

## تعیین میزان تراکم میکروبی شیر خام گاومیش‌های منطقه اهواز به روش شمارش کلی میکروبی و مقایسه آن با روش احیای متیلن‌بلو

علی فضل آرا<sup>۱\*</sup>، سعد گورانی‌نژاد<sup>۲\*</sup>، عبدالرحمن راسخ<sup>۳\*</sup>، فرزانه لعل میرزاده<sup>۴\*</sup>

### خلاصه

هدف از این بررسی، تعیین میزان تراکم میکروبی شیر خام گاومیش در منطقه اهواز و نیز مقایسه دو روش شمارش کلی میکروب‌های هوازی مزوفیل (روش مرجع) و احیای رنگ متیلن‌بلو بود. در این بررسی در طول ۶ ماه نمونه‌برداری، تعداد ۸۰ نمونه شیر خام گاومیش در طی دو فصل سرد و گرم، از مناطق مختلف شهر اهواز و حومه تهیه و از نظر تراکم میکروبی، با دو روش مختلف فوق‌مورد بررسی و آزمایش قرار گرفت. در آزمون شمارش کلی میکروبی، متوسط میزان تراکم میکروبی در نمونه‌های فصل سرد  $2/8 \times 10^7$  cfu/ml و نمونه‌های فصل گرم  $1/5 \times 10^7$  cfu/ml و در کل تحقیق  $9/0 \times 10^6$  cfu/ml بود. همچنین در این آزمون، از نظر درجه‌بندی کیفیت شیر خام براساس شاخص تراکم میکروبی در هر میلی‌لیتر (cfu/ml)،  $36/25$  درصد از نمونه‌ها ممتاز،  $10$  درصد از نمونه‌ها درجه یک،  $11/25$  درصد از نمونه‌ها درجه دو،  $10$  درصد از نمونه‌ها درجه سه،  $15$  درصد از نمونه‌ها درجه چهار،  $2/5$  درصد از نمونه‌ها نسبتاً قابل قبول و  $15$  درصد از نمونه‌ها غیر قابل قبول بودند. نتایج حاصل از دو روش شمارش کلی میکروب‌های هوازی مزوفیل و احیاء متیلن‌بلو مشابه بودند ( $p < 0/001$ ) و دو روش، با هم تطابق دارند ( $t^2 = 0/77$ ). به دلیل اینکه در تراکم میکروبی، علاوه بر میکروب‌های هوازی مزوفیل، میکروارگانیزم‌های سرماگرا و گرماگرا نیز، حضور دارند؛ بنابراین به نظر می‌رسد که تطابق حاصله، در این بررسی شامل میکروب‌های هوازی مزوفیل می‌باشد و این تطابق، در شیرهای خام تازه گاومیش که به مدت طولانی نگهداری نشده‌اند، مورد استناد است. همچنین میزان شمارش کلی میکروبی در دو فصل سرد و گرم، اختلاف معنی‌داری نشان نداد ( $p > 0/05$ ).

کلمات کلیدی: تراکم میکروبی، شیرخام، گاومیش، شمارش کلی میکروبی، احیای متیلن‌بلو، اهواز

### مقدمه

موجبات مسمومیت غذایی را فراهم می‌نماید (۲۰ و ۲۱).

روش‌های مختلفی برای ارزیابی کیفیت بهداشتی و به دست آوردن میزان تراکم میکروبی در شیر خام به منظور ارزیابی کلی جهت تطبیق با استاندارد یا اعمال جایزه و یا جریمه و یا ارزیابی قابلیت نگهداری شیر خام و محصولات حاصل یا نهایتاً تخمین کیفیت محصولات متج از آن وجود دارد؛ که از آن جمله، می‌توان به روش شمارش کلی میکروبی<sup>۱</sup> در شیر به عنوان یک روش متداول یا مرجع (شاخص‌ترین معیار در روند ارزیابی بهبود کیفی شیر خام) و نیز روش احیای رنگ

در بسیاری از کشورها، شیر و فرآورده‌های آن، بخش مهمی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند. شیر، ماده حیاتی است که در شرایط محیطی مساعد، به دلیل دارا بودن pH مناسب و ترکیباتی نظیر پروتئین، چربی، لاکتوز و املاح، محل مناسبی برای رشد و نمو اکثر عوامل بیماری‌زا است. چنانچه در روند تولید، جمع‌آوری، نگهداری و حمل یا فرآوری آن دقت لازم مبذول نگردد، به سرعت فاسد شده و در ایسن صورت، نه تنها تأمین‌کننده ارزش غذایی لازم نبوده؛ بلکه در صورت مصرف،

\*<sup>۱</sup> استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز

\*<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز

\*<sup>۳</sup> استاد گروه آمار، دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر، دانشگاه شهیدچمران اهواز

\*<sup>۴</sup> دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز

در دو فصل سرد و گرم نیز به تفکیک، از آزمون مقایسه نسبت‌ها در دو جامعه استفاده گردید. مقادیر کمتر از  $P < 0/05$  به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد. همچنین میزان تطابق دو روش شمارش کلی میکروبی و احیای متیلن‌بلو، به وسیله رابطه رگرسیونی مسورد ارزیابی قرار گرفت و معادله انطباق حاصل به دست آمد.

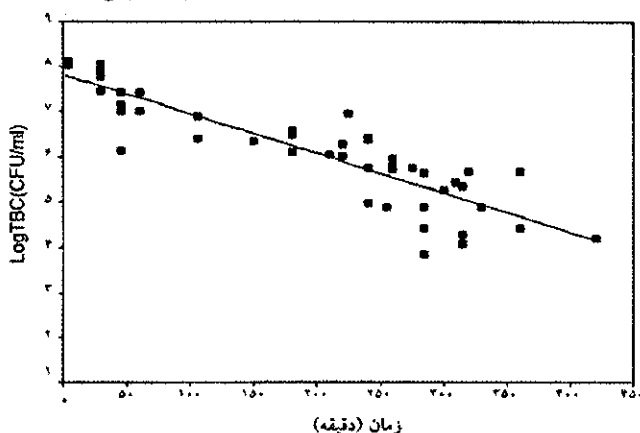
### نتایج

در آزمون شمارش کلی میکروبی، دامنه تراکم میکروبی از  $5 \times 10^2$  باکتری در هر میلی‌لیتر تا  $1/24 \times 10^8$  باکتری در هر میلی‌لیتر بود. میانگین تراکم میکروبی نیز، در نمونه‌های فصل سرد  $2/8 \times 10^6$  باکتری در هر میلی‌لیتر، در نمونه‌های فصل گرم،  $1/5 \times 10^7$  باکتری در هر میلی‌لیتر و در کل تحقیق  $9/0 \times 10^6$  باکتری در هر میلی‌لیتر بود.

رابطه رگرسیون نتایج حاصل از دو روش شمارش کلی میکروبی‌های هوازی مزوفیل (TBC) و احیای متیلن‌بلو مشابه است ( $P < 0/001$ ) و دو روش، با هم تطابق دارند ( $r^2 = 0/77$ ) (نمودار ۱) و معادله انطباق حاصل، عبارت است از:

(زمان احیای متیلن‌بلو به دقیقه)  $7/8 - 0/0087 = \text{لگاریتم (شمارش کلی میکروبی)}$

$\text{Log (TBC)} = 7/8 - 0/0087 \text{ Time}$ ,  $r^2 = 0/77$ ,  $P < 0/001$



نمودار ۱: پراکنش و رابطه رگرسیونی سطح میانگین دو روش شمارش کلی میکروبی‌های هوازی مزوفیل و احیای متیلن‌بلو

متیلن‌بلو<sup>۱</sup> (تست ردوکتاز) اشاره نمود (۸، ۱۱، ۱۳ و ۱۵). با توجه به نگهداری و پرورش گاومیش در منطقه خوزستان (۱۳۴۴۵۱) رأس در خوزستان و ۳۳۷۰۰ رأس در اهواز (۱)، ارزیابی کیفیت بهداشتی شیر خام تولیدی آنها بر اساس دو روش فوق‌الذکر و مقایسه این روش‌ها با یکدیگر مد نظر قرار گرفت تا بدینوسیله، میزان کارآمد بودن و قابلیت بهره‌گیری از روش احیای متیلن‌بلو در خصوص شیر خام گاومیش در منطقه خوزستان تعیین گردد.

### مواد و روش کار

به منظور اجرای این تحقیق، در طول ۶ ماه نمونه‌برداری، تعداد ۸۰ نمونه شیر خام گاومیش از مناطق مختلف شهر اهواز و حومه در شرایط استریل، از پرورش دهندگان گاومیش تهیه شد. بدین نحو که نمونه‌ها به طور انفرادی و بلافاصله پس از دوشش، در طی دو فصل سرد و گرم، و در هر فصل تعداد ۴۰ نمونه تهیه شد و در دمای کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد و در مجاورت یخ‌های خرد شده، به آزمایشگاه گروه بهداشت مواد غذایی منتقل و ضمن نگهداری در شرایط یخچالی (در دمای صفر تا ۴ درجه سانتی‌گراد)، در فاصله زمانی کمتر از ۶ ساعت، با دو روش مختلف شامل شمارش کلی میکروبی‌های هوازی مزوفیل براساس آخرین دستورالعمل مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۲ و ۴) و آزمایش احیای رنگ متیلن‌بلو (۲ و ۵) مورد ارزیابی قرار می‌گرفت.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS, 11 استفاده گردید. به گونه‌ای که میانگین تراکم میکروبی شیر خام گاومیش در دو فصل سرد و گرم، پس از محاسبه لگاریتم تعداد باکتری‌ها، با استفاده از T-test مورد مقایسه قرار گرفت همچنین در خصوص درجه‌بندی کیفی شیر

درصد) درجه دو، ۸ نمونه (۱۰ درصد) درجه سه، ۱۲ نمونه (۱۵ درصد) درجه چهار، ۲ نمونه (۲/۵ درصد) نسبتاً قابل قبول و ۱۲ نمونه (۱۵ درصد) غیر قابل قبول بودند (جدول ۱).

همچنین در این آزمون، از نظر درجه‌بندی کیفیت شیر خام براساس شاخص تراکم میکروبی در هر میلی‌لیتر (cfu/ml)، از مجموع ۸۰ نمونه، ۲۹ نمونه (۳۶/۲۵ درصد) ممتاز، ۸ نمونه (۱۰ درصد) درجه یک، ۹ نمونه (۱۱/۲۵

جدول ۱: تعداد و درصد شیر خام گاومیش با کیفیت‌های مختلف در فصول سرد و گرم و کل تحقیق

مجموع نمونه‌ها		P-value آزمون مقایسه نسبت‌ها در دو جامعه	فصل گرم		فصل سرد		درجه‌بندی کیفیت شیر خام (شاخص تراکم میکروبی در هر میلی‌لیتر) (cfu/ml)
درصد	تعداد		درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۳۶/۲۵	۲۹	۰/۸۱۶	۳۵	۱۴	۳۷/۵	۱۵	ممتاز ( $5 \times 10^4 \leq$ تراکم میکروبی)
۱۰	۸	۱	۱۰	۴	۱۰	۴	درجه یک ( $10^5 \leq$ تراکم میکروبی < $5 \times 10^4$ )
۱۱/۲۵	۹	۰/۷۲۳	۱۰	۴	۱۲/۵	۵	درجه دو ( $5 \times 10^6 \leq$ تراکم میکروبی < $10^7$ )
۱۰	۸	۱	۱۰	۴	۱۰	۴	درجه سه ( $10^7 \leq$ تراکم میکروبی < $5 \times 10^6$ )
۱۵	۱۲	۱	۱۵	۶	۱۵	۶	درجه چهار ( $5 \times 10^7 \leq$ تراکم میکروبی < $10^8$ )
۲/۵	۲	۰/۱۴۷	۰	۰	۵	۲	نسبتاً قابل قبول ( $10^7 \leq$ تراکم میکروبی < $5 \times 10^6$ )
۱۵	۱۲	۰/۲۰۶	۲۰	۸	۱۰	۴	غیر قابل قبول (تراکم میکروبی < $10^7$ )
۱۰۰	۸۰	-	۱۰۰	۴۰	۱۰۰	۴۰	مجموع

محققین از جمله Hayes و همکاران (۲۰۰۱) در آمریکا (۱۲)  $1/4 \times 10^4$  cfu/ml تا  $6 \times 10^5$  cfu/ml در سال ۲۰۰۲، (۱۰)  $5 \times 10^3$  cfu/ml تا  $4/2 \times 10^7$  و میانگین  $1/7 \times 10^4$  cfu/ml در سالن‌های شیردوشی و  $3 \times 10^4$  cfu/ml در اصطبل‌ها؛ Helgren و Reinemann (۲۰۰۳) در آمریکا (۱۳) میانگین  $8/2 \times 10^3$  cfu/ml در دامداری‌های صنعتی و  $1/5 \times 10^4$  cfu/ml در دامداری‌های سنتی؛ Bilwara در سال ۲۰۰۳ (۷) میانگین  $5 \times 10^7$  cfu/ml در مراکز تحت پوشش برنامه بهبود کیفیت شیر خام و  $1/1 \times 10^7$  cfu/ml در سایر مراکز گزارش نمودند، در تحقیقات Prasad (۲۰۰۴) در

در آزمون احیای متیلن‌بلو، میانگین زمان احیای متیلن‌بلو، بیش از ۳ ساعت بود؛ که این نشان می‌دهد کیفیت شیرهای مورد آزمایش، در مجموع خوب بوده‌است.

#### بحث

در این بررسی، براساس نتایج به دست آمده در آزمون شمارش کلی میکروبی، متوسط میزان تراکم میکروبی در کل تحقیق،  $9/0 \times 10^7$  cfu/ml با دامنه شمارش باکتریایی نمونه‌ها بین  $5 \times 10^2$  تا  $1/2 \times 10^8$  باکتری در هر میلی‌لیتر بود. دامنه تراکم میکروبی شیر بدست آمده توسط سایر

تعدادی از نمونه‌ها بیش از ۷ ساعت به طول انجامید؛ که به دلیل وجود مهارکننده در شیر، نظیر آب اکسیژنه، بقایای آنتی‌بیوتیکی و غیره می‌باشد.

در طی بررسی حاضر بر روی شیر گاومیش‌های منطقه، علی‌رغم بالا بودن تراکم میکروبی در فصل گرما ( $1/5 \times 10^7$  cfu/ml) نسبت به فصل سرما ( $2/8 \times 10^6$  cfu/ml)، از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین مقایسه آماری درجه‌بندی شیر در دو فصل مذکور، در درجات مختلف کیفی، اختلاف معنی‌داری ندارد ( $P > 0/05$ ). در مطالعه Helgren و Reinemann (۲۰۰۳) در آمریکا، تغییرات فصلی روی میزان شمارش کلی باکتریایی اثر معنی‌دار جزئی داشته و افزایش جزئی در طول ماه‌های تابستان مشاهده نمودند (۱۳). در بررسی قضایی (۱۳۷۱)، تعداد باکتری موجود در نمونه‌های اخذ شده در ماه‌های گرم سال بیشتر از ماه‌های سرد سال بود (۳).

یافته‌های این بررسی نشان داد که نتایج حاصل از دو روش شمارش کلی میکروب‌های هوازی مزوفیل و احیای متیلن‌بلو مشابه است ( $r^2 = 0/77$ ) و دو روش، با هم تطابق دارند ( $P < 0/001$ ). به دلیل اینکه در تراکم میکروبی، علاوه بر میکروب‌های هوازی مزوفیل، میکروارگانیسم‌های سرماگرا و گرماگرا نیز حضور دارند، بنابراین به نظر می‌رسد که تطابق حاصله در این بررسی، شامل میکروب‌های هوازی مزوفیل می‌باشد و این تطابق، در شیرهای خام تازه گاومیش که به مدت طولانی نگهداری نشده‌اند، مورد استناد می‌باشد. از جمله تحقیقات مشابه می‌توان به بررسی Bapat و همکاران (۲۰۰۵)، در هندوستان اشاره نمود که میزان همبستگی بین دو روش احیای متیلن‌بلو و شمارش کلی میکروبی در پلیت را برای باکتری‌های اشرشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس و کشت مخلوط این دو باکتری، با رابطه خطی مستقیم ( $r^2 = 0/97$ ) در دامنه بین  $10^4 - 10^{11}$  cfu/ml در شیر گزارش نمودند (۶). Homhual و Jindal (۲۰۰۱)، تطابق دو روش مذکور را (با غلظت ۱۶ ppm) برای آزمایش احیای

هندوستان (۱۹)  $9/5 \times 10^4$  cfu/ml تا  $2/1 \times 10^6$  cfu/ml و White (۲۰۰۴) در ایرلند شمالی (۲۲) میانگین  $1/4 \times 10^4$  cfu/ml بود. نتایج مطالعه این محققین نسبت به مطالعه حاضر پایین‌تر بود و علت این تفاوت را می‌توان در نحوه پرورش و نوع دام دانست چرا که در این مطالعه، شیر خام گاومیش از دامپروری‌های سنتی تهیه گردید. همچنین قضایی (۱۳۷۱) دامنه  $10^3$  تا  $2 \times 10^7$  cfu/ml میانگین  $1 \times 10^7$  cfu/ml را برای ۱۰۰ نمونه شیر مصرفی لبنیات فروشی‌های اهواز، شامل ۸۶ نمونه شیر خام گاومیش و ۱۴ نمونه شیر گاو گزارش داد و نتیجه به دست آمده نشان داد که کیفیت باکتریولوژیکی شیر گاومیش، از درصد بهتری نسبت به شیر گاو برخوردار بوده است (۳). در این مطالعه، طبق جدول ۱، ملاحظه می‌شود که در حدود ۷۰٪ نمونه‌ها تراکم میکروبی کمتر از یک میلیون باکتری در هر میلی‌لیتر دارند که نسبت به نتایج مطالعات قضایی از میانگین کمتری برخوردار است. میانگین زمان احیای متیلن‌بلو در این مطالعه، بیش از ۳ ساعت بود. Kruze (۲۰۰۳) در چایل جنوبی (۱۷)، Bilwara در سال ۲۰۰۳ (۷) و Prasad (۲۰۰۴) در هندوستان (۱۹) به ترتیب زمان احیای متیلن‌بلو را کمتر از ۳ ساعت؛ ۹۰ تا ۱۵۰ دقیقه و بیش از ۴ ساعت گزارش دادند. این مقایسه نشان می‌دهد که کیفیت شیر خام مورد مطالعه درجه خوبی دارد. Saha و همکاران (۲۰۰۳) نیز در بنگلادش، طی بررسی دیگری زمان احیای متیلن‌بلو را به ترتیب، در نمونه‌های شیر فاقد پراکسید هیدروژن و نیز حاوی پراکسید هیدروژن با مقادیر ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۳، ۰/۰۴، ۰/۰۵ و ۰/۰۶ درصد به ترتیب ۵، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۲، ۱۴ و ۱۴ ساعت به دست آوردند. این محققین، نتیجه گرفتند که پراکسید هیدروژن، با کشتن یا ممانعت از رشد باکتری‌ها در شیر خام، می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده در شیر استفاده شود و هر چند که بر اساس استانداردهای کنونی، افزودن پراکسید هیدروژن به شیر، به دلیل مخفی نگه داشتن کیفیت بهداشتی تولید شیر، مجاز نمی‌باشد (۲۰). در تحقیق حاضر نیز زمان احیای متیلن‌بلو در

روند بهبود فاکتورهای بهداشتی، نظارتی و کیفی و نیز کاهش میزان برگشتی شیر توسط کارخانه‌های شیر پاستوریزه، بیانگر افزایش کیفیت شیر خام در سالیان اخیر می‌باشد. ولی همان طور که اشاره شد، آمار بار میکروبی شیر استحصالی از مراکز صنعتی و سنتی در کشورمان، در مقایسه با شیر تولیدی بیشتر کشورهای اروپایی بسیار بالاتر است. بنابراین، در کنار افزایش سطح آگاهی دامداران و اقدامات تشویقی، نقش مسئولین فنی و بهداشتی مراکز جمع‌آوری شیر در رسیدن به این مهم غیرقابل انکار است. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر ۱۵ درصد از شیرهای تولیدی، از نظر تراکم میکروبی، غیرقابل قبول بودند، می‌باید در جهت ارتقاء سطح بهداشتی شیرهای تولیدی و رساندن کیفیت بهداشتی آنها به استانداردهای موجود تلاش نمود. در این راستا، به نظر می‌رسد ارتقاء سطح فرهنگی تولیدکنندگان و توزیع کنندگان شیر و رعایت اصول بهداشتی در دامداری‌ها و نیز حمل و نقل و ذخیره‌سازی شیر تولیدی، به منظور کاهش بروز آلودگی‌های ثانویه و همچنین پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون شیر و فرآورده‌های آن از طریق مراکز معتبر جمع‌آوری شیر و نه فروشگاه‌های لبنی محلی، از جمله راه‌های افزایش دهنده سطح بهداشتی در این فرآورده باشد و بررسی این موضوع، بر روی شیرهای تولیدی از گاومیش‌داری‌های شهر اهواز و حومه که بیشتر به صورت سنتی فعالیت می‌نمایند، با توجه به شرایط اقلیمی خوزستان، ضرورت توجه هر چه بیشتر بر امر بهداشت را در مراحل مختلف تولید تا توزیع این محصول ایجاب می‌نماید.

متیلن‌بلو) به میزان  $2=0/7697$  گزارش دادند (۱۵)؛ که دارای قرابت نزدیکی با نتایج حاصله از تحقیق حاضر می‌باشد. موارد مشابه این مطالعه، بر روی سایر مواد غذایی نیز انجام شده است که از آن جمله می‌توان به مطالعه Jay (۱۹۹۶)، در آمریکا اشاره نمود که طی آن، روی ۳۸۶ نمونه نخود سبز منجمد، دو روش احیای متیلن‌بلو و شمارش کلی میکروبی با هم مقایسه گردید و یک رابطه خطی بین دو روش مذکور در دامنه لگاریتم بین ۲ تا ۶ به دست آمد و متوسط زمان احیای متیلن‌بلو، بین ۸ تا ۱۱ ساعت به ترتیب برای  $10^4$  تا  $10^6$  cfu/ml گزارش گردید (۱۶).

Bramley و McKinnon (۱۹۹۰) در انگلیس، در بررسی خود عنوان کردند که به جز مرحله تولید شیر، آلودگی میکروبی به طور معمول از سه منبع اصلی، سطح خارج و داخل پستان، تجهیزات شیردوشی و فرآوری و ذخیره‌سازی شیر منشاء می‌گیرند (۹). تمیز کردن سرپستانک‌ها با یک محلول ضدعفونی کننده و سپس خشک نمودن آنها با یک حوله تمیز، در کاهش تعداد میکروب‌هایی که از سرپستانک‌های آلوده منتقل می‌گردد، مؤثر می‌باشد (۸، ۹، ۱۴ و ۲۳). درجه تمیزی دستگاه شیردوش نیز، بار میکروبی شیر گله را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در مجموع، میکروب‌های محیطی مانند میکروب‌های موجود در بستر، کود و غذا بیشتر مستعد رشد بر روی سطوح آلوده به شیر می‌باشند. آب مصرفی در دامداری نیز ممکن است منبع میکروب‌های مختلف باشد (۹ و ۱۸). دما و زمان ذخیره‌سازی شیر در سردخانه نیز روی تعداد و نوع باکتری‌های موجود در شیر اثر می‌گذارد (۱۱).

## منابع

۲- فرخنده، عباس (۱۳۷۳). روش‌های آزمایش شیر و فرآورده‌های آن. جلد اول، چاپ چهارم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات ۸-۱ و ۲۸۷-۲۵۵.

۱- سالنامه آماری استان خوزستان (۱۳۸۱). سسازمان مدیریت و برنامه‌ریزی استان خوزستان. معاونت آمار و اطلاعات، صفحه ۱۴۱.

- 13- Helgren, J.M. and Reinemann, D.J.(2003). Survey of milk quality on United States dairy farms utilizing automatic milking systems. The American Society of Agricultural Engineers (ASAE), Annual International Meeting, Nevada, USA, pp:1-11.
- 14- Hogan, J.S.; Smith, K.L.; Hoblet, K.H.; Todhunter, D.A.; Schoenberger, P.S.; Hueston, W.D.;Pritchard, D.E.;Bowman, G.L.;Heider, L.E.; Brockett, B.L. and Conrad, H.R.(1989). Bacterial counts in bedding used on nine commerical dairies. *Journal of Dairy Science*, 72:250-258.
- 15- Homhual, S. and Jindal, V.K.(2001). Simple tests for rapid assessment of the quality of raw milk. *Journal of Food Protection*, 64(12):1996-2000.
- 16- Jay, J. (1996). *Modern Food Microbiology*, 4th ed, New York, pp:81-82, 105-106.
- 17- Kruze,J.(2005).Progress in raw milk quality improvement in chile. internet site: [http://www.fil-idf.Org/mastitis\\_2005/Documents/Program/keynote %20 Presentations.doc](http://www.fil-idf.Org/mastitis_2005/Documents/Program/keynote%20Presentations.doc).
- 18- Olson, J.C. and Mocquat, G. (1980). Milk and milk Products. In: Silliker, J.H.; Elliott, R.P.;Baird-Parker, A.C.; Bryan, F.L.; Christion, J.H.; Clark, D.S.;Olson, J.C. and Roberts, T.A. (Eds). *Microbial Ecology of Foods*. Vol. II., Academic Press, New York, p:470.
- 19- Prasad, K.D. and Prasad, V.(2004). Quality of market milk in kerala assessed as a case study in Thrissur distirct.Internet Site: [Indairy.asso.Org/DP.htm-101 k- Supplemental Result](http://Indairy.asso.Org/DP.htm-101k-Supplemental.Result).
- 20- Saha, B.K.;Ali, M.Y.; Chakraborty, M.; Islam, Z. and Hira, A.K. (2003). Study on the preservation of raw milk with hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) for rural dairy farmers. *Journal of Nutrition*, 2(1):36-42.
- 21- Varnam,A.H. and Evans, M.G.(1996). *Foodborne Pathogens*, Manson Publishing, England, pp:447-458.
- 22- White, K. (2004). Maintaining milk hygiene in summer. Department of Agriculture and Rural Development (DaRD) News: 1-4, Internet Site: [www.dardni.gov.uk](http://www.dardni.gov.uk).
- 23- Zehner, M.M.; Farnsworth, R.J.; Appleman, R.D.; Larntz, K. and Springer, J.A.(1986). Growth of environmental mastitis pathogens in various bedding materials. *Journal of Dairy Science*, 69:1932-1941.
- ۳- قضایبی نیاری، سیامک (۱۳۷۱). بررسی میزان آلودگی میکروبی شیرهای مصرفی لبنیات فروشی های سطح شهر اهواز. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۱۳۰، صفحات ۸۴-۷۹.
- ۴- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۲). آماده کردن نمونه های مواد غذایی و شمارش میکروارگانسیم های مختلف، استاندارد شماره ۳۵۶.
- ۵- نواب پور، ثریا و شهبازلو، فروزنده (۱۳۸۰). آئین کار آزمایشگاه های شرکت سهامی صنایع شیر ایران، صفحات ۶۹-۷۷ و ۱۰۹-۱۰۰.
- 6- Bapat, P.; Nandy, S.K.; Wangikar, P. and Venkatesh, K.V. (2005). Quantification of metabolically active biomass using Methylene Blue dye Reduction Test (MBRT): Measurement of CFU in about 200S. *Journal of Microbiological Methods*, 10: 2-11.
- 7- Bilwara, R.(2003). *Managing Quality*. National Dairy Development Board, Annual Report, pp:20-21.
- 8- Bramley, A.J.(1982). Sources of Streptococcus uberis in the dairy herd, Isolation from bovine faeces and from straw bedding of cattle. *Journal of Research*, 49: 369-373.
- 9- Bramley, A.J. and Mckinnon, C.H.(1990).The microbiology of raw milk. In: Robinson, R.K.(Ed).*Dairy Microbiology*, Vol.1, 2nded., Elsevier Science Publishers, London, United Kingdom, pp:163-208.
- 10- Cempirkova, R.(2002). Psychrotrophic bacteria, total bacterial counts in bulk milk samples. *Journal of Veterinary Medicine- Czech*, 47(8):227-233.
- 11- Gehringer, G.(1980). Multiplication of bacteria during farm storage; In: Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. *International Dairy Federation Bulletin*, pp: 120-126.
- 12- Hayes, M.C.; Ralyea, R.D; Murphy, S.C.;Carey, N.R.;Scarlett, J.M. and Boor, K.J. (2001). Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. *Journal of Dairy Science*, 84(1):292-298.

## Determination of microbial quality of raw milks of Ahvaz water buffaloes by using total microbial count method and compared to methylene blue reduction test

Fazlara, A.<sup>1\*</sup>; Goorani nejad, S.<sup>2\*</sup>; Rasekh, A.<sup>3\*</sup> and Laal Mirzadeh, F.<sup>4\*</sup>

### Abstract

This study was conducted to compare the quality of raw milk of water buffaloes by two methods including, Total Aerobic Mesophilic Plate Count (Reference Method) and Methylene Blue Reduction Test. 80 samples of raw milk of water buffaloes were collected from different areas of Ahvaz city and examined under sterile conditions. Samples belonged to cold and warm seasons (40 samples in each season). In Total Microbial Count Method, the average of microbial count of raw milk samples in cold and warm seasons were  $2.8 \times 10^6$  cfu/ml and  $1.5 \times 10^7$  cfu/ml; respectively, and total of the survey was  $9.0 \times 10^6$  cfu/ml. According to the scoring of microbial quality of raw milks from the aspect of total microbial count in each milliliter (cfu/ml), 36.25% of samples were excellent, 10% grade 1., 11.25% grade 2., 10% grade 3., 15% grade 4., 2.5% fairly acceptable and 15% were non - acceptable. Statistical analysis of the results using SPSS, 11 software showed that the results of both methods were the same and similar ( $P < 0.001$ ) and the relationship between these methods was highly correlated ( $r^2 = 0.77$ ). The difference of total microbial count between cold and warm seasons was not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

**Key words:** Microbial quality, Raw milk, Water buffalo, Methylene blue reduction test

<sup>1\*</sup> Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

<sup>2\*</sup> Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

<sup>3\*</sup> Professor, Department of Statistics, Faculty of Mathematics and Computer Sciences, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

<sup>4\*</sup> Graduate from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran