

# پیش بینی کیفیت میکروبی شیر خام بر اساس مدل های ریاضی

مسعود یاورمنش<sup>۱\*</sup>، علی مرتضوی<sup>۲</sup>، محمدباقر حبیبی نجفی<sup>۲</sup>

۱- مری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

## چکیده

امروزه برای کاهش هزینه های آزمایشگاهی و افزایش سرعت انجام آزمایشات میکروبی استفاده از مدل های ریاضی توسعه یافته است. ضرورت آگاهی از کیفیت میکروبی شیر در زمانی کوتاه پس از دریافت شیر از مواردی است که صنایع شیر سخت به آن نیاز دارند. لذا در این پژوهش شیرخام از دامداری های مختلف موجود در سطح شهر مشهد در دو فصل بهار و تابستان جمع آوری شد. سپس بر اساس متغیرهای مختلف بهترین مدل ریاضی برای پیشگویی شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که مدل رگرسیون چند خطی ( مرکب ) بهترین مدل برای پیش بینی شمارش کلی میکروبی شیرخام می باشد ( $R^2 = 0/65$ ). همچنین مشخص شد که معادلات بهار و تابستان متفاوت بوده، به طوریکه در معادله بهار اثر متقابل کلی فرم مدفوعی و pH به تنهایی مهمترین عامل تعیین کننده مدل و در معادله تابستان متغیر چربی و اثر متقابل کلی فرم مدفوعی و چربی از عوامل تعیین کننده مدل در پیش بینی میزان شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل در شیر خام می باشد و در معادله تابستان فاکتور چربی اثر بیشتری روی مدل دارد. در این مقاله کلیه متغیرهای مؤثر در کیفیت میکروبی شیر خام و چگونگی تأثیر آنها در پیش بینی کیفیت به تفصیل مورد بحث قرار گرفته است.

**کلید واژگان:** مدل سازی، پیش بینی، شمارش کلی، شیرخام.

## ۱- مقدمه

رشد میکروارگانیسم ها می باشد [۲].

۲- مدل های احتمالی، که ترکیبی از مدل های مختلف برای پیش-بینی وقایعی مثل رویش اسپوریا اندازه گیری مقدار توکسین تولید شده در خلال یک دوره زمانی مشخص می باشد [۳].

در مدل های سنتیکی چهار مدل اصلی شناخته شده وجود دارد:

الف) مدل های نوع ریشه دوم یا بلرادک<sup>۱</sup>

ب) مدل های نوع آرنیوس<sup>۲</sup>

ج) آرنیوس بهینه شده یا مدل های دیوی<sup>۳</sup>

د) مدل های پلی نومیال<sup>۴</sup> یا پاسخ های سطحی<sup>۵</sup> [۲].

مدل های پلی نومیال یا پاسخ سطحی کاملاً تجربی جهت

پیش بینی میکروبی بر اساس پاسخ های جمعیت میکروبی زایا، فاکتورهای محیطی و شرایط محیطی در فواصل زمانی یکسان استوار است. علیرغم پیچیدگی سیستم های غذایی، مدل پیش بینی می تواند با موفقیت همراه باشد، که به عنوان نوعی راهکار برای رفع مشکلات، ایجاد ساده سازی و نیز آنالیز به کار رود. اگر چه تاکنون توانایی این مدل ها به طور کامل شناخته نشده است اما امروزه این نوع پیش بینی برای درک اکولوژی میکروبی در مواد غذایی استفاده می شود [۱]. اصولاً پیش بینی میکروبی تحت دو عنوان در نظر گرفته می شود:

۱- مدل های سینتیکی، که در آن مدل سازی بر اساس اندازه سرعت

\* مسئول مکاتبات : masoud53y@yahoo.com

1. Belehradek-type models
2. Arrhenius-type models
3. Davey-type models
4. Polynomial-type models
5. Response Surface-type models

شمارش بالا می گردد را ندارد و فقط معیاری است که از نوعی تغییر در تولید، جمع آوری و انتقال شیرخام حکایت می کند [۱۱]

## ۲- مواد و روشها

### ۲-۱- مواد اولیه

۴۳ نمونه شیرخام (به صورت مخلوط) از دامداریهای صنعتی شهرستان مشهد در طول دو فصل بهار و تابستان از نقاط مختلف نمونه برداری شد که ۲۳ نمونه مربوط به فصل بهار و ۲۰ نمونه دیگر مربوط به فصل تابستان می باشد.

### ۲-۲- جمع آوری نمونه ها

در این پژوهش شیرخام واحدهای دامداری صنعتی در سطح شهرستان مشهد در دو فصل بهار و تابستان با روشهای علمی مورد نمونه برداری قرار گرفت. در طول مدت نگهداری از نمونه شیرخام تا انجام آزمایشات، زنجیره سرما برای حفظ نمونه های شیرخام و اجتناب از هر گونه تغییر در پارامترهای مورد اندازه گیری، اعمال شد. در این پژوهش سعی شد تا کمترین فاصله زمانی از مرحله نمونه برداری تا انجام آزمایشات اعمال شود [۱۱].

### ۲-۳- انتخاب پارامترها (متغیرها)

با توجه به ماهیت شیرخام و بر اساس مدارک علمی، پارامتر شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل به عنوان متغیر وابسته، و پارامترهای شمارش کلی فرم مدفوعی، pH، اسیدیته، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء (Eh) و درصد چربی بعنوان پارامترهای مؤثر (مستقل) برای مدلسازی و پیش بینی میکروبی انتخاب گردیدند [۱۱].

### ۲-۴- انجام آزمونها- اندازه گیری متغیرها

در این پژوهش بر اساس روشهای استاندارد، پارامترهای انتخابی مورد آزمون قرار گرفت.

#### الف) شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل :

شمارش کلی میکروارگانیسم ها بر اساس استاندارد ملی ۵۴۸۴ و مطابقت آن با استانداردهای بین المللی مورد اندازه گیری قرار گرفت. نکته حائز اهمیت اینکه برای اطمینان بیشتر از داده های حاصله، در شمارش کلی از دو رقت متوالی استفاده شد و شمارشهای کمتر از ۱۵ کلنی در هر میلی لیتر نمونه و بالاتر از

دستیابی به مشکل خلاصه سازی پاسخ های سرعت رشد می باشد. در این تکنیک یک مدل خطی بر اساس یک تابع پلی نومیال در پارامترها بنا نهاده می شود. رگرسیون خطی چندگانه<sup>۱</sup> (مرکب) برای تعیین بهترین اندازه برای پارامترها یا برازش، مورد استفاده قرار می گیرد [۴]. امروزه مدلی که بیشتر مورد استفاده قرار می گیرد معروف به تابع گمپرتز<sup>۲</sup> می باشد، اگرچه اخیراً این مدل مورد تردید قرار گرفته است [۵].

چند نمونه از بکارگیری مدل های فوق در پیش بینی میکروبی محصولات مختلف عبارتند از :

۱- پیش بینی پاسخهای رشد سالمونلا<sup>۳</sup> در محیط آزمایشگاهی تحت تأثیر pH، نمک طعام و دمای نگهداری [۶].

۲- پیش بینی احتمال رشد و تولید توکسین توسط کلوستریدیوم بوتولینوم<sup>۴</sup> در ماهی [۷].

۳- دستیابی به بهترین مدل برای پیش بینی اثرات ترکیبی (دما و فعالیت آب) بر رشد استافیلوکوکوس<sup>۵</sup> [۸].

۴- پیش بینی رشد استافیلوکوکوس<sup>۶</sup> در گوشت پرورده [۹].

شیرخام یک محیط کشت طبیعی مناسب برای رشد میکروارگانیسم هاست. این ماده غذایی به راحتی دچار آلودگی میکروبی می گردد. سه عامل و منبع آلودگی میکروبی شیرخام عبارتست از :

۱- داخل غدد پستانی

۲- خارج غدد پستانی و نوک پستان

۳- تجهیزات نگهداری و انتقال در طول فرآیند تولید شیر خام [۱۰].

تعداد و نوع میکروارگانیسم های موجود در شیر خام، انعکاسی از آلودگی میکروبی در طول تولید، جمع آوری و انتقال آن می باشد. شمارش باکتریها یا شمارش پلیت استاندارد<sup>۱</sup> (SPC) یک شاخص مفید برای تعیین کردن شرایط بهداشتی در طول تولید، جمع آوری و انتقال شیرخام می باشد. این شاخص قابلیت تعیین منبع آلودگی یا شرایط نامناسب تولید را که منجر به میزان

1. Multiple Linear regression
2. Gompertz
3. Salmonella
4. Clostridium botulinum
5. Staphylococcus
6. Standard plate Count

### ۳- طرح آماری

پس از انجام آزمایشات و حصول نتایج با سه تکرار، معادلات رگرسیونی احتمالی بین پارامترهای کیفی میکروبی و سایر پارامترها در شیرخام بررسی شدند. برای بررسی معادلات رگرسیونی و دستیابی به بهترین مدل از نرم افزار Sigma Stat (Version 1.0) و برای دستیابی به رویه‌ها<sup>۲</sup> و نقشه‌های پیش بینی<sup>۴</sup> از نرم افزار Slide Write (Version 2.0) استفاده شد.

### ۴- نتایج و بحث

#### ۴-۱- انتخاب بهترین مدل رگرسیونی براساس

##### داده های بدست آمده

پس از انجام آزمایشات و جمع آوری داده ها در دو فصل بهار و تابستان که در جداول ۱ و ۲ آورده شده اند ابتدا نسبت به نحوه پراکندگی داده های مختلف<sup>۵</sup> ( کلی فرم مدفوعی، pH، اسیدیته، Eh و درصد چربی ) نسبت به شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل مطالعات اولیه توسط نرم افزار Sigma Stat صورت پذیرفت. پس از برآورد اولیه از نحوه آرایش داده ها، مدل‌های مختلف رگرسیونی شامل، رگرسیونهای خطی<sup>۶</sup>، رگرسیونهای خطی مرکب<sup>۷</sup>، رگرسیونهای غیرخطی<sup>۸</sup>، جهت دستیابی به بهترین مدل مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج حاکی از آن بود که بر اساس نحوه پراکندگی داده ها و شاخصهای اولیه مدل، ضریب همبستگی (R) <sup>۹</sup>، ضریب تبیین (R<sup>2</sup>) <sup>۱۰</sup> و ضریب تبیین تصحیح شده (Adj=R<sup>2</sup>) <sup>۱۱</sup> بهترین مدل برای پیش بینی شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل مدل‌های رگرسیونی خطی مرکب می باشند.

۳۰۰ کلنی در هر میلی لیتر نمونه غیرقابل قبول شناخته شد و آزمایش مجدداً تکرار گردید. سپس از داده ها با کمک معادله زیر نسبت به محاسبه شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل استفاده شد [۱۲].

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d}$$

$\sum C$ : مجموع کلنی ها در دو رقت متوالی

$n_1$ : تعداد پتریهای (ظرف کشت) اولین رقت

$n_2$ : تعداد پتریهای (ظرف کشت) دومین رقت

$d$ : ضریب رقت در اولین رقت

#### ب) کلی فرم مدفوعی

به منظور شمارش کلی فرم مدفوعی از محیط کشت انوزین متیلین بلوآگار<sup>۱</sup> که میکروارگانیسم های مدفوعی در آن کلنی هایی به رنگ سبز درخشنده (جلادار) تولید می نمایند استفاده شد [۱۳]. برای محاسبه دقیق تعداد کلی فرمهای مدفوعی در هر میلی لیتر از شیرخام، مطابق روش به کارگرفته شده در شمارش کلی میکروارگانیسم ها، عمل شد [۱۲]. همچنین به منظور اطمینان از صحت داده ها از مشاهدات میکروسکوپی<sup>۲</sup> و تستهای تأییدی (IMVIC) استفاده شد [۱۳].

#### ج) pH

pH شیرخام توسط pH متر Metrohm 632 در دمای محیطی ۲۰ °C بر اساس استاندارد ملی ۲۸۵۲ اندازه گیری گردید [۱۴].

#### د) اسیدیته

اسیدیته شیرخام بر حسب گرم درصد اسید لاکتیک بر اساس استاندارد ملی ۲۸۵۲ اندازه گیری گردید [۱۴].

#### هـ) پتانسیل اکسیداسیون و احیاء (Eh)

پتانسیل اکسیداسیون و احیاء (Eh) شیر خام توسط pH متر Metrohm 632 در دمای ۲۰ °C اندازه گیری شد.

#### و) درصد چربی

چربی شیر به روش ژریر براساس استاندارد ملی ۳۶۶ اندازه گیری شد [۱۴].

1. Surface plot
2. Counter Isoline
3. Scattering
4. Linear Regression
5. Multiple Linear Regression
6. Non Linear Regression
7. Correlation Coefficient
1. Coefficient determination or R Square
11. Adjusted R Square

1. EMBA (Eosin Methylene Blue Agar)
2. Direct Microscopic

## ۲-۴- دستیابی به بهترین مدل رگرسیونی خطی

## مرکب

پس از درک اولیه، از اینکه مدل رگرسیونی خطی مرکب بهترین مدل برای توصیف و پیش بینی شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل می باشد، نسبت به دستیابی بهترین معادله بر اساس متغیر وابسته<sup>۱</sup> (شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل) و متغیرهای مستقل<sup>۲</sup> (کلی فرم مدفوعی، pH، اسیدیته، Eh، و درصد چربی) اقدام شد. یکی از بهترین روشها برای دستیابی به بهترین مدل رگرسیونی خطی مرکب استفاده از تکنیک Step wise است که شامل دو الگوی رگرسیون رو به عقب (Backward Regression) و رگرسیون رو به جلو (Forward Regression) می باشد. اساس کار در روش رگرسیون به عقب این است که با کمک نرم افزار Sigma Stat یکبار تمامی متغیرهای مستقل و اثرات متقابل آنها نسبت به متغیر وابسته به صورت مدل در می آید، سپس نرم افزار مرحله به مرحله با حذف متغیرهای مختلف نسبت به کارایی مدل حاصل اعلام نظر می نماید، اما در روش رگرسیون به جلو نرم افزار با افزودن متغیرهای مستقل در هر مرحله کارایی مدل را مورد سنجش قرار می دهد در نهایت با اعمال هر دو روش باید معادله و مدل یکسانی حاصل شود.

با بکارگیری تکنیک فوق معادلات زیر براساس رگرسیون خطی مرکب به ترتیب برای فصل بهار و تابستان بدست آمد:

$$\text{Total Count} = 3/36 + (0/119 \text{ pH} \times \text{Fecal Coliform})$$

$$\text{Total Count} = 7/56 - (1/51 \text{ Fat}) + (0/208 \text{ Fat} \times \text{Fecal Coliform})$$

آنچه که از معادلات فوق مشخص است حذف بسیاری از متغیرهای مستقل در مدل نهایی می باشد به طوریکه در مدل بهار فقط اثر متقابل pH و کلی فرم مدفوعی متغیرهای مستقل اصلی تعیین کننده مدل بوده ولی در مدل تابستان چربی و اثر متقابل چربی و کلی فرم مدفوعی متغیرهای مستقل اصلی تعیین کننده بودند. به طور خلاصه برای دستیابی به بهترین مدل خطی مرکب شاخصهایی از مدل باید مدنظر باشند، این شاخصها عبارتند از

1. Dependent Variable
2. Independent Variable

(ضریب همبستگی  $R^2$ ، ضریب تبیین  $R^2$ ، ضریب تبیین تصحیح شده  $\text{Adj.}R^2$ ، فاکتور بزرگ شدن واریانس VIF<sup>۶</sup>)، همچنین باید هیچگونه همبستگی بین متغیرهای مستقل<sup>۷</sup> در مدل نهایی وجود نداشته باشد. در دستیابی به مدل های مذکور این شاخصها مدنظر بوده اند. در جداول ۳ و ۴ نتایج آنالیز تابعیت شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل از متغیرهای مستقل در دو فصل بهار و تابستان ارائه شده است. همچنین نتایج آنالیز واریانس رگرسیون مدل انتخابی در جداول ۵ و ۶ ارائه شده است، آنچه که از این جداول مشهود است معنی دار بودن متغیر مستقل اثر متقابل pH و کلی فرم مدفوعی و همچنین ضریب ثابت<sup>۸</sup> در مدل بهار و معنی دار بودن متغیرهای مستقل درصد چربی و اثر متقابل درصد چربی و کلی فرم مدفوعی و همچنین ضریب ثابت در فصل تابستان می باشد.

## ۳-۴- دستیابی به پیش بینی کیفیت میکروبی

## شیرخام بر اساس شمارش میکروارگانیسم های

## مزوفیل توسط مدلهای حاصل

پس از دستیابی به مدلهای مطلوب بر این اساس نسبت به تهیه نقشه برای پیش بینی میکروبی شیرخام توسط روشهای پاسخ سطحی اقدام شد. در این روش با تبدیل معادلات به رویه های<sup>۹</sup> مناسب می توان روند تغییرات شمارش کلی میکروبی را نسبت به متغیرهای مستقل بررسی نمود. شکلهای ۱ و ۲ به ترتیب مربوط به رویه های حاصل از معادلات بهار و تابستان بر اساس مدلهای رگرسیونی خطی مرکب می باشد. همچنین به منظور ساده سازی مدل به طوریکه بتوان از آن به صورت نقشه ای جامع در واحدهای تولید استفاده کرد نقشه های پیش بینی براساس روش Counter Isoline آماده گردید (شکلهای ۳ و ۴). همان گونه که از شکلهای ۳ و ۴ مشخص می شود، از نقشه های حاصل به راحتی می توان جهت پیش بینی شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل استفاده نمود. به طوریکه در شکل ۳

3. Coefficient of Correlation

4. Coefficient of Determination or R . squar

5. Adjusted R Square

6. Variance Inflation Factor

7. Multicollinearity

8. Constant Coefficient

9. Surface plot

گردوغبار می شود. همچنین کاهش رطوبت خاک و افزایش احتمال ایجاد گردوغبار در محیط می تواند از عوامل افزایش میکروارگانیزم ها در شیر خام باشند [۱۰]. در مورد آب مصرفی می توان آنرا در زمره مهمترین عوامل در انتقال میکروارگانیزم های با منشاء مدفوعی به شیرخام دانست به طوریکه باکتریهای مدفوعی می توانند از طریق آب مصرفی به شیر خام انتقال یابند، این باکتریها شامل کلی فرمها، استریتوکوکهای مدفوعی<sup>۵</sup> و کلاستریدیومها<sup>۶</sup> می باشند. همچنین افزایش دما در دو فصل بهار و تابستان از عوامل مهم و اثرگذار در افزایش این میکروارگانیزم ها در آب مصرفی و به دنبال آن شیرخام می باشد [۱۰]. سطح تجهیزات شیردوشی نیز از عوامل بسیار مهم در انتقال میکروارگانیزم ها به شیرخام می باشد، تحقیقات نشان می دهد که ۲۰٪ از ماشینهای شیردوشی در بقایای حاصل از شیرخام موجود در خود حدود  $10^9 \text{ cfu/gr}$  میکروارگانیزم دارند [۱۶].

که این مقدار در فصول گرم سال قابلیت افزایش نیز دارد. به طور کلی می توان نتیجه گرفت افزایش انتقال میکروارگانیزم ها از طریق عوامل ذکر شده به همراه افزایش میانگین حرارت در فصول بهار و تابستان از مهمترین عوامل افزایش شمارش کلی میکروارگانیزم ها در شیرخام می باشند. همچنین می توان گفت علت اصلی قرار گرفتن کلی فرم مدفوعی بعنوان متغیر مستقل کنترل کننده مدل در دو فصل بهار و تابستان به آب مصرفی در این دو فصل بستگی دارد، که می توان افزایش میانگین درجه حرارت در این دو فصل و همچنین کیفیت پایین آب مصرفی در واحدهای تولیدی را از عوامل مؤثر در قرارگیری این متغیر مستقل در هر دو مدل دانست [۱۰]. عامل کلی فرم مدفوعی به همراه اثرگذاری مستقیم pH بعنوان فاکتور داخلی مؤثر بر رشد میکروارگانیزم ها را می توان از دلایل مهم قرارگیری pH بعنوان یکی از متغیرهای مستقل دانست [۱۷]. همچنین افزایش چشمگیری میانگین درجه حرارت در فصل تابستان و تأثیر مستقیم آن بر افزایش تعداد و تأثیر میکروارگانیزم های لیپولیتیک، می تواند تأثیر بسزایی در قرارگیری درصد چربی به عنوان متغیری مستقل به صورت اثر متقابل با کلی فرم مدفوعی در مدل تابستان داشته باشد.

براساس مقادیر مختلف pH و کلی فرم مدفوع، و در شکل ۴ براساس مقادیر مختلف درصد چربی و کلی فرم مدفوعی محدوده شمارش کلی میکروارگانیزم های مزوفیل قابل دستیابی می باشد. نکته حائز اهمیت این است که اصولاً در بحث مدلسازی قدرت و صحت مدل های مذکور در پیش بینی معمولاً توسط ضریب همبستگی (R) و ضریب تبیین (R<sup>2</sup>) تعیین می شود. بر این اساس جدول ۷ بر مبنای تعداد نمونه مورد آزمایش معنی دار بودن، مدل های خطی مرکب را در سطوح  $p < 0.05$  و  $p < 0.01$  نشان می دهد، که براین اساس مدل های بدست آمده از این پژوهش با احتساب ۲۳ نمونه در فصل بهار و ۲۰ نمونه در فصل تابستان معنی دار بوده و از قدرت و صحت مناسبی برخوردارند.

#### ۴-۴- بررسی متغیرهای مستقل کنترل کننده هر

#### مدل و علل تأثیرگذاری متغیرها براساس فصول

همانگونه که از مدل های حاصل در دو فصل بهار و تابستان مشخص است، متغیرهای مستقل هر مدل متفاوت می باشد. در مدل بهار متغیرهای pH و کلی فرم مدفوعی متغیرهای مستقل کنترل کننده مدل می باشند و در مدل تابستان متغیرهای چربی و کلی فرم مدفوعی متغیرهای مستقل کنترل کننده مدل می باشند. یکی از دلایل مهم در اثر گذاری این متغیرهای مستقل تأثیر شرایط محیطی بر شمارش کلی میکروارگانیزم های مزوفیل می باشد. شرایط محیطی مؤثر بر کیفیت میکروبی شیرخام عبارتند از:

۱- هوا [۱۵].

۲- آب مصرفی [۱۰].

۳- سطح تجهیزات شیردوشی (شرایط بهداشتی) [۱۶].

انتقال ذرات گرد و غبار از طریق هوا به سطح شیر از عوامل افزایش دهنده بار میکروبی شیرخام می باشد. حدوداً ۵۰٪ میکروارگانیزم های موجود در گرد و غبار شامل میکروکوکوس ها، کورینه فورمها<sup>۱</sup> و اسپورهای باسیلوس<sup>۳</sup> می باشند [۱۵]. با نگاهی به میکروارگانیزم های فوق می توان دریافت که اکثر این میکروارگانیزم ها در طیف میکروارگانیزم های قابل شمارش در شیر خام می باشند و واضح است که افزایش درجه حرارت در فصول بهار و تابستان منجر به افزایش نسبی میکروارگانیزم ها در

4. Coliforms  
5. Fecal Streptococci  
6. Clostridia

1. Micrococci  
2. Coryne Forms  
3. Bacillus Spores



جدول ۱ متغیرهای اندازه گیری شده از شیرخام در فصل بهار

| نمونه | شمارش کلی میکروارگانیسمهای مزوفیل <sup>۴</sup> | کلی فرم مدفوعی <sup>۴</sup> | pH   | اسیدیته <sup>۳</sup> | پتانسیل اکسیداسیون و احیاء <sup>۲</sup> (Eh) | چربی <sup>۱</sup> |
|-------|--|-----------------------------|------|----------------------|--|-------------------|
| ۱     | ۸/۱۱۰۵   | ۶/۰۷۹                       | ۶/۵  | ۰/۳۲۴                | ۰/۰۲۵  | ۳/۴۹              |
| ۲     | ۷/۴۷۷  | ۵/۴۷۷                       | ۶/۵۶ | ۰/۲۷۹                | ۰/۰۲۲  | ۳/۸۶              |
| ۳     | ۷/۳۵۲  | ۴/۴۴۷                       | ۶/۵۹ | ۰/۲۷۴                | ۰/۰۱۷  | ۳/۳۹              |
| ۴     | ۸/۱۰۵  | ۵/۵۳۱                       | ۶/۵۹ | ۰/۲۸۸                | ۰/۰۲۲  | ۳/۳۸              |
| ۵     | ۶/۴۱   | ۴/۱۱۳                       | ۶/۶۹ | ۰/۲۷۹                | ۰/۰۱۸  | ۳/۹۶              |
| ۶     | ۶/۰۷۹  | ۴/۱                         | ۶/۷  | ۰/۲۸۸                | ۰/۰۱۸  | ۳/۶۷              |
| ۷     | ۸/۱۱   | ۵/۶۲۳                       | ۶/۶۸ | ۰/۳۲۴                | ۰/۰۱۹  | ۳/۰۹              |
| ۸     | ۷/۹۴   | ۶/۰۷۹                       | ۶/۶۳ | ۰/۲۷۹                | ۰/۰۲   | ۳/۷۶              |
| ۹     | ۸/۲۰۵  | ۶/۴۷۷                       | ۶/۷۴ | ۰/۳۱۵                | ۰/۰۱۴  | ۳/۰۹              |
| ۱۰    | ۸/۲۵۵  | ۵/۶۲۳                       | ۶/۸۲ | ۰/۳۰۶                | ۰/۰۱۱  | ۳/۴۱              |
| ۱۱    | ۸/۲۳۶  | ۵/۳۸۹                       | ۶/۸۱ | ۰/۲۵۲                | ۰/۰۱۲  | ۳/۰۱              |
| ۱۲    | ۷  | ۵/۳۹۷                       | ۶/۷۱ | ۰/۲۵۲                | ۰/۰۱۷  | ۳/۵۹              |
| ۱۳    | ۸/۰۵۱  | ۵/۷۴۱                       | ۶/۷۱ | ۰/۲۹۷                | ۰/۰۱۷  | ۳/۸۵              |
| ۱۴    | ۷/۷۷۸  | ۵/۱۴۶                       | ۶/۸۵ | ۰/۲۸۸                | ۰/۰۱   | ۳/۱۳              |
| ۱۵    | ۷/۴۷۳  | ۵/۹۵۴                       | ۶/۴۹ | ۰/۳۳۳                | ۰/۰۲۷  | ۲/۹۹              |
| ۱۶    | ۸/۳۸   | ۶/۳۰۱                       | ۶/۷۲ | ۰/۳۰۶                | ۰/۰۱۶  | ۳/۶۴              |
| ۱۷    | ۷/۷۰۷  | ۵/۶۸۱                       | ۶/۶  | ۰/۲۹۷                | ۰/۰۲۱  | ۳/۹۴              |
| ۱۸    | ۷/۹۱۶  | ۵/۸۱۲                       | ۶/۷۱ | ۰/۲۲۵                | ۰/۰۱۶  | ۳/۳۳              |
| ۱۹    | ۷/۱۶۹  | ۵/۲۵۵                       | ۶/۷۳ | ۰/۲۸۸                | ۰/۰۱۵  | ۳/۳۷              |
| ۲۰    | ۸/۰۴۱  | ۵/۵۵۶                       | ۶/۵۷ | ۰/۲۹۷                | ۰/۰۲۳  | ۳/۴۴              |
| ۲۱    | ۸  | ۵/۹۵۴                       | ۶/۷۸ | ۰/۲۵۲                | ۰/۰۱۳  | ۳/۲۸              |
| ۲۲    | ۸/۲۵۵  | ۵/۷۷۸                       | ۶/۶۵ | ۰/۳۶۹                | ۰/۰۲   | ۳/۳۴              |
| ۲۳    | ۷/۸۸۹  | ۵/۳۴۲                       | ۶/۶  | ۰/۲۶۱                | ۰/۰۲۲  | ۳/۱۷              |

۱- بر مبنای درصد

۲- میلی ولت (mv)

۳- بر مبنای گرم درصد اسید لاکتیک

۴- بر مبنای لگاریتمی

جدول ۲ متغیرهای اندازه گیری شده از شیر خام در فصل تابستان

| نمونه | شمارش کلی میکروارگانیسمهای مزوفیل <sup>۴</sup> | کلی فرم مدفوعی <sup>۴</sup> | pH   | اسیدیته <sup>۳</sup> | پتانسیل اکسیداسیون و احیاء <sup>۲</sup> (Eh) | چربی <sup>۱</sup> |
|-------|--|-----------------------------|------|----------------------|--|-------------------|
| ۱     | ۷/۴۱   | ۶/۷۹۲                       | ۶/۲۳ | ۰/۲۹۷                | ۰/۰۴۳  | ۳/۴۹              |
| ۲     | ۶/۹۷۷  | ۶/۲۴۵                       | ۶/۵۲ | ۰/۴۳۲                | ۰/۰۲۳  | ۳/۵۹              |
| ۳     | ۷/۱۷۶  | ۷/۰۱۷                       | ۶/۶۹ | ۰/۲۷                 | ۰/۰۱۸  | ۳/۲۵              |
| ۴     | ۵/۷۷۸  | ۵/۴۳۱                       | ۵/۶۴ | ۰/۶۴۸                | ۰/۰۷۸  | ۳/۵۳              |
| ۵     | ۷/۱۵   | ۶/۴۱۹                       | ۵/۲۱ | ۰/۵۶۷                | ۰/۰۱۰۲                                       | ۳/۵۴              |
| ۶     | ۶/۶۰۲  | ۶/۵۴۱                       | ۵/۳۶ | ۰/۶۰۳                | ۰/۰۹۳  | ۳/۵               |
| ۷     | ۶/۷۷۸  | ۶/۰۲۱                       | ۵/۵۹ | ۰/۶۹۳                | ۰/۰۸   | ۳/۳۶              |
| ۸     | ۷/۲۱   | ۶/۳۷                        | ۶/۵۱ | ۰/۶۷۵                | ۰/۰۲۸  | ۳/۳۹              |
| ۹     | ۵/۹۲۴  | ۵/۵۳۱                       | ۶/۴۸ | ۰/۴۵                 | ۰/۰۲۹  | ۳/۸۵              |
| ۱۰    | ۷/۲۶   | ۷/۲۰۴                       | ۵/۴۹ | ۰/۳۱۵                | ۰/۰۲۸  | ۳/۱۳              |
| ۱۱    | ۷/۱۹   | ۶/۳۰۱                       | ۶/۵۶ | ۰/۳۱۵                | ۰/۰۲۳  | ۳/۲۷              |
| ۱۲    | ۶/۶۹۸  | ۶/۶۵۳                       | ۵/۸۷ | ۰/۶۳۹                | ۰/۰۶۵  | ۳/۳۶              |
| ۱۳    | ۶/۹۲   | ۶/۴۷۷                       | ۶/۷  | ۰/۲۸۸                | ۰/۰۱۷  | ۳/۱۳              |
| ۱۴    | ۶/۱۷۶  | ۵/۸۹۲                       | ۶/۴۵ | ۰/۴۵                 | ۰/۰۳۱  | ۳/۶۲              |
| ۱۵    | ۷/۴۰۷  | ۶/۲۹۶                       | ۶/۱  | ۰/۶۴۸                | ۰/۰۵۲  | ۳/۸               |
| ۱۶    | ۷/۶۵۲  | ۷/۱۷۶                       | ۵/۴۸ | ۰/۶۵۹                | ۰/۰۸۶  | ۳/۶۴              |
| ۱۷    | ۷/۲۸۴  | ۶/۰۷۵                       | ۶/۶۱ | ۰/۳۸۷                | ۰/۰۲۲  | ۳/۲۵              |
| ۱۸    | ۷/۳۹۷  | ۷/۲۳                        | ۶/۶۲ | ۰/۴۰۵                | ۰/۰۲۱  | ۳/۳۳              |
| ۱۹    | ۷/۶۱۷  | ۷/۴۹۱                       | ۶/۴۱ | ۰/۴۵                 | ۰/۰۳۳  | ۳/۱۸              |
| ۲۰    | ۷/۴۸   | ۷/۰۴۱                       | ۶/۴  | ۰/۴۰۵                | ۰/۰۳۴  | ۳/۰۲              |

۱- بر مبنای درصد

۲- میلی ولت (mv)

۳- بر مبنای گرم درصد اسید لاکتیک

۴- بر مبنای لگاریتمی



جدول ۳ نتایج آنالیز تابعیت شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل در فصل بهار

| متغیرهای مستقل <sup>۳</sup> | ضریب <sup>۲</sup> | انحراف معیار <sup>۱</sup> | t    | P        | VIF  |
|-----------------------------|-------------------|---------------------------|------|----------|------|
| ثابت مدل                    | ۳/۳۶۵             | ۰/۶۹۳                     | ۴/۸۶ | < ۰/۰۰۰۱ | —    |
| کلی فرم مدفوعی pH×          | ۰/۱۱۹             | ۰/۰۱۸۷                    | ۶/۳۵ | < ۰/۰۰۰۱ | ۱/۰۰ |

جدول ۴ نتایج آنالیز تابعیت شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل در فصل تابستان

| متغیرهای مستقل <sup>۳</sup> | ضریب <sup>۲</sup> | انحراف معیار <sup>۱</sup> | t     | P        | VIF    |
|-----------------------------|-------------------|---------------------------|-------|----------|--------|
| ثابت مدل                    | ۷/۵۵۸             | ۰/۹۶۰۰                    | ۷/۸۷  | < ۰/۰۰۰۱ | —      |
| چربی                        | -۱/۵۱۵            | ۰/۳۵۷۷                    | -۴/۲۳ | ۰/۰۰۰۱   | -۰/۷۸۲ |
| کلی فرم مدفوعی × چربی       | ۰/۲۰۸             | ۰/۰۳۷۲                    | ۵/۶۱  | < ۰/۰۰۰۱ | ۱/۰۳۵  |

جدول ۵ نتایج آنالیز واریانس رگرسیون مدل انتخابی در فصل بهار

|                        | DF | SS   | MS    | t    | P        |
|------------------------|----|------|-------|------|----------|
| رگرسیون <sup>۴</sup>   | ۱  | ۵/۱۶ | ۵/۱۶۱ | ۴۰/۳ | < ۰/۰۰۰۱ |
| باقیمانده <sup>۵</sup> | ۲۱ | ۲/۶۹ | ۰/۱۲۸ | —    | —        |
| کل <sup>۶</sup>        | ۲۲ | ۷/۸۵ | ۰/۳۵۷ | —    | —        |

جدول ۶ نتایج آنالیز واریانس رگرسیون مدل انتخابی در فصل تابستان

|                        | DF | SS   | MS    | t    | P        |
|------------------------|----|------|-------|------|----------|
| رگرسیون <sup>۱</sup>   | ۲  | ۳/۵۶ | ۱/۷۸۱ | ۱۶/۱ | < ۰/۰۰۰۱ |
| باقیمانده <sup>۲</sup> | ۱۷ | ۱/۸۸ | ۰/۱۱۱ | —    | —        |
| کل <sup>۳</sup>        | ۱۹ | ۵/۴۴ | ۰/۲۸۷ | —    | —        |

جدول ۷ حدود بحرانی ضریب همبستگی (R) در رگرسیون مرکب دو متغیره بر مبنای سطوح  $p < ۰/۰۱$  و  $p < ۰/۰۵$ 

| درجه آزادی <sup>۷</sup> | $p < ۰/۰۵$ | $p < ۰/۰۱$ |
|-------------------------|------------|------------|
| ۵                       | ۰/۷۵۴      | ۰/۸۷۴      |
| ۱۰                      | ۰/۵۷۶      | ۰/۷۰۸      |
| ۱۵                      | ۰/۴۸۲      | ۰/۶۰۶      |
| ۲۰                      | ۰/۴۲۳      | ۰/۵۳۷      |
| ۲۵                      | ۰/۳۸۱      | ۰/۴۸۷      |
| ۳۰                      | ۰/۳۴۹      | ۰/۴۴۹      |

1. Standard Error
2. Coefficient
3. Independent Variables
4. Regression
5. Residual
6. Total
7. Degrees of Freedom

- growth rate of *Staphylococcus xylosum*. J. Appl. Bacteriol 1987; 62:543-550.
- [9] Nderu FMK, Genigeorgis CA. Prediction staphylococcal growth in cured meats. In : Proc. 20 th world Vet 1975; Conger. I, pp: 812-813.
- [10] Chambers JV. The Microbiology of Raw Milk. In Dairy Microbiology Hand Book 2002; Robinson, R.K.Ed., 3th Ed., Wiley Interscience. New York. pp. 39-90.
- [11] IDF. In Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk, Document No. 120. International Dairy Federation, Brussels. Belgium; 1980.
- [12] International Standards Organization. Milk and milk products; enumeration of colony forming units of microorganisms, Colony count technique at 30°C . ISO 6610; 1992.
- [13] International Standards Organization. milk and milk products; enumeration of Coliforms. Part 1 : Colony technique at 30°C without resuscitation . ISO 5541; 1992.
- [14] International Standards Organization. Standards Methods for the Examination of Dairy Products. 14 th ed. ISO 488; 1991.
- [15] Underwood HM, McKinnon CH, Davies FL, Cousins CM. XIX th International Dairy Congress. Congress paper 1E.p.373; 1974.
- [16] Thomas SB, Druce RG, King KP. The microflora of poorly cleansed farm dairy equipments . J. Appl. Bacteriol 1966; 29(2):409-416.
- [17] مرتضوی ع، حداد خدادپرست م ح، فرهوش ر، ناصحی ب، مکرم ر. میکروبیولوژی غذایی مدرن . جلد اول . نشر مشهد . مشهد ۱۳۷۲.
- [1] Ross T, McMeekin TA. Predictive Microbiology. Int.J.Food Microbiol 1994; 23: 242-268.
- [2] Ratkowsky DA, Ross T, MC Meekin TA, Olley J. Comparison of Arrhenius-type and Bełhardek-type models for prediction of bacterial growth in foods. J. Appl. Bacteriol 1997; 71:452-459.
- [3] Genigeorgis C, Saroukidis M, Martins S. Initiation of staphylococcal growth in processed meat environments. Appl. Microbiol 1971; 21:940-942.
- [4] Metaxopoulos J, Genigeorgis C, Fanelli MJ, Franti C, Cosma E. Production of Italian Dry Salami, I: initiation of staphylococcal growth in salami under commercial manufacturing condition J. Food Prot 1981; 44: 347-352.
- [5] Whiting RC, cygnarowicz-Provost M. A quantitative model for bacterial growth and decline. Food Microbiol 1992; 269-277.
- [6] Gibson AM, Bratchell N, Roberts TA. Predictive Microbial Growth: growth responses of salmonella in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. Int.J. Food Microbiol 1988; 6:155-178.
- [7] Ikawa JY, Genigeorgis C. Probability of growth and toxin production by Nonproteolytic *Clostridium botulinum* in rochfish fillets Stored under modified atmospheres. Int. J. Food Microbiol 1987; 4 : 167-181.
- [8] McMeekin TA, Chandler RE, Doe PE, Garland CD, Olley J, Putro S, Ratkowsky DA. Model for the combined effect of temperature and water activity on the

## ۶- منابع

## Prediction of Microbial Quality in Raw Milk by Mathematical Models

Yavarmanesh, M.<sup>1\*</sup>, Mortazavi, A.<sup>2</sup>, Habibi Najafi, M.B.<sup>2</sup>

- 1- Instructor of Food Science and Technology Department, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
- 2- Professor, Food Science and Technology Department, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

In response to recent concerns regarding the enumeration of microbial load of raw milk in shorter time and lower cost and the need to ensure that milk destined for dairy plants has met the acceptable load therefore the mathematical models have been developed. The aims of the present study were to examine various factors (e.g. pH, Eh, fecal coliform and milk fat) as a possible indicators of microbial load in different seasons and to assess the use of mathematical models for such correlation. Raw milk was Collected from various industrial farms in Mashhad city at two different seasons-spring and summer-and the best model for prediction of total count in raw milk using various factors was then conducted by mathematical models. The result indicated that multiple linear regression model was the best equation ( $R^2 = 0.65$ ). The result also showed that the equations for two different seasons - spring and summer - were different, as interaction between fecal coliform and pH was the main determined factor of model in spring season equation. Also in summer season equation, fat and interaction between fecal coliform and fat were the main factors, but fat factor had the most effect in equation. In this study most of the effective factors in microbial quality and their effects for prediction of raw milk are investigated.

**Key words :** Modelling, Prediction, Total count, Raw milk.

---

\* Corresponding author E-mail address: masoud53y@yahoo.com