**مجله علوم و صنایع غذایی ایران**

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

# اثر استفاده از سپراتور و باکتوفوگاسیون دوگانه و شرایط عملیاتی آن‌ها بر بار میکروبی و حجم لجن لبنی

**سمیرا مرادی[۱]، فاطمه زراعت‌پیشه[۲]، حسین زنگانه[۲]، مهدی قجری شموشکی[۳]، علیرضا وسیعی[۲]، فریده طباطبایی یزدی[۲]، سید علی مرتضوی[۲]**

۱-گروه علوم غذایی ، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

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

۳- کارخانه شیر پگاه گلستان، ایران.

**اطلاعات مقاله**

**تاریخ های مقاله :**

**تاریخ دریافت:** ۱۴۰۱ /۰۳/۱۹

**تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۵/۰۵

**کلمات کلیدی:**

شیر،

بارمیکروبی،

سپراتور،

باکتوفیوژ،

لجن لبنی.

**DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241**

**DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8**

* مسئول مکاتبات:

tabatabai@um.ac.ir

**چکیده**

**کیفیت میکروبی شیر خام از دو نظر بسیار پر اهمیت می باشد. اول اینکه مصرف خود شیر در سفره غذایی مردم نقش بسیار پررنگی دارد و بار میکروبی بالای آن سلامت مصرف‌کننده را به خطر می‌اندازد. دوم اینکه اگر کیفیت میکروبی شیر مناسب نباشد فراورده های مشتق شده از شیر، از نظر تکنولوژیکی کیفیت مناسبی نخواهند داشت. در این پروژه که با همکاری شرکت پگاه گلستان انجام پذیرفته است، با هدف کاهش حرارت‌دهی شیر (به منظور عدم افت ارزش تغذیه‌ای در نتیجه حرارت) از فرایند جداسازی (با سپراتور) و باکتوفوگاسیون دوگانه به منظور کاهش بار میکروبی استفاده شد. نمونه‌های شیر مورد استفاده برای تولید پنیر لاکتیکی در استان گلستان در دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انجام فرایند، شمارش کلی میکروبی، شمارش اسپورهای هوازی و بی هوازی انجام شد. نتایج نشان داد که با استفاده از این روش، بار میکروبی کل، اسپورهای هوازی و بی هوازی شیرهای جمع‌آوری شده در تمام طول سال ، تا حد قابل قبول و بدون کاهش کیفیت میکروبی پنیر تولیدی در طول دوره نگهداری کاهش یافته‌است. از طرف دیگر فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون باعث تولید لجن لبنی می‌شود. در حالت معمول هر ۲۰ دقیقه یک بار، خروج لجن لبنی انجام می‌شود، که در این فرایند در سپراتور و باکتوفوگاسیون ۱ ،به ۲۱ دقیقه یکبار، به منظورکاهش لجن لبنی انجام شد.**



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]

[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]

[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

## ۱- مقدمه

شیر به دلیل داشتن ترکیبات بیوشیمیایی، میزان آب بالا و همچنین pH تقریبا خنثی، محیط مناسبی برای رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند. تعداد و نوع میکروارگانیسم‌های موجود در شیر تحت تأثیر فصل، بهداشت مزرعه، خوراک و کارایی سیستم خنک کننده می باشد. تعداد باکتری‌های موجود در شیر از چند صد تا هزار در هر میلی لیتر شیر تازه از گاوهای سالم است [۱]. این میکروارگانیسم‌ها عمدتا *Micrococci* و *Streptococci* هستند، اگر چه باکتری‌های *Coryneform*، از جمله *Corynebacterium bovis* نیز نسبتا رایج است. *کلی‌فرم‌ها*[1] و سایر باکتری‌های گرم منفی نیز ممکن است در شیر خام وجود داشته باشد. رایج‌ترین باکتری‌های گرم منفی در شیر خام عبارتند از: *Pseudomonas*، *Enterobacter*، *Flavobacterium*، *Klebsiella*، *Aeromonas*، *Acinetobacter*، *Alcaligenes* و *Achromobacter*. شیر خام به دست آمده در شرایط بهداشتی نامطلوب اغلب حاوی کلی‌فرم‌های گرم منفی، شامل جنس: *Escherichia*، *Enterobacter*، *Citrobacter* و *Klebsiella* است [٤-٢]. باکتری‌های تشکیل‌دهنده اسپور نقش مهمی در حفظ کیفیت شیر خام و فرآوری شده از جمله شیرهای پاستوریزه و استریلیزه با روش UHT[2] ایفا می‌کنند. به طور خاص، سویه‌های *Bacillus* تشکیل دهنده اسپور می‌توانند به سرعت باعث فساد شیر شوند. *Listeria monocytogenes*، *Salmonella* spp.، *Staphylococcus aureus* و *Mycobacterium tuberculosis* شایع ترین ارگانیسم‌های بیماری‌زا در ارتباط با شیر خام هستند. طبق شرایط بهداشتی تعیین شده، میزان آلودگی انتظار می‌رود که کمتر از CFU/mL $۱۰^{۳}$ باشد. با این حال، شیر بسیار آلوده ممکن است حاوی بیش از CFU/mL $۱۰^{٦}$ باشد[٥ و ٦].

فراورده‌های تخمیری بدست آمده از شیر مانند پنیر از مهمترین فراورده های بدست آمده از شیر خام است. پنیر به شکل‌های مختلف در سراسر دنیا به فراوانی مصرف می‌شود. پنیر به روش‌های مختلفی تولید می‌شود. یکی از این روش‌ها تولید پنیر به روش لاکتیکی می‌باشد. پنیر لاکتیکی از پنیرهای سنتی ایران می باشد که از فرآوردهای تخمیری شیر محسوب می شود که در تهیه آن با افزودن باکتری‌های لاکتیکی و آنزیم‌های خاص پنیر به شیر پاستوریزه استاندارد موجب می‌گردد تا شیر منعقد شده و لخته پنیر تازه تشکیل شود. از آنجائی‌که پروتئین‌های محلول در شیر در حین فرآیند تولید پنیر در مخلوط آب نمک و آب پنیر باقی می مانند، بخشی از ارزش غذایی آب پنیر به آن برمی گردد .پنیر لاکتیکی ضمن آنکه مثل سایر پنیرها غنی از پروتئین، کلسیم و فسفر می باشد، علاوه بر آن به دلیل استفاده از باکتری‌های لاکتیکی جهت تخمیر شیرحاوی ویتامین های A و املاح معدنی با ارزش می‌باشد. یکی از مسائل مهم در تولید پنیر لاکتیکی فرایند حرارتی مناسب و کافی می باشد. زیرا در صورت عدم کاهش بار میکروبی موجب بدطعمی و فساد محصول در دوره ماندگاری خواهد شد و از طرف دیگر فرایند حرارتی بیش از حد موجب کاهش راندمان تولید پنیر به ازای هر کیلو شیر خواهد شد. به طور معمول به ازای هر ٦ کیلو شیر، ۱ کیلوگرم پنیر بدست می آید. بنابراین انتخاب مناسب فرایندهای حرارتی و جداسازی بارمیکروبی بسیار حیاتی می باشد [٥-٩].

باکتوفوگاسیون یکی از روش‌های جایگزین پاستوریزاسیون به حساب می آید. حدود ۹۸ تا ۹۹ درصد از سلول‌های سوماتیک، باکتری‌ها و اسپورهای باکتری‌ها را می توان یا سانتریفیوژکردن در نیروی گرانش بالا در باکتوفوگاسیون حذف کرد [۷]. یکی از راه‌های مهم برای حذف باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های اسپورزا در شیر، استفاده از سیستم باکتوفوگاسیون است، که به منظور کاهش قابل توجه آلودگی باکتریایی شیر بدون استفاده از عملیات حرارتی شدید، تحت تاثیر نیروی گریز از مرکز و با استفاده از سانتریفوژهای اختصاصی برای جداسازی باکتری‌ها قبل از پاستوریزاسیون استفاده می‌شود. در فرایند باکتوفوگاسیون میکروارگانیسم‌های شیر در میدان سانتریفوژ تحت تاثیر نیروی گریز از مرکز به اطراف محفظه هدایت شده و وارد لجن شیر می‌شوند[۱۲-۱۰].

لجن شیر بین ۱-۰/۵ درصد از حجم شیر را در بر می‌گیرد که ۱٦-۱۳ آن ماده خشک است و شامل ۸-٦ درصد نیتروژن، ۰/۳۵-۰/۲۵ درصد چربی، ٤/۷ درصد لاکتوز و ۳-۱/۵ درصد

1. Coliform
2. Ultera High Temperature



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

مـواد غیـر لبنـی اسـت [۱۳]. خوشـبختانه میکروارگانیـسم‌هـای اسپورزای مقـاوم بـه حـرارت غالبـا از سـایر میکروارگانیـسم‌هـا سنگین‌تر بوده و به آسانی از شیر جدا می‌شوند . چـون اسـپورها به حرارت مقاوم هستند، باکتوفوگاسیون تکمیل کننده‌ی عملیـات ترمیزاسیون، پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون می‌باشد. این دستگاه می‌تواند ۹۶ درصد اسپورها را از شیر حـذف نمایـد. هـم چنـین می‌تـوان از بـاکتوفیوژ دو مرحلـه‌ای نیـز اسـتفاده نمـود. در ایـن صورت شیر پس از عبور از دستگاه اول، وارد دستگاه دوم شده و به این ترتیب تا ۹۹ درصد اسپورها حذف می‌شوند. به طور کلـی دو نـوع دسـتگاه باکتوفوگاسـیون وجـود دارد: الـف. دسـتگاه باکتوفوگاسیون تک فازی‌که فقط یک مسیر خروجی در بالا بـرای شیری‌که تعداد باکتری‌های آن کـاهش یافتـه اسـت دارد. لاشـه‌ی باکتری‌ها در محفظه‌ی رسوب‌گیر واقع در بدنـه‌ی دسـتگاه جمـع شده و در فواصل زمانی از پـیش تعیـین شـده تخلیـه مـی‌گـردد. ب. دستگاه باکتوفوگاسیون دو فازی‌که دو مسیر خروجی در راس دستگاه دارد، یکی برای تخلیه‌ی مداوم لاشه‌ی باکتری‌های به هم فشرده شده و دیگری برای شیری‌که باکتری‌های آن کاهش یافتـه است. مقدار لاشه‌ی میکروارگانیسم‌ها از باکتوفوگاسیون دو فازی حـدود ۳ درصـد جریـان ورودی بـوده و ایـن نـسبت در باکتوفوگاسیون یک فازی‌کمتر و در حدود ۰/۱۵درصد از جریـان ورودی است. لجن دفعی از باکتوفوگاسـیون عـلاوه بـر لاشـه‌ی میکروب‌ها، حاوی ماده‌ی خشک بالاتری نسبت بـه شـیر ورودی می‌باشد، زیرا مقداری از میسل‌های بزرگ کازئین همراه با اسپور باکتری‌ها جـدا مـی‌شـوند. باکتوفوگاسـیون در دمـای بـالا میـزان پروتئین را در لجن دفعی افزایش می‌دهد. مقدار ماده‌ی جدا شـده از شیر در سیستم تک فازی حدود ۰/۱۵درصد و در سیـستم دو فازی ۳درصـد بـوده و دمـای مناسـب بـرای باکتوفوگاسـیون در محدوده‌ی ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار دارد[۱۴].

یکی دیگر از روش‌های جداسازی میکروارگانیسم‌ها سپراتور مـی باشد. سپراتور وسیله‌ای برای تفکیک شیر تـازه، بـه شـیر اسـکیم (شـیر بـدون چربـی) و خامـه مـی باشـد. شـیر اسـکیم پـس از جداسازی کامل چربی، از شیر تازه ساخته می‌شود. بـاقی‌مانـده‌ی مخلوط، که حاوی کل چربی شیر است، خامه نام دارد. شیر پس از عبور از سپراتور، بر حسب میزان چربی مـورد نیـاز اسـتاندارد شده برای تولید شیر با درصد چربـی متفـاوت، مقـدار مشخـصی خامه، به شیر اسکیم اضافه می‌شود. نحوه‌ی جداسازی چربـی در سپراتور، براساس اخـتلاف دانـسیته‌ی چربـی شـیر(۰/۹۳) و شـیر پس‌چرخ (۱/۰۳۶) بوده و نیروی گریز از مرکز حاصل از فعالیـت سانتریفیوژ دستگاه سپراتور، دارای یک جام یا کاسه‌ی اصلی است که بشقاب‌ها یا دیسک‌ها داخل آن قرار می‌گیرند. خروجـی‌هـای سپراتور شامل خامه، شیرپس چرخ و گل سپراتور (لجن لبنی) می باشد. عوامل موثر بر جدا شدن خامه شامل درجه حـرارت و سرعت سپراتور می‌باشد. ترکیبات گل سپراتور شـامل آب، مـواد ازته، چربی و ناخالصی‌های میکروبی می‌باشد [۱۵].

این طرح در کارخانه پگاه گلستان انجام گرفت. در ایـن کارخانـه در گذشته به منظور تولید پنیر لاکتیکی از شیری استفاده مـی‌شـد که دو بار فرایند پاستوریزاسیون بر روی آن انجام می‌گرفت. ایـن فرایند بدین صورت انجام می‌گرفت کـه ابتـدا پاستوریزاسـیون و سپس شیر وارد سپراتور و باکتوفوگاسیون می شد و ایـن مرحلـه مجدد تکرار می شد. دلیل انجـام دو مرحلـه ای فراینـد حرارتـی جلوگیری از آلودگی میکروبی و بد طعمی در طول دوره ماندگی پنیر لاکتیکی می‌باشد. دو بار عملیات حرارتی سـبب افـت ارزش تغذیه‌ای، هدر رفتن انرژی، کاهش رانـدمان تولیـد پنیـر از شـیر، افزایش ضایعات و افزایش هزینه های تولید می‌شـود. بـه منظـور جلوگیری از دوبار فرایند حرارتـی، کـاهش هزینـه‌هـای تولیـد و کـاهش ضـایعات سـپراتور و باکتوفوگاسـیون، عملیـات بـه ایـن صورت طرح ریزی شد که ابتدا فرایند پاستوریزاسیون انجام گیرد و سپس یک مرحله شیر وارد سپراتور شود و در مرحله سه دوبار باکتوفیوژ انجام شود. مـسئله دیگـر در صـنایع لبنـی، لجـن لبنـی بدست آمده از دستگاه‌های سپراتور و باکتوفوگاسیون مـی باشـد. صنایع لبنی به‌طورکلی به‌عنوان بزرگ‌ترین منبع پـساب فاضـلاب در بسیاری از کشورها محسوب می‌شـود. روزانـه حجـم زیـادی لجن سپراتور و باکتوفوگاسیون که حـاوی ترکیبـات مفیـد ماننـد چربی، پروتئین‌هایی از قبیل کازئین و بـاکتری‌هـایی کـه توانـایی تولیـد آنـزیم پروتئـاز را دارنـد، بـه‌عنـوان ضـایعات دور ریختـه می‌شوند. از طرف دیگر، پساب صنایع لبنی دارای تـأثیرات منفـی زیست‌محیطی اسـت [۱۶]. از ایـن رو تـلاش بـرای بـه حـداقل رساندن این پساب لبنی امری ضروری به نظر مـی رسـد. در هـر خروج لجن لبنی، هر دستگاه (سپراتور و باکتوفوگاسیون) مقدار ۹ تا ۱۰کیلو ضایعات لجن لبنی تولید می شود. در این طرح عـلاوه



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

بر تغییر روش فرایند حرارتی، تاثیر تغییر زمان خروج لجن لبنی باکتوفیوژ ۱ به منظور کاهش هدررفت شیر از طریق وارد شدن در لجن لبنی بررسی شد. در سپراتور و باکتوفوگاسیون خط ۱ زمان خروج لجن لبنی از ۲۰ دقیقه به ۲۱ دقیقه افزایش یافت و دما ثابت در نظر گرفته شده‌است.

در این پروژه که با همکاری شرکت پگاه گلستان انجام می گیرد، با هدف کاهش حرارت‌دهی شیر (به منظور عدم افت ارزش تغذیه‌ای در نتیجه حرارت) از فرایند جداسازی (با سپراتور) و باکتوفوگاسیون دوگانه به منظور کاهش بار میکروبی استفاده می شود. نمونه‌های شیر مورد استفاده برای تولید پنیر لاکتیکی در استان گلستان در دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ مورد بررسی قرار خواهند گرفت. پس از انجام فرایند، شمارش کلی میکروبی، شمارش اسپورهای هوازی و بی هوازی انجام خواهد شد.

## ۲-مواد و روش‌ها

### ۲-۱-نمونه برداری

نمونه‌های شیر مورد آزمایش در استان گلستان در سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ در فصول مختلف جمع آوری و در ۳ تکرار مورد آزمون قرار گرفتند. نمونه‌برداری از شیر مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۳۲۶ انجام پذیرفت [۱۷].

### ۲-۲-مراحل انجام فرایند

مراحل شماتیک فرایندهای صورت گرفته برای آماده سازی شیر برای تولید پنیر لاکتیکی (شیر لاکتیکی) در شکل ۱ ارائه شده است. در این روش ابتدا شیر از تانک تعادل (حجم ۲۰۰ کیلوگرم) وارد دستگاه پاستوریزاتور شد. پاستوریزاسیون در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد در زمان ۱۵ دقیقه در دستگاه (APV، ساخت کشور دانمارک) انجام شد و پس از این مرحله وارد سپراتور (Westfalia، ساخت کشور آلمان) شد. در محله بعد از دو باکتوفیوژ (Westfalia، ساخت کشور آلمان) به طور متوالی با دور ۴۵۰۰ دور در دقیقه و ظرفیت ۱۰۰۰۰ کیلوگرم شیر در ساعت استفاده شد و شیر ابتدا وارد باکتوفوگاسیون ۲ و سپس باکتوفوگاسیون ۱ شد. زمان پارشال در باکتوفوگاسیون ۲ بر روی ۲۰ دقیقه تنظیم شد اما زمان هرپارشال در سپراتور و باکتوفوگاسیون به ۲۱ دقیقه افزایش یافت. دما در سپراتور و هر دو باکتوفوگاسیون ثابت (۶۰ درجه سانتی‌گراد) در نظر گرفته شد (شکل ۱).

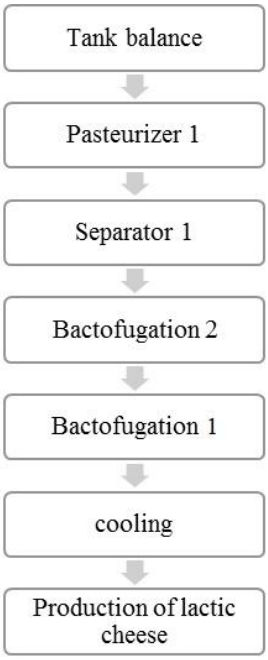



**Fig 1** Schematic steps of the thermal process of lactic milk production

### ۲-۳-آزمون‌های میکروبی

برای بررسی کشت میکروبی، نمونه گیری از بالانس تانک، خروبی پاستوریزاتور، خروجی سپراتور و خروبی هر باکتوفوگاسیون انجام شد. از استاندارد ملی شماره ۵-۸۹۲۳ برای تهیه سوسپانسیون اولیه و رقت های شیر برای آزمون‌های میکروبی استفاده شد. برای شمارش کلی میکروارگانیسم ها از استاندارد ملی شماره ۱۳۶۸ و کشت های مخلوط (pour plate) و پلیت کانت آگار (plate count agar) استفاده شد [۱۸، ۱۹].

#### ۲-۳-۱-محیط کشت PCA

ابتدا به منظور شمارش کل باکتری‌ها از محیط کشت PCA استفاده شد. نمونه‌های لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون پس از رقیق‌سازی در محلول رینگر [۲۰]، با رقت‌های $10^{-1}$ و $10^{-2}$ و $10^{-3}$ به این محیط کشت تلقیح شدند. برای تشخیص تعداد باکتری‌های هوازی از باکتری‌های بی‌هوازی و یا بی‌هوازی اختیاری‌کشت سطحی و پورپلیت به عمل آمد. همچنین به منظور



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

تشخیص باکتری‌های مزوفیل از ترموفیل، پلیت‌ها در دو دمای ۳۷ و ۵۰ سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. شمارش باکتری‌ها توسط دستگاه پرگنه شمار انجام پذیرفت.

### ۲-۳-۲-محیط کشت Skim Milk Agar

این محیط کشت حاوی ۲ درصد شیر پس چرخ و ۲ درصد اگار است [۲۱]. این محیط کشت در دو pH =۹ و pH=۱۰ تهیه گردید[۲۲] . نمونه‌های لجن شیر سپراتور و باکتوفیوژ پس از رقیق‌سازی در محلول رینگر، با رقت‌های $10^{-1}$ و $10^{-2}$ و $10^{-3}$ به این محیط کشت تلقیح و در دو دمای ۳۷ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند . این مراحل برای نمونه‌هایی‌که تحت تیمار حرارتی ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفتند، نیز به منظور ایجاد شوک حرارتی به باکتری‌های اسپورزا و جداسازی آن‌ها انجام گرفت [۲۰] .

### ۲-۳-۳-محیط کشت MRS

نمونه‌ها ی لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون، پس از رقیق‌سازی در محلول رینگر و با رقت های $10^{-1}$ و $10^{-2}$ و $10^{-3}$ به محیط کشت MRS تلقیح و در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شدند [۲۰].

### ۲-۳-٤-محیط کشت SDA

نمونه‌ها ی لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون پس از تهیه‌ی رقت لازم در محلول رینگر [۲۰]و در رقت های $10^{-1}$ و $10^{-2}$ و $10^{-3}$ در این محیط کشت تلقیح و در دمای ۲۵°C گرمخانه‌گذاری گردیدند.

## ۲-٤-آنالیز آماری

این طرح با استفاده از آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار با استفاده از نرم افزا SPSSنسخه۲۲انجام شد.

## ۳- نتایج و بحث

بررسی ویژگی‌های میکروبی شیر فرایندشده در پاستوریزاتور، سپراتور و باکتوفوگاسیون نمونه های شیر مصرفی جهت تولید پنیر لاکتیکی مربوط در طول سال‌های ۱۳۹۹ و ۱٤۰۰ در زمان‌های مختلف انجام شد (نمودار ۲و۳). در این پژوهش شمارش کلی باکتریایی، شمارش اسپور هوازی (ترموفیل و مزوفیل) و شمارش اسپورهای بی‌هوازی انجام گرفت.

نتایج بدست‌آمده مربوط به نمونه‌های سال ۱۳۹۹ در نمودار ۲ ارائه شده است. در فصل بهار (۱۳۹۹/۰۱/۲۵) شمارش کل میکروبی(نمودار2(a))، $54\times10^{5}$ CFU/mL در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی بود که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور به $28\times10^{4}$ CFU/mL رسیده است که نشان‌دهنده ۷٦/۳ درصد کاهش در تعداد شمارش کلی میکروبی و تفاوت معنی دار با نمونه های شیر خام موجود در تانک تعادل است. در مراحل باکتوفوگاسیون دوگانه ۲و۱ تعداد شمارش کلی به ترتیب به $447\times10^{3}$ CFU/mL و $233\times10^{3}$ CFU/mL رسیده است که به طور معنی داری در مقایسه با نمونه های شاهد، سبب کاهش ٦۵/۱ درصد و ٤۷/۹ درصد کاهش بارمیکروبی در نمونه شیر شده‌است ($P<0.5$). به طور کلی مجموع فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه سبب کاهش ۹٦ درصد بار میکروبی شده‌است.

در مورد تعداد اسپور بی‌هوازی (نمودار2(b))، مراحل جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه ۲و۱، به ترتیب هر مرحله سبب کاهش ۷۹/۸، ۹٦/۸ و صفر درصد شده است و به طور کلی تمام این مراحل باعث کاهش ۹۹/۳ درصد تعداد اسپورهای بی‌هوازی شده‌است.

همچنین شمارش اسپورزاهای هوازی مزوفیل و ترموفیل نیز انجام شد (نمودار2(c,d)). نتایج نشان می دهد که به ترتیب در تعداد اسپورزاهای هوازی ترموفیل ۷۳/۳، ۵۰ و ۵۰ درصد و اسپورزاهای هوازی مزوفیل ۳٤/۷۹، ٤۲/٤ و ٦۰/۲ درصد کاهش در سه مرحله فرایند مشاهده و موجب تفاوت معنی داری با نمونه های شیر خام موجود در بالانس تانک شده‌است($P<0.5$). در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورزاهای هوازی ترموفیل و مزوفیل ۹۳/۳ و ۸۵/۰٤ درصد به طور معنی داری کاهش یافته است($P<0.5$). در نمونه جمع‌آوری شده در فصل تابستان (۱۳۹۹/۰٤/۰۳) شمارش کل میکروبی در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی، $36\times10^{5}$ CFU/mL بود ،که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور و دو مرحله باکتوفوگاسیون ۲و ۱، شمارش میکروبی به ترتیب $122\times10^{4}$ CFU/mL، $355\times10^{3}$ CFU/mL و $272\times10^{3}$ CFU/mL کاهش



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

یافته است ،که نشان‌دهنده بـه ترتیـب ٦٦/١، ٧٠/٩، ٢٣/٤ درصـد کاهش معنی دار در تعداد شمارش کلی میکروبی است($P<0.5$). به طور کلی پس از طی این مراحل ٩٢ درصد بارمیکروبی کاهش یافته است. این سه مرحله فرایند به ترتیـب سـبب کـاهش ٧٧/٤، ٨٥/٧ و صفر درصد در تعداد اسپورزاهای بی‌هوازی شده‌است. به طور کلی تمام ایـن مراحـل باعـث کـاهش ٩٦/٨ درصـد تعـداد اسـپورزاهای بـی‌هـوازی شـده‌اسـت. فراینـد جداسـازی و باکتوفوگاسیون دوگانه به ترتیب باعـث کـاهش معنـی دار ٥٥/٦، ٣٧/٥ و ٦٠ درصد اسپورزاهای هوازی ترموفیـل (بـه طـور کلـی ٨٨/٩ درصد) و کاهش ٤٣/٥٣، ٦٢/٥ و ٢٢/٢ درصد اسپورزاهای هوازی مزوفیل (٨٣/٥٣ درصد) در مقایسه با نمونه هـای شـاهد شده‌است($P<0.5$).

در بررسی‌های انجام شده بر روی نمونه شیر جمع‌آوری‌شـده در فصل تابستان (١٣٩٩/٠٥/٠٨) شـمارش کـل میکروبـی در شـیر موجـود در تانـک تعـادل قبـل از فراینـد حرارتـی، CFU/mL $٣٢\times١٠^{٥}$ بـود. پـس از یـک مرحلـه فراینـد در سـپراتور، تعـداد شمارش میکروبی کل به CFU/mL $٩٨\times١٠^{٤}$ رسیده‌است و پس از باکتوفوگاسـیون ٢ و ١ تعـداد شـمارش کـل میکروبـی بـه CFU/mL $٢٤٢\times١٠^{٣}$ و CFU/mL $١٦٠\times١٠^{٣}$ رسـیده‌اسـت. پـس از فراینـدهای جداسـازی، باکتوفوگاسـیون ٢ و ١ درصـد کاهش شمارش کلی میکروبی به طور معنی داری به ترتیب برابر بـا ٦٩/٤، ٧٥/٣ و ٣٣/٩ درصـد رسـید ($P<0.5$) و ٩٢ درصـد کاهش بارمیکروبی پس از طی هر سه فرایند مشاهده شده‌اسـت. هرکدام از این مراحل به ترتیب سـبب ٨٣/٥، ٨٠ و صـفر درصـد کاهش در تعداد اسپورزاهای بی‌هوازی شده‌اند و در کل تمام این مراحل باعث کاهش ٩٦/٨ درصد تعداد اسـپورزاهای بـی‌هـوازی شده‌اند. فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه ٢و١ به ترتیب باعـث کـاهش معنـی دار ٥٧/١، ٣٣/٣ و ٥٠ درصـد در تعـداد اسپورزاهای هوازی ترموفیل (کل هر سه مرحلـه ٨٥/٧درصـد) و کاهش ٤٨، ٦٩/٢ و ٤١/٧ درصـد از تعـداد اسـپورزاهای هـوازی مزوفیل (٩٠/٦٧ درصد در کل سه مرحله) شده‌است($P<0.5$).

در فـصل تابـستان (١٣٩٩/٠٦/٠٥) شـمارش کـل میکروبـی CFU/mL $٤٢\times١٠^{٥}$ در شـیر موجـود در تانـک تعـادل قبـل از فرایند حرارتی بود که پس از یک مرحلـه فراینـد در سـپراتور تـا CFU/mL $١٠٥\times١٠^{٤}$ کاهش یافت که نـشان‌دهنـده ٧٥ درصـد کاهش معنی دار در تعداد شمارش کلی میکروبی است. در مراحل باکتوفوگاسیون دو، تعداد شمارش کلی بـه CFU/mL $٢٦\times١٠^{٤}$ رسیده است که سبب ٧٥/٢ درصدکاهش بـارمیکروبی معنـی دار در نمونه شیر شده‌است. در مرحله باکتوفوگاسیون یک، شـمارش کل میکروبی تا CFU/mL $١٤\times١٠^{٤}$ کاهش یافته‌است. به طـور کلی مجموع این فرایندها سبب کاهش ٩٧ درصـد بـار میکروبـی شده‌است. همچنین تعداد باکتری‌هـای اسـپورزای بـی‌هـوازی در مراحل جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه به ترتیب ٧٠/٧، ٨٦/٤ و صفر درصد به طور معنی داری کـاهش یافتـه‌انـد ($P<0.5$) و در کل تمام این مراحل باعث کاهش ٩٦ درصد تعداد اسـپورهای بی‌هوازی شده‌است. نتایج شـمارش تعـداد اسـپورزاهای هـوازی مزوفیـل و ترموفیـل نیـز نـشان مـی‌دهـد کـه بـه ترتیـب تعـداد اسـپورزاهای هـوازی ترموفیـل ٦٢/٥، ١٦/٧ و ٤٠ درصـد و اسپورزاهای هوازی مزوفیـل ٥٢/٧٨، ٧٠/٦ و ٤٠ درصـد در هـر مرحله فرایند به طور معنی داری کاهش یافته‌اند. در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورزاهای هوازی ترموفیل و مزوفیـل ٨١/٣ و ٩١/٦٧ کاهش یافته است.

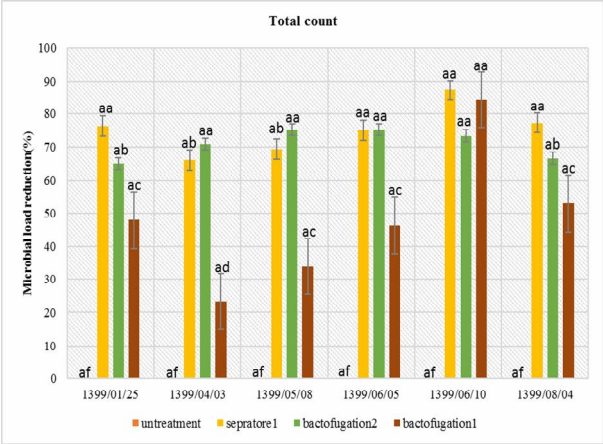
در تاریخ ١٣٩٩/٠٦/١٠ نمونه‌گیری انجام گرفته و نمونـه پـس از ذخیره‌سازی در تانک تعادل تحت تیمـار بـه منظـور کـاهش بـار میکروبی قرار گرفت. تعـداد شـمارش کلـی میکروبـی در تانـک تعادل قبل از فرایند، CFU/mL $١٣٢\times١٠^{٦}$ بـود. پـس از انجـام فرایند جداسـازی بـا اسـتفاده از سـپراتور تعـداد شـمارش کلـی میکروبی تا CFU/mL $١٧\times١٠^{٦}$ (٨٧/٣ درصد کـاهش) کـاهش یافته‌است. در مرحله باکتوفوگاسیون دو، شمارش کلـی میکروبـی CFU/mL $٤٥\times١٠^{٥}$ بـود (٧٣/٤ درصـد کـاهش) و در مرحلـه باکتوفوگاسـیون یـک، شـمارش کلـی میکروبـی تـا CFU/mL $٧\times١٠^{٥}$ (٨٤/٤ درصد کاهش) کاهش یافته‌است کـه در مجمـوع ٩٩ درصـد کـاهش معنـی دار در بـار میکروبـی مـشاهده شده است($P<0.5$). همچنین در بررسی صورت گرفته بـر روی نمونه شیر از نظر تعداد اسپورزاهای بی‌هوازی پس از هر فراینـد، به ترتیب ٩٠/٧، ٢٥ و صفر درصد کاهش مشاهد شده است و در مجموع ٩٣ درصد اسپورزاهای بی‌هوازی در انتهـای فراینـد شـیر کاهش یافته‌اند. تعداد اسپورهای هوازی ترموفیل به ترتیب ٥٨/٨، ٥٠ و ٥٧/١ درصد پس از طی هـر سـه مرحلـه فراینـد بـه طـور موثری کاهش یافته اند و به طور کلی نسبت به نمونه موجـود در تانک تعادل ٩١/٢ درصـد کـاهش یافتـه‌انـد. همچنـین در مـورد



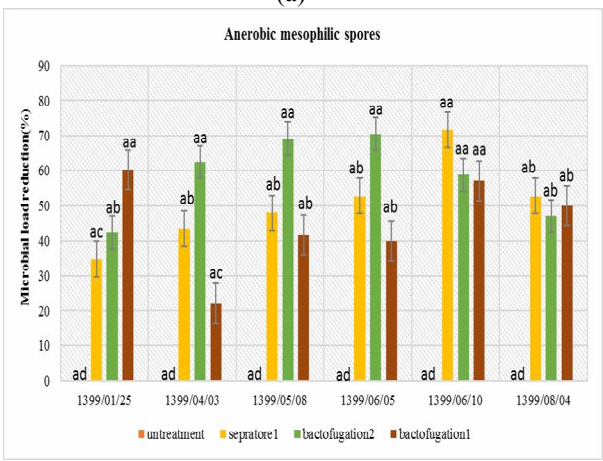
[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

اسپورهای هوازی مزوفیل نیز در مرحله جداسازی با سپراتور، ۷۱/۶۷ درصد کاهش، در مرحله باکتوفوگاسیون دو، ۵۸/۸ درصد کاهش و در مرحله باکتوفوگاسیون یک، ۵۷/۱ درصد کاهش معنی دار نسبت به مرحله قبلی مشاهده شده‌است و در مجموع تعداد اسپورهای هوازی مزوفیل نسبت به شیر فرایند نشده، ۹۵ درصد کاهش یافته‌است. در این تاریخ با وجود آلودگی بالای نمونه شیر اما تا ۹۹ درصد بارمیکروبی شیر کاهش یافته است.

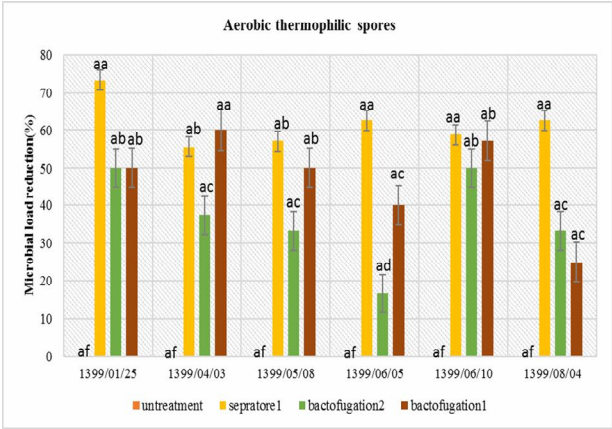
نمونه شیر در فصل پاییز (۱۳۹۹/۰۸/۰۴) جمع‌آوری‌شده و در تانک تعادل، شمارش کل میکروبی آن قبل از فرایند حرارتی، $45\times10^{5}$ CFU/mL بود. پس از مرحله اول فرایند در سپراتور، تعداد شمارش میکروبی کل تا $102\times10^{4}$ CFU/mL کاهش یافت و پس از باکتوفوگاسیون دو و یک، تعداد شمارش کل میکروبی به ترتیب به $34\times10^{4}$ CFU/mL و $16\times10^{4}$ CFU/mL رسیده‌است.



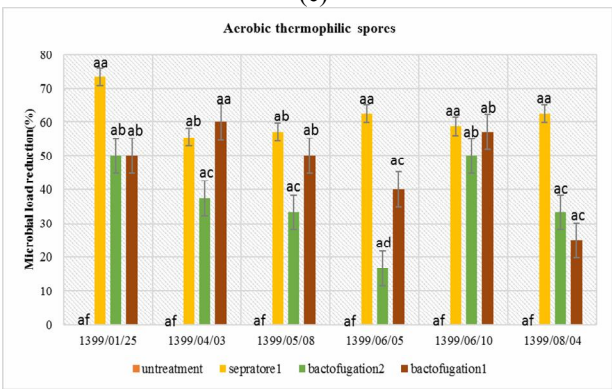

(a)




(b)




(c)




(d)

**Fig 2** Comparison between the percentage of microbial load reduction (a: total microbial count, b: anerobic spores, c: aerobic mesophilic spores, d: aerobic thermophilic spores) in 1399. Data are expressed as mean± standard deviation (n= 3) and different letters show significant difference at the 5% level in Duncan test ($p<0.05$).

درصد کاهش معنی دار شمارش کلی میکروبی، به ترتیب ۷۷/۳، ۶۶/۷ و ۵۲/۹، پس از فرایندهای جداسازی، باکتوفوگاسیون دو و یک مشاهده شده‌است و ۹۶ درصد کاهش بارمیکروبی پس از طی هر سه فرایند مشاهده شده‌است($P<0.5$). هرکدام از این مراحل به ترتیب سبب ۷۰/۷، ۶۸/۲ و ۵۷/۲کاهش در تعداد اسپورزاهای بی‌هوازی شده‌اند و در کل تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶ درصد تعداد اسپورزاهای بی‌هوازی شده‌اند. فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه به ترتیب باعث کاهش ۶۲/۵، ۳۳/۳ و ۲۵ درصد در تعداد اسپورزاهای هوازی ترموفیل (کل هر سه مرحله ۶۸/۸درصد) و کاهش ۵۲/۷۸، ۴۷/۱ و ۵۰ درصد از تعداد اسپورزاهای هوازی مزوفیل (۸۷/۵ درصد در کل سه مرحله) شده‌است.



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

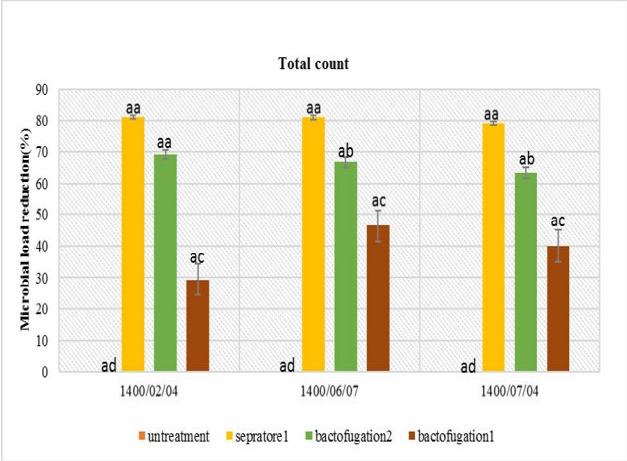
نتایج مربوط به نمونه‌های شیر جمع‌آوری‌شده در سال ۱۴۰۰ در نمودار۳ ارائه شده‌است. بر روی نمونه شیر جمع‌آوری‌شده در تاریخ ۱۴۰۰/۰۲/۰۴ فرایندهای جداسازی، باکتوفوگاسیون دوگانه(۲و۱) انجام گرفت و پس از هر مرحله شمارش میکروبی انجام شد. براساس نتایج بدست آمده شمارش کلی میکروبی(نمودار(3(e)) در نمونه شیر تانک تعادل، CFU/mL $۵۸\times۱۰^{۵}$ بدست‌آمده‌است. پس از طی هر سه فرایند از هر کدام نمونه‌برداری انجام شده و تعداد شمارش کلی میکروبی به ترتیب CFU/mL $۱۱\times۱۰^{۵}$، CFU/mL $۳۴\times۱۰^{۴}$ و CFU/mL $۲۴\times۱۰^{۴}$ بوده‌است که نشان دهنده کاهش معنی دار ۸۱، ۶۹/۱ و ۲۹/۴ درصدی بارمیکروبی پس از هر مرحله است($P<0.5$). به طور کلی این مجموعه فرایند سبب کاهش شمارش کلی میکروبی ۹۶ درصد شده‌است. نتایج شمارش اسپورهای بی‌هوازی (نمودار(3(f))و هوازی((3(g,h)) نیز پس از هر مرحله نشان می دهد که تعداد اسپورهای بی‌هوازی به ترتیب ۶۹/۱، ۶۶/۷ و صفر درصد پس از هر مرحله کاهش یافته‌اند و اسپورهای هوازی ترموفیل (نمودار(3(h) )،به ترتیب پس از هر مرحله فرایند ۶۳/۶، ۵۰ و ۷۵ درصد ) و مزوفیل (نمودار(3(g) )، (به ترتیب ۵۴/۷۶، ۵۲/۶ و ۳۳/۳ درصد) نیز کاهش معنی دار یافته‌اند. همچنین تعداد کل اسپورهای بی هوازی، اسپورهای هوازی ترموفیل و اسپورهای هوازی مزوفیل به ترتیب پس از اتمام فرایندها ۹۳، ۹۵/۵ و ۸۵/۷۱ درصد به طور موثری کاهش یافته‌اند.

در تاریخ ۱۴۰۰/۰۶/۰۷ نمونه پس از ذخیره‌سازی در تانک تعادل تحت فرایند به منظور کاهش بار میکروبی قرار گرفت. تعداد شمارش کلی میکروبی در تانک تعادل قبل از فرایند CFU/mL $۳۹\times۱۰^{۵}$ بود. پس از انجام فرایند جداسازی با استفاده از سپراتور تعداد شمارش کلی میکروبی تا CFU/mL $۸۲\times۱۰^{۴}$ (۷۹ درصد کاهش) کاهش یافته‌است. در مرحله باکتوفوگاسیون دو، شمارش کلی میکروبی CFU/mL $۳۰\times۱۰^{۴}$ بود (۶۳/۴ درصد کاهش) و در مرحله باکتوفوگاسیون یک، شمارش کلی میکروبی تا CFU/mL $۱۸\times۱۰^{۴}$ (۴۰ درصد کاهش) کاهش معنی دار یافته‌است، که درمجموع ۹۵ درصد کاهش در بار میکروبی مشاهده شده‌است. همچنین در بررسی صورت گرفته بر روی نمونه شیر از نظر تعداد اسپورزاهای بی‌هوازی پس از هر فرایند، به ترتیب ۶۹/۶، ۵۷/۱ و صفر درصد کاهش مشاهد شده است و در مجموع ۸۷ درصد اسپورزاهای بی‌هوازی در انتهای فرایند شیر کاهش یافته‌اند. تعداد اسپورهای هوازی ترموفیل به ترتیب ۶۶/۷، ۵۰ و ۶۶/۷ درصد پس از طی هر سه مرحله فرایند به طور معنی داری کاهش یافته اند و به طور کلی نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل ۹۴/۴ درصد کاهش یافته‌اند($P<0.5$). همچنین در مورد اسپورهای هوازی مزوفیل نیز در مرحله جداسازی با سپراتور ۴۷/۵۴ درصد کاهش، در مرحله باکتوفوگاسیون دو، ۵۶/۳ درصد کاهش و در مرحله باکتوفوگاسیون یک، ۲۸/۶ درصد کاهش نسبت به مرحله قبلی مشاهده شده‌است و در مجموع تعداد اسپورهای هوازی مزوفیل نسبت به نمونه شیر فرایند نشده ۸۳/۶۱ درصد کاهش یافته‌است.

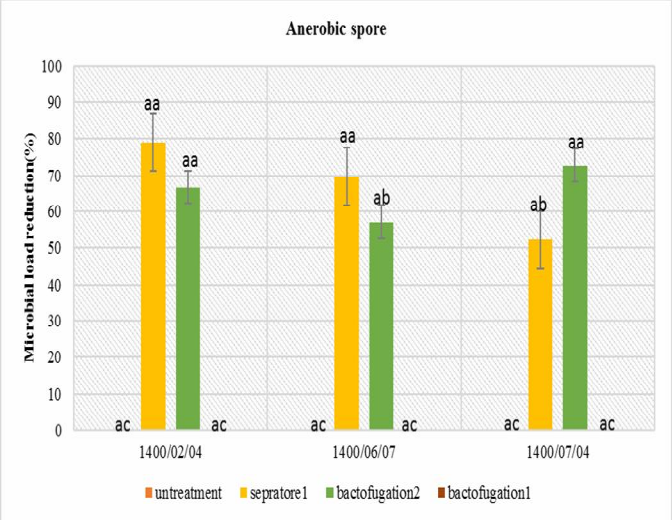
بررسی میکروبی نمونه‌های شیر جمع‌آوری‌شده در تاریخ ۱۴۰۰/۰۷/۰۴ انجام شد. شمارش کلی میکروبی نمونه شیر فرایند نشده موجود در تانک تعادل انجام شده و تعداد CFU/mL $۴\times۱۰^{۶}$ در این نمونه موجود بوده‌است. پس از یک مرحله فرایند در سپراتور تعداد در نمونه CFU/mL $۸۴\times۱۰^{۴}$ شمارش شده‌است. پس از باکتوفوگاسیون دو، CFU/mL $۲۸\times۱۰^{۴}$ و باکتوفوگاسیون یک، CFU/mL $۸۲\times۱۰^{۴}$ شمارش شده‌است. به طورکلی پس از سپراتور، ۸۰/۹ درصد، پس از باکتوفوگاسیون دو، ۶۶/۷ و پس از باکتوفوگاسیون یک، ۴۶/۴ درصد شمارش کلی میکروبی نسبت به مرحله قبل، کاهش معنی دار مشاهده شده‌است وکل فرایندها موجب کاهش ۹۷ درصدی بار میکروبی شده‌است($P<0.5$). بررسی اسپورهای بی‌هوازی نشان داده که به ترتیب پس از هر مرحله ۵۲/۲، ۷۲/۷ و صفر درصد اسپورهای بی‌هوازی کاهش یافته‌اند و نمونه فرایند شده نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل تعداد اسپورهای بی‌هوازی آن ۸۷ درصد کاهش یافته‌است. نتایج شمارش تعداد اسپورزاهای هوازی مزوفیل و ترموفیل نیز نشان می‌دهد که به ترتیب تعداد اسپورزاهای هوازی ترموفیل ۷۵، ۶۰ و ۵۰ درصد و اسپورزاهای هوازی مزوفیل ۵۹/۴۶، ۶۰ و ۳۳/۳ درصد در هر مرحله فرایند کاهش معنی داری یافته‌اند($P<0.5$). در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورزاهای هوازی ترموفیل و مزوفیل ۹۵ و ۸۹/۱۹ درصد کاهش یافته‌اند.



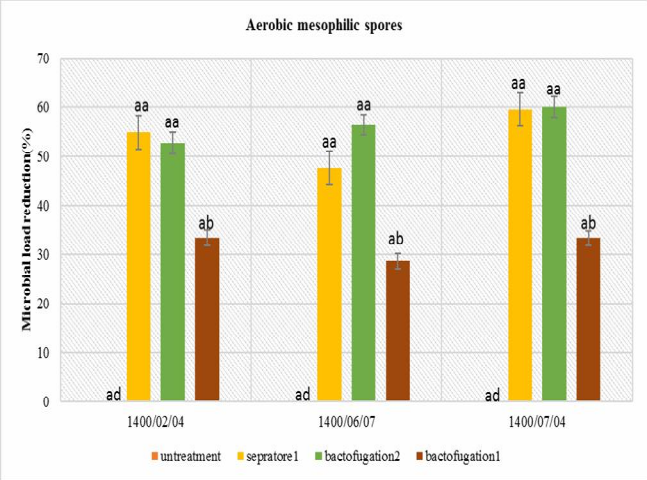
[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]



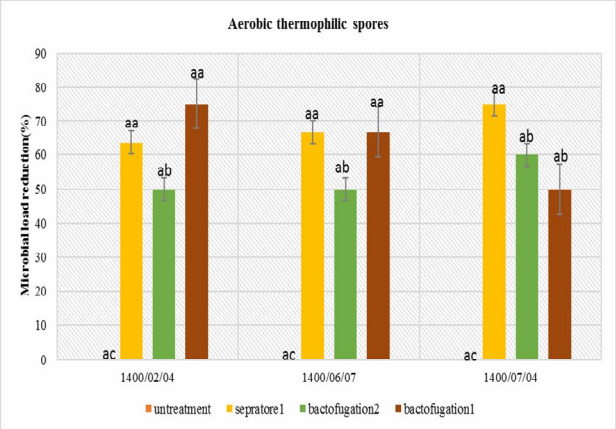

(e)




(f)




(g)




(h)

**Fig 3** Comparison between the percentage of microbial load reduction (e: total microbial count, f: anerobic spores, g: aerobic mesophilic spores, h: aerobic thermophilic spores) in 1399. Data are expressed as mean± standard deviation (n= 3) and different letters show significant difference at the 5% level in Duncan test ($p<0.05$).

مقایسه بین درصد کاهش بار میکروبی (شمارش میکروبی کل، اسپورهای بی‌هوازی و اسپورهای هوازی ترموفیل و مزوفیل) بیانگر این است که به طور کلی درصد کاهش بارمیکروبی در هر دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ توسط سپراتور بیش از باکتوفوگاسیون دوگانه است و باکتوفوگاسیون ۱ بیش از ۲ می‌باشد. درصد کاهش کل بارمیکروبی در تمام نمونه‌ها بیش از ۹۵ درصد می باشد. نمونه‌های شیر در شهریورماه سال ۱۳۹۹ و مهرماه سال ۱۴۰۰ به ترتیب حاوی بیشترین تعداد میکروارگانیسم در نمونه بوده اند و فرایندهای تیمار غیرحرارتی انجام شده بر روی این نمونه‌ها سبب کاهش ۹۹ و ۹۷ درصد شمارش کلی میکروبی شده است، که این امر نشان می‌دهد که در آلودگی بالا هم این روش‌ها، به خوبی قادر به کاهش بار میکروبی نمونه‌های شیر هستند. با توجه به نتایج بدست‌آمده ،مشاهده می‌شود که افزایش زمان هر مرتبه خروج لجن لبنی سبب کاهش فاضلاب تولیدی کارخانه شده‌است، اما تاثیری بر افت کیفیت میکروبی شیر تولیدی نداشته است. یعنی یک تعادل بین زمان خروج لجن لبنی و کاهش بار میکروبی ایجاد شده‌است. پنیرها با دو روش اصلی اسیدی‌کردن شیر یا استفاده از آنزیم پنیرسازی تولید می‌شوند. آنزیم می‌تواند باعث لخته شدن بافت پنیر شود. اسیدسازی در برخی از پنیرها به‌وسیله باکتری‌ها انجام می‌شود و درواقع، همان



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

باکتری‌ها یا استارترهایی که می‌توانند منجر به تولید ماست شوند، قادر به ساخت پنیر هم خواهندبود بنابراین، زمانی که عمل تخمیر در روند تولید پنیر انجام شود، محصول نهایی با نام لاکتیکی شناخته می‌شود. لاکتیکی، به معنای ساخته شدن پنیر از اسید لاکتیک است. پاستوریزاسیون شیر (حرارت‌دهی در دمای ۷۴-۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه) میکروارگانیسم‌های پاتوژن و عامل فساد را تخریب می‌کند و مهم‌ترین تیمار حرارتی به کار گرفته‌شده برای شیر پنیرسازی می باشد که باعث ایمنی قابل قبول و بهبود کیفیت پنیر حاصل می شود. با این وجود پاستوریزاسیون تاثیر جانبی نامطلوبی بر بسیاری از ویژگی‌های حسی پنیر دارد و باعث تغییرات بافتی و اغلب تاخیر در رسیدن پنیر می شود [۷]،[۲۳].

در ابتدا استفاده از سپراتور جهت ارتقاء کیفیت ماندگاری شیر نوشیدنی طراحی گردید، ولی امروزه معمولا جهت افزایش کیفیت باکتریولوژیکی سایر فرآورده‌های شیری نظیر پنیر، پودر آب پنیر مورد استفاده در غذای کودک و پودر شیر بهره‌گیری می شود. بعضی از باکتری‌ها و به ویژه اسپورهای مقاوم به حرارت به طور مشخصی چگالی بیشتری از شیر دارند. باکتوفوگاسیون در اصل فرایندی جهت پاک سازی شیر از وجود این باکتری‌ها می باشد. چون اغلب این اسپورها مقاوم به حرارت می باشند. باکتوفوگاسیون در حقیقت مکمل فرایند های حرارتی خواهد بود. اصول کار باکتوفوگ ها همان اصول کار جداکننده‌های گریز از مرکز می‌باشد. لاشه باکتری‌ها ممکن است بصورت مداوم و همزمان با شیر خارج شود (باکتوفوگ‌های دو فازی که دارای دو خروجی جهت شیر و سیال دفعی می‌باشند) و یا اینکه لاشه ها در فضای رسوب گیر در داخل کاسه سانتریفیوژ جمع شده و در فاصله های زمانی معین تخلیه شوند ( باکتوفوگ های یک فازی که فقط دارای یک خروجی جهت شیر می باشند ). سیال دفعی از باکتوفوگ همیشه ماده خشک بالاتری از شیر ورودی دارد، زیرا مقداری از میسل‌های بزرگ کازئین همراه با اسپور باکتری‌ها خارج می‌شوند. باکتوفوگاسیون در دمای بالا، مقدار پروتئین را در سیال دفعی افزایش می دهد. دمای مناسب باکتوفوگاسیون ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد می باشد. باکتری‌های متعلق به جنس کلستریدیوم (اسپورهای بی‌هوازی) در فرایند پنیر سازی بسیار مشکل آفرین هستند و می‌توانند حتی در مقادیر کم باعث بادکردگی دیررس پنیر شوند. این مساله اهمیت انجام باکتوفوگاسیون را در شیر مورد استفاده جهت پنیرسازی نشان می‌دهد. در مطالعه‌ای از دو روش باکتوفوگاسیون تک مرحله‌ای و دومرحله‌ای برای جداسازی باکتری از شیر خام استفاده کردند و مشاهده نمودند که باکتوفوگاسیون قادر به حذف ۸۸ درصد از باکتری‌های شیر خام است و برای تولید محصولات لبنی باکیفیت بالا در صنعت مناسب است [۲۵].

این فرایندها در دمای کمتر از پاستوریزاسیون انجام می‌شود. در نتیجه مزیت این روش‌ها در مقایسه با روش‌های حرارتی این است که تخریب و جداسازی میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا بدون تغییر در رنگ، طعم و خواص تغذیه‌ای آن می‌باشد و از ایجاد تغییرات و از بین رفتن ترکیبات غذایی حساس به حرارت مانند ویتامین‌ها جلوگیری می‌کند. در مقایسه با نمونه‌ای که دو بار عملیات پاستوریزاسیون بر روی آن انجام شده، این روش بدون استفاده از حرارت بیش از حد، در کاهش بار میکروبی بسیار موثر بوده است. به طور کلی استفاده ترکیبی از چند رو باعث بهبود ویژگی میکروبی نمونه‌های شیر در تمام طول سال شده‌است. یکی از کاربردهای باکتوفوگاسیون در کارخانه‌های لبنی جداسازی باکتری‌ها و اسپورها است. Ribeiro-Júnior و همکاران (۲۰۲۰) ، اثر باکتوفوگاسیون شیر بر تعداد و تنوع میکروبی باکتری‌های مزوفیل، سایکروتروف و گرمادوست و پتانسیل آن به عنوان یک روش فناورانه برای حذف میکروارگانیسم‌های عامل فساد مقاوم به پاستوریزاسیون دسته‌های مختلف شیر خام از ۶۹ مزرعه لبنی که به مجموعه‌هایی در ۳ مخزن حجیمA، B و C تقسیم شده‌اند، را در زمان‌های مختلف در طول فرآیند فن‌آوری مورد ارزیابی قرار دادند. از آنجایی‌که شیر خام بلافاصله قبل از باکتوفوگاسیون از قبل (۵۵ درجه سانتیگراد) گرم شده بود، اثر باکتوفوگاسیون با مقایسه تعداد شیر خام، از پیش گرم شده و باکتوفوژ شده تخمین زده شد. این سانتریفیوژ برای کاهش جداسازی ۸۸ درصد شمارش میکروبی کل در شیر از پیش گرم شده کافی بوده‌است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که باکتوفوگاسیون می‌تواند توسط صنایع لبنی برای کاهش میکروارگانیسم‌های مقاوم به پاستوریزه در ترکیب با اقدامات پیشگیرانه برای جلوگیری از آلودگی شیر خام توسط اسپورها و اشکال رویشی باکتری‌ها به کار رود [۱۲].



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

در طراحی باکتوفوگاسیون نیز باکتری‌ها و اسپورها که دانسیته بالاتری از شیر پس چرخ دارند به سمت خارج رانده می‌شوند[۷]. طلوع نداف آبکوهی و همکاران (۲۰۱۹)، لجن لبنی مربوط به تیمار با باکتوفیوژ را از نظر میکروبی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه پتانسیل باکتوفیوژ و لجن جداشده برای تولید آنزیم های پروتئاز قلیایی مورد مطالعه قرار گرفته‌است. مجموع شمارش هوازی و بی هوازی زنده در Plate Count در دمای ۳۷ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای هر دو نوع لجن تعیین شد. باکتری های پروتئولیتیک از لجن لبنیات با استفاده از محیط کشت شیر اسکیم آگار جداسازی شدند. منطقه شفاف هیدرولیز شیر بدون چربی، ارگانیسم‌های تولیدکننده پروتئاز را نشان می‌دهد. پارامترهای مختلف (دما، pH، شوک حرارتی، و نوع لجن) برای تولید حداکثر آنزیم بهینه شدند. حداکثر فعالیت پروتئولیتیک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. باسیل‌های تولیدکننده پروتئاز قلیایی جدا شده توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز شناسایی شدند. به طور کلی نتایج نشان داده‌است که لجن لبنی دستگاه باکتوفیوژ دارای تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا می باشد [۲۶]. استفاده از این روش‌ها، به جای روش‌های معمول و سنتی حرارت دهی، موجب کاهش تغییرات در خواص شیمیایی شیر مانند دناتوراسیون پروتئین می شود. به کارگیری نیروی گریز از مرکز در فراوری شیر منجر به بهبودکیفیت میکروبی و ویژگیهای حسی شیر، امکان استفاده از سرعت‌های بالای جریان، افزایش بهره‌وری، کاهش هزینه عملیات و کیفیت بالاتر در مقایسه با روشهای متداول گرمایی می‌شود[۲۴].

## ۴-نتیجه‌گیری کلی

شیر و فرآورده‌های آن حاوی مواد مغذی فراوانی هستند که بسیاری از این ترکیبات نسبت به حرارت حساس بوده و در اثر حرارتهی بیش از حد از بین می‌روند. از این رو تلاش در جهت استفاده از فرایندهایی که با استفاده از حرارت کمترسبب کاهش بارمیکروبی شیر می‌شوند رو به افزایش است. به خصوص در مورد شیر مصرفی در تولید پنیر که هرچه فرایند حرارت‌دهی کمتر بر روی آن انجام شود کیفیت و بازده تولید پنیر بیشتر خواهد بود. در این طرح به جای استفاده از دو مرحله پاستوریزاسیون، از سپراتور و باکتوفیوژ برای جداسازی میکروارگانیسم‌ها استفاده شد، که به خوبی بارمیکروبی شیر کاهش یافته و برای تولید پنیر لاکتیکی به کار برده شد. براساس نتایج بدست آمده، این فرایند ،قادر به کاهش موثر در بار میکروبی شیر تا حدود ۹۸ درصد گردید و این امر موجب کاهش برگشت شیرهای فساد شده به کارخانه لبنی شده‌است.

## ۵-تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب با کد۵۵۹۰۵/ ۳ در دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

## ۶-منابع

[1] Hassan, A., & Frank, J. (2011). Microorganisms associated with milk.

[2] Agarwal, A., Pathera, A. K., Kaushik, R., Kumar, N., Dhull, S. B., Arora, S., & Chawla, P. (2020). Succinylation of milk proteins: Influence on micronutrient binding and functional indices. *Trends in Food Science & Technology*, *97*, 254-264.

[3]Vithanage, N. R., Dissanayake, M., Bolge, G., Palombo, E. A., Yeager, T. R., & Datta, N. (2017). Microbiological quality of raw milk attributable to prolonged refrigeration conditions. *Journal of Dairy Research*, *84*(1), 92-101.

[4]Yang, C., Zhao, F., Hou, Q., Wang, J., Li, M., & Sun, Z. (2020). PacBio sequencing reveals bacterial community diversity in cheeses collected from different regions. *Journal of Dairy Science*, *103*(2), 1238-1249.

[5]Júnior ,P. H. R., de Sá Oliveira, K., de Almeida, C. E. R., De Oliveira, L. F. C., Stephani, R., da Silva Pinto, M., de Carvalho, A. F., & Perrone, Í. T. (2016). FT-Raman and chemometric tools for rapid determination of quality parameters in milk powder: Classification of samples for the presence of



[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]

[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]

[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]

[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]

[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]

lactose and fraud detection by addition of maltodextrin. *Food Chemistry*, *196*, 584-588.

[6]Özer, B., & Yaman, H. (2014). Milk and milk products: microbiology of liquid milk. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*.

[7]Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). *Fundamentals of cheese science*. Springer.

[8]Kilcawley, K., Wilkinson, M., & Fox, P. (2000). A survey of the composition and proteolytic indices of commercial enzyme-modified Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, *10*(3), 181-190.

[9]Lemieux, L., & Simard, R. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Le Lait*, *72*(4), 335-385.

[10]Faccia, M., Gambacorta, G., Martemucci, G., Natrella, G., & D'Alessandro, A. G. (2018). Technological attempts at producing cheese from donkey milk. *Journal of Dairy Research*, *85*(3), 327-330.

[11]Karataş, A. (2018). Dairy products added to rearing media negatively effect Drosophila melanogaster (Diptera: Drosophilidae) egg production and larval development. *Journal of Insect Science*, *18*(6), 7.

[12] Ribeiro-Júnior, J., Tamanini, R., Alfieri, A., & Beloti, V. (2020). Effect of milk bactofugation on the counts and diversity of thermoduric bacteria. *Journal of Dairy Science*, *103*(10) .۸۷۹۰-۸۷۸۲ ,

[13]McCarthy, O. (2011). Plant and Equipment| Centrifuges and Separators: Applications in the Dairy Industry.

[14]Gésan-Guiziou, G. (2010). Removal of bacteria, spores and somatic cells from milk by centrifugation and microfiltration techniques. In *Improving the safety and quality of milk* (pp. 349-372). Elsevier.

[15]Dhungana, P., Truong, T., Bansal, N., & Bhandari, B. (2022). A novel continuous method for size-based fractionation of natural milk fat globules by modifying the cream separator. *International Dairy Journal*, *125*, 105209.

[16]Kumar, C. G., & Takagi, H. (1999). Microbial alkaline proteases: from a bioindustrial viewpoint. *Biotechnology advances*, *17*(7), 561-594.

[17] Iran Institute of Standards and Industrial Research. No. 326. 2008. Milk and its products - Guide to milk sampling.

[18] Iran Institute of Standards and Industrial Research. No. 1368. The method of counting microbes in milk.

[19] Iran Institute of Standards and Industrial Research. No. 2406. 1395.Microbiology of milk and its products - characteristics and test methods of milk and its products.

[20] Lücking, G., Stoeckel, M., Atamer, Z., Hinrichs, J., & Ehling-Schulz, M. (2013). Characterization of aerobic spore-forming bacteria associated with industrial dairy processing environments and product spoilage. *International journal of food microbiology*, *166*(2), 270-279.

[21]Gaur, R., Tiwari, S., & Sharma, A. (2014). Protease of BacilIus sp. P-02. *American Journal of Food Technology*, *9*(5), 246-256.

[22]Gupta, R., Beg, Q., & Lorenz, P. (2002). Bacterial alkaline proteases: molecular approaches and industrial applications. *Applied microbiology and biotechnology*, *59*(1), 15-32.

[23]Huppertz, T., Hinz, K., Zobrist, M. R., Uniacke, T., Kelly, A. L., & Fox, P. F. (2005). Effects of high pressure treatment on the rennet coagulation and cheese-making properties of heated milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *6*(3), 279-285.

[24]Heino, A., Uusi-Rauva, J., & Outinen, M. (2010). Pre-treatment methods of Edam cheese milk. Effect on cheese yield and quality. *LWT-Food Science and Technology*, *43*(4), 640-646.

[25]Kasayi, S., Delshad, R., Maadi, H., & Haghi, M. (2011). Bactofugation of Liquid Milks; a Mechanical procedure to reduce bacteria in dairy product. The First International Congress of Medical Bacteriology,

[26]Toloue Naddaf Abkouhi, M., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S. A., & Edalatian, M. (2019). Identification of Alkaline Protease Producing Bacilli from Sludge of Bactofuge and Separator Using Culture–Based and Molecular Techniques. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *21*(7), 1819-1830.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

# Effect of using a separator and two-stage bactofugation, Their operating conditions on microbial load and dairy sludge volume

**Moradi, S. [1], Zeraatpisheh, F. [2], Zanganeh, H. [2], Ghajari Shamushaki, M. [3], Vasiee, A. [2], Tabatabaei Yazdi, F. [2*], Mortazavi, S. A. [2]**

1. Department of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Tehran, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3. Production Manager of Pegah Golestan Milk Factory, Iran.

**ARTICLE INFO**

**Article History:**

Received 2022/ 06/ 09
Accepted 2022/ 07/ 27

**Keywords:**

Milk,
Microbial load,
Separator,
Bactofuge,
Dairy sludge.

**DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241**
**DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8**

*Corresponding Author E-Mail:
tabatabai@um.ac.ir

**ABSTRACT**

Microbial quality of raw milk is very important in two respects. First, milk consumption itself plays a very significant role in people's food tables and its high microbial load endangers consumer health. Second, if the microbial quality of milk is not suitable, from a technology point of view, milk-derived products will not have a good quality. In this project, which has been carried out in collaboration with Pegah Golestan Company, the separation process (with separators) and double bactofugation was used to reduce microbial load with the aim of reducing milk heating (in order to reduce the nutritional value as a result of heat). Milk samples used for lactic cheese production in Golestan province were examined in 2020 and 2021. After the process, total microbial counting, aerobic and anaerobic spores were counted. The results showed that by using this method, the total microbial load, aerobic and anaerobic spores of the collected milks were reduced to an acceptable level throughout the year without decreasing the microbial quality of the produced cheese during the storage period. On the other hand, the process of separation and bactofugation produces dairy sludge. Normally, dairy sludge is removed every 20 minutes, which was performed in separator and bactofuge1 to 21 minutes to reduce dairy sludge.

[ Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-28 ]
[ DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8 ]
[ DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241 ]