بررسی آلودگی بار میکروبی کل، کلی فرم و اشرشیا کلی شیرخام از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه در استان لرستان

بهروز یاراحمدی[1]، حمیدرضا مهدوی[2]، اعظم مؤیدی نژاد[3]

1- مربی، گروه فراورده های دامی، مرکز تحقیقات کشاورزی ومنابع طبیعی استان لرستان

2- استادیار، گروه فراورده های دامی، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

3- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، داشگاه بوعلی همدان

یافته / دوره دهم / شماره 3 / پاییز 87 / مسلسل 37

چکیده

دریافت مقاله: 87/4/3، ***پذیرش مقاله***: 87/6/13

Ø مقدمه: کیفیت اولیه شیر خام متأثر از عواملی همچون تغذیه دام، سلا متی دام، ترکیب شیمیایی شیر و فعالیت میکروب موجود درآن بوده که بر روی محصولات نهایی تأثیرگذ ار می باشد. بنابر این کیفیت شیر خام به مدت زمان و شرایطی که شیر از تولید تا تحویل به کارخانه طی می کند بستگی تمام دارد. دراستان لرستان 97% شیر تولیدی گاوها از واحدهای کوچک و روستایی بد ست می آید. پژوهش فوق با هدف بررسی کانون های آلودگی شیرخام و شناخت نقاط بحرانی آلودگی شیر خام از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه در سال1382 انجام گرفت.

Ø مواد و روش‌ها: جهت نمونه گیری از شیرخام مراکز با ظرفیت جمع آوری شیر بیش از 3 تن، 1/5 تا 3 تن و کمتر از 1/5 تن به عنوان مراکز با ظرفیت بالا، متوسط و کم تعیین گردید. مراحل نمونه برداری شامل نمونه گیری از شیر پستان، ظروف جمع آوری و نگهداری شیر، مخرن ماشین سیار جمع آوری، مخزن سردکن مرکز جمع آوری و از تانکر حمل شیر به کارخانه بود. آزمایش شمارش کلی بار میکروبی(**TC**) وآزمایشهای شیمیایی شامل میزان اسیدیته و **pH** شیر بود. کل نمونه جمع آوری شده در هر ماه 45 نمونه و در طی 12 ماه 540 نمونه جمع آوری گردید. داده ها جهت تجزیه و تحلیل آمار به لگاریتم درپایه 10 تغییر یافته و توسط نرم افزار **SPSS 11. 5** با استفاده از روش **GLM**)) آنالیزواریانس گردید.

Ø یافته‌ها: میانگین بار میکروبی **TC**)) در کلیه فصول سال **cfu/ml** 0/37 ± 6/43 بود. اثر ماههای مختلف سال، مراحل مختلف نمونه گیری از شیر و ظرفیت مراکز جمع آوری بر روی بار میکروبی کل، کلی فرم و اشرشیا کلی کاملاً معنی دار بود (**p**< 0/01) . نتایج نشان داد کمترین بار میکروبی در دی ماه با **cfu/ml** 0/38 ± 6/31 و بیشترین بار میکروبی در مرداد ماه بامیزان **cfu/ml** 0/31 ± 6/57 بود. نتایج نشان داد کاهش بار میکروبی از شهریور ماه شروع و در دی و بهمن به کمترین میزان می رسید. نتایج همچنین نشان داد بیشترین میزان باکتریهای کلی فرم و اشرشیا کلی در شهریور ماه بوده و کمترین میزان کلی فرم در شیر خام در دی و بهمن و اشرشیا کلی در بهمن و اسفند ماه بود. ضرایب همبستگی نشان داد بین بار میکروبی با کلی فرم (**r**=0/90) و با اشرشیا کلی (**r**=0/79) ، همبستگی مثبت و معنی داری وجود داشت (**p**< 0/01) .

Ø بحث و نتیجه‌گیری: بطور کلی مشکل مهم جمع آوری شیر در استان لرستان، دوری برخی مراکز جمع آوری شیر و مدت زمان طولانی انتقال شیر از این مراکز تا کارخانه شیر بوده، که بعنوان یکی از علل مهم افزایش بار میکروبی کل از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه می باشد. علاوه بر این امکانات ارتباطی محدود برخی از روستاها باعث افزایش بار میکروبی شیر خام در این مناطق گردیده است.

Ø کلید واژه‌ها: شیر خام، بار میکروبی، کلی فرم، اشرشیا کلی

آدرس مکاتبه: خرم آباد، مرکز تحقیقات کشاورزی ومنابع طبیعی استان لرستان

پست الکترونیک: Behrouzy@Gmail.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

در صنعت شیر کیفیت رکن اساسی است کـه متخصـصین ارزش آن را بالاتر از کمیت (تولید) قلمداد می کنند. کیفیت شیر در کلیه مراحل تولید، جمع آوری و نگهداری تا تولید محـصول تأثیرگذار بوده و عدم رعایت الزامات کیفی باعث کـاهش بـازده تولید و عملکرد محصولات خواهد شد. در این بین عدم آشنایی دامداران با اصول بهداشـتی تولیـد شـیر و شـیوه هـای صـحیح نگهداری آن منجر به هدر رفتن بسیاری از سرمایه های دامی و نیروی کار دامداران می شود. کیفیت اولیـه شـیر خـام متـأثر از عواملی همچون تغذیه و سلا متی دام، ترکیب شیمیایی شـیر و فعالیت میکروبی موجود درآن بوده کـه بـر روی فـرآورده هـای نهایی تأثیرگذ ار می باشد. بنابر این کیفیت شیر خام بـه مـدت زمان و شرایطی که شیر از تولید تا تحویل به کارخانه طـی مـی کند بستگی تمام دارد. شیری که از پستان گاو سالم دوشیده می شود فاقد بـاکتری مـی باشـد ولـی غالبـاً بـا انـواع میکروبهـا و استرپتوکوکهایی که معمولاً در مجاری شیر وابتدای پستان بـه سر می برندآلوده می شود. تعداد باکتریها در شیر تازه از چند صد تا چند هزار در هر میلی لیتر شیر متغیر است ولی در شرایط غیر پاستوریزه برای بهداشت و سلامت انسان خطرنـاک مـی باشـد. روشهای سالم سازی شیر متکی به اصل جلوگیری از رشد ونمـو میکروبها ودر نتیجه حفظ ونگهداری کیفیت غذایی آن می باشد. عوامل مهم آلودگی باکتریایی شیر شامل گاوهـای ورم پـستانی، آلودگی سطوح داخلی و خارجی پستان گاو، شستشوی نامناسب وسایل شیردوشی و نگهداری شیر در دماهای نامناسب می‌باشند (1، 15، 16، 24، 26، 33، 36) . بار میکروبی کل بعنوان یکی از جنبه‌های مهم پیش‌بینی سلامت گاو و بهداشت شیر دوشی بوده و نشانگر نگهداری مناسـب شـیر و ذخیـره آن در دمـای پـایین مـی‌باشـد (8) . جایـارائو[1] و همکـاران (2004) در شـمارش باکتریهای توتال کانت و کلی‌فرم در نمونه شیر 126 مزرعه گـاو شیری در پنسیلوانیای آمریکا نتیجه گرفتند که مدیریت و نظارت مناسب بر بهداشت پستان گاوهای گله در بهبود کیفیت شیر خام مؤثر می‌باشد (28) .

در آمریکا TBC بالاتر از 100000 cfu /ml بعنوان شـیر بـا کیفیت پایین طبقه‌بندی می‌شود (36) . بـاکتری هـای کلـی فـرم، باسیل های گرم منفی، بـدون اسـپور، میلـه ای شـکل، هـوازی یـا بیهوازی اختیاری هستند که قادرنـد در دمـای 30 الـی 37 درجـه سانتی گراد در مدت 24 الی 48 سـاعت لاکتـوز را تخمیـر کـرده و گاز و اسید تولید نمایند (3، 13) . منبع اصلی ایـن گـروه باکتریهـا روده حیوانات خون گرم است. گونه های غیـر روده ای نیـز در ایـن گروه یافت می شود. گروههای مختلف کلی فـرم هـا شـامل: الـف- گروه آنترو باکتر کلبسیلا و سراسیا ب-گـروه سـیترو بـاکتر شـامل ادوارد سیلا[2] و آریزونا[3] ج-گروه پرووِیدنسیا (13) . مهمتـرین گـروه از گونه های شناخته شده شامل آنترو بـاکترو کلـسبیلا مـی باشـد. این گروه از باکتری ها در حرارت پاستوریزه از بـین مـی رونـد و در محصولات پاستوریزه بعنوان شاخص بهداشتی وجود آلودگی ثـانوی مورد بررسی قرار می گیرند (3) . کلـی فـرم هـا در مـورد فـرآورده های خام اهمیت نداشته و فقط می توانند بـه عنـوان درجـه بنـدی میزان آلودگی مورد بررسی قرار گیرند. اشرشیا کلـی عـضو خـانواده اینترو باکتریاسی[4] می باشد و قادر به تخمیر لاکتوز و تولید اسـید و گاز هستند جـنس Escherichia شـامل شـش گونـه اسـت کـه جنس اشرشیا کلی[5] گونه شاخص آن می باشد (14، 30) .

اشرشیاکلی معمولترین ارگانیسم هوازی در دسـتگاه گـوارش انسان و برخی از حیوانات دیگر است و شاخص آلودگی مواد غـذایی و آب به مدفوع می باشد. طبـق گزارشـهای موجـود اشرشـیاکلی از طریق آب، گوشت، شیر و فرآورده های آن بـه انـسان منتقـل مـی

1. Jayarao
2. Edwadsiella
3. Arizona
4. Entero bocteriaceae
5. E. coli

Archive of SID
www.SID.ir

شود. مواد غذایی پخته چنانچه مجدداً آلوده نشوند عاری از آلـودگی هستند زیرا این باکتری در حرارت 55 درجـه سـانتی گـراد از بـین مـی رود (3، 13، 17، 30) . کـل شـیر تولیـدی گاوهـا در دنیـا بـر اساس آمـار FAO (2004) بـه میـزان 515/84 میلیـون تـن و در کشور ما در سال 1383 میزان تولید شـیر خـام 6/72 میلیـون تـن بود (6، 20) . استان لرستان با6/5 میلیون واحـد دامـی و 85 هـزار بهره بردارنقش مهمی در دامپروری و اقتصاد کـشور دارا مـی باشـد بطوریکه 5% جمعیت دامی کشور را به خـود اختـصاص داده اسـت. استان لرستان با 229 هزار تن تولید شیر در سال 1382بـه میـزان 7% نرخ رشد در زمینه تولیـد شـیر نـسبت بـه سـال 1381داشـته است، که این مقدار شیر از 40917 گاو اصیل 141338 گـاو دورگ و 155227 گاو بومی استحصال شده است. این میزان شیر تولیـدی بـرای گاوهـای اصـیل، دورگ و بـومی بـه ترتیـب 26/81، 44/8، 10/7% بوده است. تقریباً 97% تولیـد شـیر از واحـدهای کوچـک و روستایی بد ست آمده و در طی سالهای گذ شـته تعـداد 87 مرکـز جمع آوری شیر با ظر فیت 398 تن در سطح شهرسـتانهای اسـتان لرستان ایجاد شده است (2، 5) . در این خـصوص در اسـتانهای بـا ظرفیت تولید شیر بالا که عمدتاً شیر تولیـدی از منـاطق روسـتایی جمع آوری می شود، تحقیقات چنـدانی صـورت نگرفتـه اسـت. در این پژوهش هدف بررسی اثرات فاکتورهایی از قبیل مـاه و ظرفیـت مراکز جمع آوری شیر و مراحل مختلـف نگهـداری و حمـل شـیربر روی کیفیت باکتریولوژیکی شیر شامل بار میکروبی کل، کلی فرم و اشرشیا کلی از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه بـوده تـا بتـوان کانون های مهم آلودگی شیرخام در این پروسه تعیین شود.

مواد و روشها

جهـت بررسـی فلـور میکروبـی شـیرخام اسـتان لرسـتان، شیرخام تحویلی توسط مراکز با ظرفیت جمع آوری شـیر بـیش از 3 تن، بین 1/5 تا 3 تن و کمتر از 1/5 تن به عنوان مراکـز بـا ظرفیت بالا، متوسط و کم و مراحل نمونه برداری شـامل نمونـه گیری از شیر پستان، ظرف، بیدون کلی یا شیر سردکن، مخـزن ماشین سیار جمع آوری، مخزن سردکن مرکـز جمـع آوری و از تانکر حمل شـیر کارخانـه بـود. آزمایـشهای میکروبـی شـامل : شـمارش کلـی میکروبـی[1]، کلـی فـرم[2] و اشرشـیاکلی مطـابق استانداردهای تدوین شده توسـط اسـتاندارد هـای شـماره 356 (1346) ، 2852 و 2629 (1368) ، بر روی نمونه ها انجام شد.

جهـت شـمارش باکتریهـای شـیر از شـمارش مـستقیم میکروسکوپی، پلیت استاندارد (SPC) یـا روش شـمارش کلـی باکتریایی (TBC) که عموماً به عنوان معرف شـرایط بهداشـتی شیر در طی فرآیند تولید و فرآوری استفاده می شـود (15، 28) . برای باکتریهای کـل (TC) بـا اسـتفاده از محـیط کـشت[3] در دمای انکوباسیون 31 ± 1^{o} C و به مـدت 72 سـاعت نگهـداری شدند. در این طـرح بدلیل تعـداد فـراوان نمـونه هـا و حجـم بالای محیط کشت مصرفی جهـت تـشخیص و تعیـین بـاکتری اشرشـیاکلی و کلیفـرم بـه جـای اسـتفاده از روش MPN از محیط‌کشت کروم آگار(ECC) برای تشخیص کلـی فـرم هـا و اشرشیا کلی و VRB استفاده شد.

برای تشخیص و تعیین میزان باکتریهای سـرماگرادر مراحـل مختلف از محـیط کـشت اسـکیم میلـک آگـار[4] در دمـای 6درجـه سانتی گراد و بمدت 10 روزاستفاده گردید. جهت شمارش بـاکتری های شیر با استفاده از رقت های مختلف تعداد کلنی های تـشکیل شده بر حسب CFU[5] در هر میلی لیتر شیر خـام توسـط دسـتگاه Colony Counter مورد شمارش قرار گرفت. کـل نمونـه هـا در هر ماه 45 نمونه و در 12 ماه 540 نمونه بود. داده های پس از کـد گذاری و استخراج در نرم افزار Excel ذخیره گردیده و پس از بـاز بینی مجدد داده هـای حاصـل بـصورت LOG درپایـه 10 تغییـر

1. TC
2. Coliform
3. Plate Count Agar
4. SkimMilkAgar
5. Colony Forming Unit

Archive of SID
www.SID.ir

یافته(23، 29) وتوسط نرم افزار SPSS 11. 5 با استفاده از روش GLM[1] و روند Multivariate آنالیزواریانس گردید. مدل آماری به شرح ذیل می باشد:

$$Yijklm = m + Li + Rj + + Sk + eijkl$$

m = میانگین صفت مشاهده شده

Li =اثر (گروه بندی بر حسب میزان تولید) سطح ظرفیت

i = 1 ،2 ،3

Rj =اثر مرحله نمونه گیری

j= 1 ،2 ،3 ،4 ،5

S k =اثر ماه

eijkl =اشتباه آزمایشی

یافته ها

1- بار میکروبی کل

نتایج آزمایشها نشان داد میانگین بار میکروبی (TC) در کلیه فصول سال در استان لرستان 0/37 cfu/ml ± 6/43 بود. اثر ماههای مختلف سال و مراحل مختلف نمونه گیری از شیر بر روی بار میکروبی کل کاملاً معنی دار بود (p<0/01) . اثر ظرفیت های مختلف جمع آوری شیر بر روی بار میکروبی کل و اثرات ماههای مختلف سال بر مراحل مختلف نگهداری وحمل شیرکاملاًمعنی دار بود (p<0/01) . مقایسه میانگین ها نشان داد کمترین بار میکروبی در دی ماه با 0/38±6/31 cfu/ml و بیشترین بار میکروبی در مرداد بامیزان0/31± 6/57 cfu/ml بوده و روند کاهش بار میکروبی از شهریور ماه شروع و در دی و بهمن به کمترین مقدار رسید (جدول 1) . بین مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر از نظر میزان بار میکروبی اختلاف کاملاً معنی داری وجود داشت (p<0/01) . میانگین وانحراف معیار بار کل میکروبی نشان داد از مرحله دوشش شیر تا تحویل به کارخانه، میزان بار میکروبی در شیر دوشش گاو و شیر تحویلی به کارخانه به ترتیب دارای کمترین و بیشترین بار میکروبی به ترتیب با میزان 0/23 cfu/ml ± 5/81 و 0/1 ± 6/81 cfu/ml بود (جدول 2) . اثرات متقابل ظرفیتهای مختلف جمع آوری شیر توسط مراکز جمع آوری شیر در مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر نشان داد کمترین بار میکروبی در مرحله شیر تازه دوشیده گاو در مراکز کم و متوسط ظرفیت با میزان0/13±5/79 وcfu/ml 0/14±5/77 بوده و بیشترین بار میکروبی در مرحله شیر تحویلی به کارخانه در مراکزپرظرفیت بامیزان 0/07±6/89 cfu/ml بود. وضعیت بار میکروبی در جمع آوری شیر نشان داد از نظر بار میکروبی بین مراکز کم و متوسط ظرفیت با میزان 0/34±6/39 و cfu/ml 0/38±6/40 اختلاف معنی دار مشاهده نشد (p>0/01) . ولی مراکز پر ظرفیت با 39 /0±6/50 cfu/ml بیشترین بار میکروبی را داشتند(جدول 3) .

اثرات متقابل ماههای مختلف سال در ظرفیت های مختلف مراکز جمع آوری شیر نشان داد پایین ترین میزان بار میکروبی کل در دی ماه و در مراکزبا ظرفیت کم به میزان cfu/ml 0/045±6/25 بوده و بالاترین میزان بار میکروبی در مراکز پرظرفیت و در مرداد ماه با میزان 0/19±6/76 cfu/ml بود. بر اساس نتایج حاصله اثرات ماههای سال در مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر نمایانگر این موضوع بود که شیر تازه دوشیده گاو در تمام فصول سال دارای کمترین میزان بار میکروبی بود. بین بار میکروبی کل شیر با باکتریهای اشرشیا کلی و باکتریهای کلی فرم همبستگی مثبت معنی داری وجود داشته است (p< 0/01) . بطوریکه ضرایب همبستگی به ترتیب برابر 0/79، 0/90 بود.

1. General Linear Model

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره 1 ـ میانگین وخطای معیار($\overline{X}$ ±SE) بار میکروبی، کلی فرم و اشرشیا کلی شیر خام در ماههای مختلف سال

ماه	اشرشیا کلی[2و3]	کلی فرم[2و3]	بار میکروبی کل [2و3]
فروردین	2/72±0/59b	4/30±1/14b	6/39±0/35 c
اردیبهشت	2/83±0/61c	4/39±1/11c	6/39±0/38c
خرداد	3/02±0/63d	4/65±1/08de	6/44±0/37de
تیر	3/78±0/55e	4/73±1/06f	6/46±0/36ef
مرداد	3/82±0/55ef	5/01±1/09h	6/57±0/31h
شهریور	3/84±0/56f	4/79±1/09g	6/54±0/35gh
مهر	3/77±0/56e	4/71±1/06ef	6/47±0/44ef
آبان	3/02±0/63d	4/62±1/05d	6/49±0/36fg
آذر	2/74±0/66b	4/38±1/09bc	6/35±0/34 ab
دی	2/73±0/65b	4/08±1/14a	6/31±0/38a
بهمن	2/63±0/60a	4/08±1/15a	6/33±0/41ab
اسفند	2/65±0/61a	4/25±1/14b	6/38±0/37bc

1-حروف متفاوت در ستون ها نشانه اختلاف معنی دار در سطح $p < 0/01$ می باشد. 2- نتایج بصورت Log_{10} می باشد. 3- واحد cfu/ml

جدول شماره 2 - میانگین وخطای معیار($\overline{X}$ ±SE) بار میکروبی، کلی فرم و اشرشیا کلی شیر خام بر حسب مراکز جمع آوری شیر

ظرفیت مراکز	بار میکروبی کل[2و3]	اشرشیاکلی[2و3]	کلی فرم[2و3]
کم	$6/39 \pm 0/34$ [a]	$3/09 \pm 0/77$ [a]	$4/45 \pm 1/15$ [a]
متوسط	$6/40 \pm 0/38$ [a]	$3/12 \pm 0/77$ [b]	$4/49 \pm 1/12$ [b]
زیاد	$6/50 \pm 0/39$ [b]	$3/18 \pm 0/76$ [c]	$4/56 \pm 1/11$ [c]

1- حروف متفاوت در ستون ها نشانه اختلاف معنی دار در سطح $p < 0/01$ می باشد. 2- نتایج بصورت Log10 می باشد. 3- واحد cfu/ml

جدول شماره 3 - میانگین وخطای معیار($\overline{X}$ ±SE)بار میکروبی، کلی فرم و اشرشیا کلی شیر خام از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه

مراحل جمع آوری شیر	شیر دوشش گاو	ظروف جمع آوری	ماشین جمع آوری	شیر سردکن	شیر تحویلی به کارخانه
بار میکروبی کل[2و3]	$5/81 \pm 0/23$ [a]	$6/۳۸ \pm 0/18$ [b]	$6/۵۳ \pm 0/10$ [c]	$6/65 \pm 0/09$ [d]	$6/81 \pm 0/10$ [e]
اشرشیاکلی[2و3]	$2/17 \pm 0/55$ [a]	$2/87 \pm 0/51$ [b]	$3/17 \pm 0/48$ [c]	$3/58 \pm 0/48$ [d]	$3/86 \pm 0/48$ [e]
کلی فرم[2و3]	$2/75 \pm 0/24$ [a]	$3/96 \pm 0/45$ [b]	$4/65 \pm 0/50$ [c]	$5/32 \pm 0/19$ [d]	$5/82 \pm 0/16$ [e]

1- حروف متفاوت در ردیف ها نشانه اختلاف معنی دار در سطح $p < 0/01$ می باشد. 2- نتایج بصورت Log_{10} می باشد. 3- واحد cfu/ml

2- کلی فرم

آنالیز واریانس نشان داد میانگین کلی فرم در کلیه فصول سال در استان cfu/ml 4/49±1/13 بود. اثر ماههای مختلف سال، ظرفیت مراکز جمع آوری شیر و مراحل مختلف نگهداری و حمل شیر، بر روی باکتریهای های کلی فرم کاملاً معنی دار بود.

همچنین اثرات متقابل ماههای سال در ظرفیت مراکز و مراحل مختلف نگهداری شیر نیز کاملاً معنی دار بود ($p< 0/01$).

بر اساس جدول 1 بین ماههای مختلف سال، کمترین میزان باکتریهای کلی فرم در ماههای دی و بهمن به ترتیب با میزان cfu/ml 4/08±1/14 و 4/08±1/15 بوده و بیشترین میزان باکتریهای کلی فرم در شیر مناطق مختلف استان در ماه

Archive of SID

www.SID.ir

شهریور با میزان cfu/ml 1/09±4/79 بوده و بین ماههای مختلف سال اختلاف معنی داری وجود داشت (p< 0/01) . بر اساس جدول شماره 2 بین میزان کلی فرم ها در مراکز مختلف جمع آوری شیر اختلاف معنی داری وجود داشت (p<0/01) بطوریکه مراکز با ظرفیت جمع آوری کم دارای میزان کلی فرم کمتر و مراکز با ظرفیت زیاددارای کلی فرم بیشتری درشیر خام بودند. بر این اساس میانگین و انحراف معیار تعداد کلی فرم ها در مراکز کم، متوسط و زیاد بترتیب برابر با 1/15±4/45، 1/12±4/49 و cfu/ml 1/11±4/56 می باشند. نتایج نشان داد بین مراحل مختلف نگهداری و جمع آوری شیر اختلاف معنی داری وجود داشته (p< 0/01) بطوریکه بیشترین تعداد کلنی ها کلی فرم در شیر تحویلی به کارخانه با میزان 0/16±5/82 و کمترین میزان در مراحل دوشش شیر تازه گاو با میزان cfu/ml 0/24±2/75 بود (جدول 3) .

3- اشرشیاکلی

نتایج آزمایشها نشان داد میانگین اشرشیاکلی در کلیه فصول سال در استان لرستان cfu/ml 0/77±3/13 بود. اثر ماههای مختلف سال، ظرفیت های مختلف جمع آوری شیر و مراحل مختلف نمونه گیری بر روی میزان اشرشیا کلی کاملاً معنی دار بود (p<0/01) . اثرات متقابل ماههای مختلف سال در ظرفیتهای مختلف و مراحل مختلف نگهداری و حمل شیر معنی دار بود (p<0/05) . اثرات متقابل ماههای سال در ظرفیتهای مختلف مراکز معنی دار نشد(p>0/01) . مقایسه میانگین ها نشان داد کمترین میزان اشرشیا کلی در ماههای بهمن و اسفند با0/60 ± 2/63 و cfu/ml 0/61±2/65 و بیشترین میزان اشرشیا کلی در شهریور بامیزان cfu/ml 0/56±3/84 بود و بین ماههای شهریور و مرداد اختلاف معنی دار مشاهده نشد (جدول 1) . میزان اشرشیا کلی در مراکز مختلف جمع آوری نشان داد بین مراکز کم، متوسط و پرظرفیت تفاوت معنی دار وجود داشت(p<0/01) بطوریکه مراکز کم ظرفیت با0/77±3/09 کمترین و مراکز پرظرفیت با cfu/ml 0/76±3/18 بیشترین میزان اشرشیا کلی را دارا بودند(جدول 2) . جدول 3 میانگین وانحراف معیار اشرشیا کلی در مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر را نشان می دهد.

بر اساس جدول فوق بین مراحل مختلف دوشش شیر تا تحویل به کارخانه اختلاف معنی داری وجود داشت. بطوریکه کمترین میزان اشرشیا کلی در شیر تازه دوشیده گاو با cfu/ml 0/55±2/17 و بیشترین میزان درشیر تحویلی به کارخانه با میزان cfu/ml 0/48±3/86 بوده است (p< 0/01) .

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه ای توسط دسای[1] و همکاران (18) ، نمونه شیر 124 مراکز جمع آوری شیر در هند از نظر بار میکروبی کل موردآزمایش قرار گرفت وبار میکروبی شیر بین 105×4 تا cfu/ ml 106×1/8 گزارش گردید. نتایج حاصل از مطالعه فوق نشان دهنده بار میکروبی کمتر در مراکز جمع آوری شیر در هند بوده، که در مقایسه با نتایج بدست آمده در این پژوهش تفاوت بسیار بالای بار میکروبی مناطق مختلف استان لرستان نسبت به مراکز جمع آوری شیر در هند را نشان می دهد. الکسیوا[2] و کراشو[3] و (11) در مطالعه 1459 نمونه شیرخام در کشور بلغارستان برای بررسی میزان بارمیکروبی کلی‌فرم و اسیدیته شیرخام دریافتند 0/2% نمونه‌ها اسیدیته بیش از حد نرمال داشته و میانگین بارمیکروبی cfu/ml 107×1 بود. آنها نتیجه گرفتند بین آلودگی میکروبی شیر و فصول مختلف سال رابطه معنی‌دار وجود داردکه نتایج بدست آمده در این تحقیق از نظر بار میکروبی کل با یافته های محققین فوق تفاوت قابل توجهی دارد. اومبوی[4] (34) در مطالعه بارمیکروبی شیر خام در

1. Desai
2. Aleksiva
2. Krushev
3. Ombui

Archive of SID
www.SID.ir

یکی از مناطق کشور کنیا نتیجه گرفت بیشتر دامداران شیر با کیفیت بالا تولید می کنند ولی بعلت بعد مسافت، دمای بالای محیط و شستشوی نامناسب ظروف جمع آوری شیر بار میکروبی افزایش یافته است. نتایج فوق مبنی بر بالا بودن بار میکروبی شیر تحویلی به مراکز جمع آوری در مناطق مختلف استان لرستان نیز قابل تعمیم می باشد. نتایج مشابه ای نیز توسط یاراحمدی و همکاران(10) گزارش شده است. نتایج آنها در بررسی عوامل مؤثربر کیفیت شیر خام استان لرستان در طی سالهای 1378 الی 1380 نشان داده است که اثرات سال ,فصل و ماه بر روی بار میکروبی شیر خام کاملاً معنی دار ($p<0/01$) بوده و بین مناطق مختلف استان از لحاظ بار میکروبی اختلاف کاملاً معنی داری مشاهده شد($p<0/01$) . آنها نتیجه گرفتند می توان با اتخاذ اقدامات بهداشتی و آموزشی در روستاها از مرحله دوشش شیر خام تا مراحل مختلف جمع آوری در کاهش میزان آلودگی و از بین بردن کانون های آلودگی اقدام نمود. وهمنی و همکاران (7) در بررسی فاکتورهای کیفی در شیرخام توزیع شده به روش سنتی (فله) و شیر خام تحویلی به کارخانه در استان کرمان بارمیکروبی شیر خام توزیعی به روش سنتی با شیر تحویلی به کارخانه را به ترتیب 106×37/31 و 106×7/47 باکتری در میلی لیترگزارش کرده و نشان دادند اختلاف کاملاً معنی‌داری بین دو روش وجود داشت. نتایج این تحقیق نشان می دهد بار میکروبی شیر خام تحویلی به کارخانه در استان کرمان تقریباً دو برابر استان لرستان بوده که نشان دهنده کار آموزشی و ترویجی بهتر در استان لرستان می باشد. یاسینی (9) در بررسی کیفیت میکروبیولوژیکی شیر تولیدی استان یزد در طی گزارشی بین شمارش کل میکروبی, کلی فرمهاو باکتریهای سرما گرا در ماههای تیر و شهریور تفاوت معنی داری در گاوداریهای صنعتی و سنتی مشاهده نکرد. هولم[1] و همکاران (25) در بررسی میکروبیولوژی شیرخام 75 مرکز جمع‌آوری شیر میانگین بار میکروبی را 3×104 cfu/ ml اعلام نمودند. رولی[2] و همکاران (38) در آزمایش 6998 نمونه شیر جمع‌آوری شده در مناطق آلپاین اسپانیا طی سالهای 1993 تا 2002 میانگین بار میکروبی کل را بین1/2×105 تا 2/4×105 cfu /ml اعلام نمودند. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج هولم و همکاران (25) و رولی و همکاران (48) که میانگین بار میکروبی را کمتر از106 cfu/ ml گزارش کرده اند تفاوت داشته و نشان دهنده کیفیت بالای شیر خام در کشورها ی مورد مطالعه می باشد. ماهاری[3] و گاش[4] (32) . در بررسی میکروفورای شیرخام در کشور اتیوپی پایین ترین میزان بارمیکروبی را 4×107 cfu /ml و بالاترین میزان بارمیکروبی را 1×109 cfu /ml گزارش کردند. آنها در پژوهش خود فراوانی بار میکروبی TC)) را 98/1%، باکتریهای سرماگرا 1/4% و باکتریهای گرما دوست را 0/5% گزارش کردند. ون شیک[5] و همکاران (40) در بررسی بارمیکروبی شیرخام در 42 مرکز جمع‌آوری شیر در کشور شیلی دریافتند که میزان بار میکروبی به طور متوسط در حدود 59×109 cfu/ml بود.

آدسیان[6] (12) در بررسی کیفیت باکتریولوژیکی شیرخام کشور ترینیداد دریافت که میزان pH برابر 6/50±0/13 و میزان بارمیکروبی کل از 5/8×105 تا 5/7×108cfu/ml متغیر بود. گودفی[7] و مولا[8] (21) در بررسی کیفیت باکتریولوژی شیر خام مراکز جمع‌آوری در کشور اتیوپی، میانگین بار میکروبی کل را در مرحله ظروف جمع‌آوری و نگهداری شیر، در مرحله نگهداری شیر قبل از خنک کردن و در مرحله تحویل به کارخانه به ترتیب 1/1×105 cfu/ml، 4×106 cfu/ ml، 1/9×108 cfu/ ml و بار میکروبی کل در مراکز جمع‌آوری

1. Holm
2. Revelli
3. Mahari
4. Gashe
5. Van Schaik
6. Adesiyun
7. Godefay
8. Molla

Archive of SID
www.SID.ir

شیر را cfu /ml 1/3×107 گزارش کردند. آنها در بررسی خود میانگین تعداد کلی فرم‌ها در مرحله ذخیره شیرcfu/ml 1/3×104 و در مرحله تحویل به کارخانه cfu/ml 7/1×104 اعلام نمودند. بهرحال آنچه مسلم است نتایج مطالعه حاضر با یافته های آدسیان (12) همخوانی بیشتری نسبت به نتایج گودفی و مولا (21) ، ون شیک و همکاران (40) و ماهاری و گاش (32) نشان می دهد. جایارائو[1] و وانگ[2] (29) در بررسی شیر 131 گاوداری شیری در مناطق داکوتای جنوبی آمریکا، میزان کلی فرم‌ها نمونه شیر را از cfu/ml 10 log 4/7-0 شمارش نمودند و نتیجه گرفتند که 62/3% فلور میکروبی را کلی‌فرم تشکیل داده است. دس ماژورژ[3] و همکاران (19) در بررسی ترکیب میکروبیولوژیکی شیر خام مناطقی از ناحیه نورماندی فرانسه با اندازه‌گیری کلی‌فرم‌هاو اشرشیاکلی نتیجه گرفتند کلی فرم ها در اکثر نمونه‌ها مشاهده شده و 84% نمونه‌ها کمتر از cfu /ml 100 کلی فرم وکمتر از 10cfu/ml اشرشیاکلی داشته‌اند.

نتایج بدست آمده توسط جایارائو و وانگ (29) و دس ماژورژ و همکاران (19) در مقایسه با مطالعه حاضر که میانگین کلی فرم در استان لرستان cfu/ ml 10 log 4/49 بوده، قابل تأمل می باشد که نشان دهنده میزان آلودگی کلی فرمی بالای شیر خام استان لرستان است که احتمالاً بعلت شستشوی ظروف جمع آوری ونگهداری شیر با آب غیر بهداشتی و آلودگی دستهای کارگران شیر دوش می باشد. اومبوی و همکاران (35) برای بررسی میزان آلودگی کلی‌فرم و اشرشیاکلی در نمونه‌های شیر تعاونی‌های جمع‌آوری شیر در کشور کنیا در دو مرحله میزان کلی‌فرم را در ظروف دامداران و نمونه شیر مراکز جمع‌آوری اندازه‌گیری کرده و نتیجه گرفتند حدود 89/5% نمونه شیر ظروف دامداران و 50% نمونه شیر مراکز جمع‌آوری بیش از cfu/ml 104×5 کلی‌فرم داشتند. آدسیان (11) در بررسی خود میزان اشرشیاکلی را بین cfu /ml 102×6/6 تا cfu /ml 105×4 گزارش کرد. گوگوو[4] و کالویانوو[5] (22) در بررسی وجود اشرشیاکلی در شیرخام و پاستوریزه در کشور بلغارستان نتیجه گرفتند 11/76% نمونه‌های شیرخام و 5/18% نمونه‌های شیر پاستوریزه دارای اشرشیاکلی بود. مشابه نتایج این آزمایش توسط بسیاری از محققین در کشورهای مختلف بدست آمده است. بطوریکه مطالعات اومبوی و همکاران (35) ، آدسیان (11) ، گوگوو و کالویانوو (22) نتایج قابل مقایسه ای از نظر میزان کلی فرم و اشرشیا کلی با نتایج این مطالعه نشان می دهد. لوپز[6] و استن فورد[7] (31) در بررسی کانونهای آلودگی شیر خام و پاستوریزه در برزیل دریافتند، وجود آلودگی میکروبی کلی‌فرمی در 60% نمونه‌ها بعلت شستشوی نامناسب تانکرهای ذخیره شیر و دمای نامناسب بود.

نتایج آنها نشان داد که تمام نمونه‌های شیرخام ارزیابی شده دارای میکروارگانیسم‌های مزوفیلی و سایکروفیلی بوده و تعداد کلی‌فرم‌ها در شیر خام میزان بالایی را نشان می‌دهد.

با نگرشی اجمالی بر نتایج فوق و مقایسه آن با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشخص می شود وجود کلی فرم در شیر خام یکی از معضلات بهداشتی و آلودگی شیر خام می باشد. از طرف دیگر یافته های الکسیوا و کراشو (1981) ، گودفی و مولا (21) ، ون شیک و همکاران (40) ، آدسیان (11) ، اومبوی (45) نشان می دهد بار میکروبی در مراحل مختلف جمع آوری شیر از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه برروی کیفیت باکتریو لوژیکی شیر خام اثر معنی داری داشته که با نتایج بدست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. تحقیقات

1. Jayarao
2. Wang
3. Desmasures
4. Gogov
5. Kaloianov
6. Lopes
7. Stanford

Archive of SID

www.SID.ir

نشان می‌دهد عواملی همچون بهداشت دام، نحوه دوشش، ادوات شیردوشی، دمای شیر و نحوه حمل و نقل شیر می‌تواند بر روی بار میکروبی تأثیر داشته باشد (16، 39) . سیسچو[1] (1996) در تحقیقات خود یکی از عوامل پایداری شیر را نگهداری صحیح شیر بعد از دوشش و تا هنگام توزیع می‌داند (37) . در تحقیق انجام شده توسط توماس[2] و همکاران (1966) مشخص شد بیشتر شیر تولیدی در دامداریهای سنتی دارای شرایط بهداشتی نبوده و شیر عمدتاً توسط ظروف (بیدون و دبه) به ماشین جمع‌آوری تحویل می‌شود. در این بررسی مشخص شد ظروف حمل شیر شسته شده به روش معمولی با آب، بار میکروبی شیر را به ازای هر میلی لیتر شیر 800 هزار باکتری اضافه می کند (39) . در استان لرستان یکی از معضلات جمع آوری شیر، دوری برخی مراکز جمع آوری شیر و مدت زمان طولانی انتقال شیر از این مراکز تا کارخانه شیر بوده، که بعنوان یکی از علل افزایش بار میکروبی کل از مرحله دوشش تا تحویل شیر به کارخانه می باشد. علاوه بر این شیر تحویلی برخی از روستاها بعلت امکانات ارتباطی محدودو صعب العبور بودن بار میکروبی بالایی دارند. در رابطه با تحویل شیر به مراکز عمدتاً بصورت سرد نشده, توسط ظروف بیدون و بعضی مناطق با ظرفهای پلاستیکی انجام می گیرد، که بر روی کیفیت شیر خام تأثیر گذار می باشد. در این میان وجود گاوهای ورم پستانی و مخلوط کردن شیر آنها با شیر گاوهای سالم یکی دیگر از عوامل افزایش بار میکروبی می باشد. در مراکز جمع آوری شیر عدم رعایت اصول شستشوی صحیح در پمپ های انتقال شیر به مخازن شیرسرد کن بعنوان یکی از عوامل آلودگی می باشد. یکی دیگر از مشکلات زمان طولانی بین دوشش شیر تا انتقال به مراکز جمع آوری شیر بوده، که در تکثیر باکتریها تأثیر زیادی دارد. مخازن نگهداری شیر مهمترین منابع آلودگی محسوب شده و اگردر مرحله دوشش کلیه نکات رعایت شوند و خنک کردن شیر به موقع انجام شود اما در عوض از وسایل و تجهیزات ضدعفونی شده استفاده نشود کلیه تدابیر ارزش خود را از دست می دهند. در مراکز جمع آوری شیر اگر دستگاه شیردوشی ضدعفونی نشود میکروبهای لاکتیکی جمعیت اصلی فلور میکروبی شیر را تشکیل داده و اسیدیته شیر بالا رفته و باعث ترش شدن شیر می گردد در مورد مخازن شیر سردکن باید به شستشو وضد عفونی همزنها، واشرها و والوها توجه شود. در تولید شیر با کیفیت بهداشتی خوب شستشو و ضدعفونی تانکر و بیدون و در نتیجه دسترسی به یک منبع آب سالم بسیار مؤثر است.

ساختمان تانکرها باید طوری باشد که نظافت آن بسادگی مقدور بوده و قبل از ضدعفونی شدن با پاک کننده مناسبی شسته شوند. برای تانکرهای فاقد سیستم سردکننده می توان از بخار آب استفاده نمود ولی بایستی دقت شود بعد از استفاده از بخار آب تانکر کاملاً سرد شده و سپس برای نگهداری شیر از آن استفاده گرددسیستم تمیز کردن در محل (CIP) با استفاده از مواد پاک کننده و ضدعفونی کننده یکی از عوامل مهم در بهبود کیفیت شیر خام می باشد.

1. Sischo Thomas

www.SID.ir

References

1. Ehsani A. Educational workshop of raw milk improvment methods in country. Animal affairs of construction jihad. Department of animal and poultry changing industries. 1999: 59-62
2. No name. Operation program in year2003. Animal affairs office. 2003: 47
3. Rokni N. Principal of nutrition material health. Pub Ins. University of Tehran. 1999; 3: 10-11
4. Rahni M. Study on feces and milk contamination of Shiraz cows to yersina Interocolita. Veterinary collage of Shiraz University. PhD thesis. 1995: 10-11
5. Animal affairs office of Lorestan province. Performance report of animal affairs office of Lorestan province. 2003: 8-26
6. Animal affairs office of country. Summery of milk comprehensive plan. Payam monthly of Agriculture jihad (Animal affairs) . 2004. , 15-17.
7. Vahmni,P. Comparison on quality factors of distrubtive raw milk to method rural and milk delivery to pasteurized milk industry in Kerman city. Proceeding of the first congress on animal and aquatic sciences. 2003: 554-547
8. Harding F. Milk and its quality. Pub. University of Tehran. 2001: 65-76
9. Yasini A. Survey of microbiological quality of raw milk in Yard province, Iran. Thesis of PhD. 1997
10. Yarahmadi B, Mahdavi HR, MoaydiNezhad A. Study on raw milk contamination in Lorestan province. Proceeding of food safety and health congress, Yazd, Iran. 2004: 131
11. Aleksieva V, Krushev B. Quality of raw cow's milk. Vet Med Nauki. 1981; 18(3): 65-71
12. AdesiyunA. Bacteriological quality and associated public health risk of pre-processed bovine milk in Trinidad. Int J Food Microbiol. 1994; 21(3): 253-261
13. Barot MS. Loetion of campylobacter jejuni in infected chicken livers. Journal of clinical microbiology. 1983; 17: 291-295
14. Bokkenheuser VD, Mosenthal AC. Campylobacteriosis : food borne disease. food safety. 1981; 3: 127
15. Bramley AJ. Sources of Streptococcus uberis in the dairy herd. I. Isolation from bovine faces and from straw bedding of cattle. J. Dairy Res. 1982; 49: 369-373
16. Bramley AJ, McKinnon CH. The microbiology of raw milk. In Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk. 2nd ed. R. K. Robinson, ed. Elsevier Science Publishers, London, United Kingdom. 1990; 1: 163-208
17. Daust SY, Pivniek H. Small infectious doses of salmonella. Lancet. I. 1976: 866
18. Desai P, Natarajan A. Bacteriological quality of raw milk collected from societies for transportaion to chilling centres. Cheiron. 1981; 10(4): 149-150
19. Desmasures N, Bazin F, Gueguen M. Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy. J Appl Microbiol. 1997; 83(1): 53-58

Archive of SID

www.SID.ir

20. FAO. 2004. http//app. fao. org/page/form? Collection=Production. Livestock. stocks&Domain=Production.
21. Godefay B, Molla B. Bacteriological qulity of raw cow's milk from four dairy farms and a milk collection centre in and around Addis Ababa. Berl Munch Tierarztl WochenschrJul-Aug, 2000; 113(7-8): 276-278
22. Gogov I, Kaloianov I. Presence of E. coli bacteria in raw and pasteurized cow's milk. Vet Med Nauki. 1978; 15(8): 82-86
23. Hayes MC, Ralyea RD, Murphy SC, Carey NR, Scarlett JM, Boor KJ. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. J Dairy Sci. 2001; 84(1): 292-298
24. Hogan JS, Smith KL, Hoblet KH. Bacterial counts in bedding used on nine commercial dairies. J. Dairy Sci. 1989; 72: 250-258
25. Holm C, Mathiasen T, Jespersen L. A flow cytometric technique for uantification and differentiation of bacteria in bulk tank milk. J Appl Microbiol. 2004; 97(5): 935-941
26. Houghtby GA, Maturin LJ, Koenig EK. Microbiological count methods. In standard Methods for the Examination of Dairy Products. 16th ed. Pub Health Assoc. Inc, Washington DC. 1992: 213-246
27. Hun SW, Kim YJ. Effect of milk process on microbial quality of row milk. Korean Journal of Dairy Sci. 1996; 18: 65-70
28. Jayarao BM, Pillai SR, Sawant AA, Wolfgang DR, Hegde NV. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. J Dairy Sci. 2004; 87(10): 3561-3573
29. Jayarao BM, Wang L. A study on the prevalence of gram-negative bacteria in bulk tank milk. J Dairy Sci. 1999; 82(12): 2620-2624
30. Johnson KM. Bacillus cereus foodborne ilhes a update. J. Food protection. 1984; 4: 145-153
31. Lopes AC, Stamford TL. Critical control points in the pasteurized milk processing fluxogram. Arch Latinoam Nutr. 1997; 47(4): 367-371
32. Mahari T, Gashe BA. A survey of the microflora of raw and pasteurized milk and the sources of contamination in a milk processing plant in Addis Ababa, Ethiopia. J Dairy Res. 1997; 57(2): 233-238
33. Murphy S. Raw milk bacteria tests: standard plate count, lab pasteurization count, preliminary incubation count and colifrom count what do they mean for your farm? Mastitis Council Reg. Mtg. Proc, Syracuse, NY. Natl. Mastitis Council. Inc, Arlington, VA. 1997: 34-42
34. Ombui JN. Quality of raw milk collected and marketed by dairy cooperative societies in kiambu district Kenya. Bulletin of Animal Health and production in Africa. 1995; 43(4): 277-284
35. Ombui JN, Kaburia HF, Macharia JK, Nduhiu G. Coliform counts and Escherichia coli in raw commercial milk from dairy farmers in Kiambu District, Kenya. East Afr Med J. 1994; 71(10): 635-639
36. Pasteurized Milk Ordinance (PMO). The Food and Drug Administration of the US

Archive of SID

www.SID.ir

Dept. of Health and Human Serv, Washington, DC. 1995

37. Sischo WM. Quality of milk and tests for antibiotic residues. J. Dairy Sci. 1996; 76: 1065-1066
38. Revelli GR, Sbodio OA, Tercero EJ. Total bacterial count in raw milk from the dairy farms that characterize the zone northwest of Santa Fe and south of Santiago del Estero. Rev Argent Microbiol, 2004; 36(3): 145-149
39. Thomas SB, Druce RG, King KP. The micro flora of poorly cleansed farm dairy equipment. J. Apply. Bact. 1996; 29: 409-422
40. Van Schaik G, Green LE, Guzman D, Esparza H, Tadich N. 2004. Risk factors for bulk milk somatic cell counts and total bacterial counts in smallholder dairy farms in the 10th region of Chile. Prev Vet Med. 2005; 67(1): 1-17
41. Zehner MM, Farnsworth RJ, Appleman RD, Larntz K, Springer JA. Growth of environmental mastitis pathogens in various bedding materials. J. Dairy Sci. 1986; 69: 1932-1941

Archive of SID

www.SID.ir