ واحد در لیتر و در شیرهای گاو استریلیزه شده به روش فرا دما در محدوده ۱/۰۳۵-۰/۱۷ واحد در لیتر گزارش گردید که احتمالاً به دلیل باز فعال شدن آنزیم در شیرهای استریلیزه فرا دما می‌باشند. همچنین نشان داده شد که میزان مقاومت حرارتی آنزیم فسفاتاز قلیایی شیر گوسفند و بز بیشتر از شیر گاو است (Lorenzen *et al.*, 2010). میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در ۵۲ نمونه پنیر تهیه‌شده از شیر گاو که از کشورهای انگلستان، ولز، اسکاتلند و ایرلند شمالی جمع‌آوری شده بود، مورد ارزیابی قرار گرفت و مشخص گردید که میزان فعالیت این آنزیم را در تمامی نمونه‌ها در حد قابل‌قبول بود. این یافته نشان‌دهنده پاستوریزاسیون صحیح و کامل شیر مورد استفاده در تهیه نمونه‌های پنیر بود (Cassidy *et al.*, 2014). در تحقیق دیگری میزان فعالیت فسفاتاز قلیایی در شیر خام میش در محدوده ۳۷۵۰-۱۷۰۰ واحد در لیتر گزارش گردید (Chavarri *et al.*, 1998). به‌علاوه میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در شیر گاو، گوسفند و بز پس از انجام فرایند حرارتی مورد اندازه‌گیری و مقایسه قرار گرفت و مشخص گردید که فرایند حرارتی ۵۹ درجه سلسیوس با زمان‌های مختلف میزان فعالیت آنزیم را در شیر گاو آهسته‌تر از دو نوع دیگر شیر کاهش می‌دهد و سریع‌ترین کاهش در میزان فعالیت فسفاتاز قلیایی در شیر گوسفند بود. کمترین میزان فعالیت آنزیم در شیر خام بز مشاهده گردید (Vamvakaki *et al.*, 2006).

در پایان با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که در بین فرآورده‌های شیر، پنیرهای سنتی به دلیل پاستوریزاسیون ناکافی شیر مورد استفاده، از مخاطره بهداشتی بالایی جهت مصرف برخوردارند. در مورد سایر فرآورده‌های شیری مورد آزمایش، اگرچه که مواردی از فعالیت بیش‌تر از حد مجاز این آنزیم مشاهده شد اما با توجه به این‌که میزان پی نیتروفنل مشاهده شده در تعدادی از آن‌ها، تنها اندکی بالاتر از حد مجاز تعیین شده بود و نیز به دلیل عدم امکان تشخیص و تفکیک مواردی مثل باز فعال شدن آنزیم و پاستوریزاسیون ناکافی، قضاوت در مورد آن‌ها مشکل می‌باشد. درهرصورت نتایج این تحقیق لزوم توجه و دقت بیشتر در پاستوریزاسیون شیر و فرآورده‌های آن را نشان می‌دهد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به جهت تأمین بودجه طرح تقدیر و تشکر می‌گردد. همچنین از سرکار خانم اصفهانی کارشناس محترم آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی به خاطر همکاری در انجام طرح قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع

- Aschaffenburg, R. and Mullen, J.E. (1949). A rapid and simple phosphatase test for milk. Journal of Dairy Research, 16: 58-67.
- Britz T.J. and Robinson R.K. (2008). Advanced Dairy Science and Technology. 1st ed. Blackwell Publishing Ltd, Oxford, pp. 3-18.
- Cassidy, S., Daly, C., Early, J. and Trowe, M. (2014). Alkaline phosphatase activity in United Kingdom cheeses made from bovine pasteurized milk. International Journal of Dairy Technology, 67(2): 297-299.
- Chavarri, F., Santisteban, A., Virto, M. and deRenobales, M. (1998). Alkaline phosphatase, acid phosphatase, lactoperoxidase and lipoprotein lipase activities in industrial ewe's milk and cheese. Food Chemistry, 46(8): 2926-2932.
- European Union Commission regulation. (2006). EC. No. 1664/2006. Official Journal of the European Union L320/13.
- FAO (2005). http://www.FAO.org/docrep/meeting/008/j2308e.
- Fox, P.F. (2003). Significance of indigenous enzymes in milk and dairy products, In: Whitaker J.R., Voragen, A.G.J. and Wong, D.W.S. (Editors), Handbook of Food Enzymology, Marcel Dekker, New York, pp. 255–277.
- Fox, P.F. and Kelly, A.L. (2006). Indigenous enzymes in milk: overview and historical aspects part 2. International Dairy Journal, 16(6): 517-532.
- Fox P.F. and McSweeney P.L.H. (1998). Dairy Chemistry and Biochemistry, 1st ed. Blackie Academic and Professional. London, pp. 320-325.
- International Dairy Federation. (1987). Milk and dried milk, buttermilk powder, whey and whey powder. Detection of phosphatase activity. International Standards. Brussels: IDF, 82A.
- Lorenzen P.C., Martin D., Clawin-Radecker I., Barth K. and Knappstein K. (2010). Activities of alkaline phosphatase,γ-glutamiltransferase and lactoproxidase in cow, sheep and goat milk in relation to heat treatment. Small Ruminant Research, 89(1): 18-23.
- Payne, C. and Wilbey, R. (2009). Alkaline phosphatase activity in pasteurized milk: A quantitative comparison of fluorophos and colourimetric procedures. International Journal of Dairy Technology, 62(3): 308-314.
- Shakeel-ur-Rehman, P., Fleming, C.M., Farkye, N.Y. and Fox, P.F. (2003). Indigenous phosphatases in milk, In: Fox P.F. and McSweeney P.L.H. (Editors), Advanced Dairy Chemistry, Volume 1, proteins. 3rd Edition. Kluwer Acaemic-Plenum Publishers. New York, pp. 523-543.
- Vamvakaki, A.N., Zoidou, E., Moatsu, G., Bokari, M. and Anifantakis, E. (2006). Residual alkaline phosphatase activity after heat treatment of ovine and caprine milk. Small Ruminants Research, 65: 237-241.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M. and Geurts, T.J. (2006). Dairy Science and Technology. 2nd ed. CRC Press, pp. 85-95.
- Wright, R.C. and Tramer, J. (1953a). Reactivation of milk phosphatase following heat treatment. Journal of Dairy Research, 20: 177-188.
- Wright, R.C. and Tramer, J. (1953b). Reactivation of milk phosphatase following heat treatment. II. Journal of Dairy Research, 20: 258-273.

Archive of SID

www.SID.ir

- Wright, R.C. and Tramer, J. (1954). Reactivation of milk phosphatase following heat treatment. III. Journal of Dairy Research, 21: 37-49.
- Wright, R.C. and Tramer, J. (1956). Reactivation of milk phosphatase following heat treatment. IV. Journal of Dairy Research, 23: 248-256.
- Yoshitomi, K. (2004). Alkaline phosphatase activity in cheeses measured by fluorometry. International Journal of Food Science and Technology, 39: 349-353.

Archive of SID

www.SID.ir

Quantitative evaluation of the alkaline phosphatase activity in industrial and traditional dairy products supplied in Ahvaz as an indicator of pasteurization

Zarei, M.[1*], Pourmahdi Borujeni, M.[2], Manafeian, A.[3]

1. Associate Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
2. Associate Professor of Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
3. Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

[*] Corresponding author's email: zarei@scu.ac.ir

(Received: 2015/11/21 Accepted: 2016/6/12)

Archive of SID

Abstract

Alkaline phosphatase is an indigenous milk enzyme and is probably, the most important indigenous milk enzyme from a dairy technology viewpoint which is used to determine the efficacy of the pasteurization process. The aim of this study was to assess the alkaline phosphatase activity of 200 samples of industrial and traditional yoghurt, ice cream and cheese, as well as raw and pasteurized milk samples. To achieve this purpose, p-nitrophenylphosphate was used as substrate and the amount of liberated p-nitrophenol was measured spectrophotometrically. The amount of liberated p-nitrophenol in all samples of raw milk was very high (6839±4070 µg/ml) but in pasteurized milk samples, the amount was in the range of 0.75-52.96 µg/ml and 88% of the samples had less than 10 µg p-nitrophenol/ml, the maximum permissible limit of p-nitrophenol in pasteurized products. The amount of liberated p-nitrophenol was in the range of 5.68-1210 µg/ml and 2.61-18.22 µg/ml in traditional and industrial cheese samples, respectively and it was estimated at the range of 0.75-26.67 µg/ml and 0.71- 35.82 µg/ml for traditional and industrial ice cream samples, respectively. The lowest alkaline phosphatase activity was observed in both industrial and traditional yoghurt samples. Meanwhile, p-nitrophenol in 12% of industrial cheese, 44% of traditional cheese and 16% of both industrial and traditional ice cream samples was higher than 10 µg/ml which could be due to the inadequate pasteurization of the product or cross contamination with raw milk. The results of the present study showed a need for more strict attention in the pasteurization of milk and its products.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Milk products, Cheese, Alkaline phosphatase, Pasteurizatio

www.SID.ir