شناسایی نقاط بحرانی در خط تولید دوغ پاستوریزه و ارائه راهکارهای مناسب جهت کنترل آلودگی‌های میکروبی

مژگان یزدی[۱]، محبوبه سرابی جماب*[۲]، ابوالفضل پهلوانلو[۳]

۱- دانشجوی دکتری زیست فناوری مواد غذایی ، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد
۲- دانشیار گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد
۳- استادیار گروه زیست فناوری مواد غذایی، مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد
(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۰۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۵/۱٤)

چکیده

این پژوهش با هدف تعیین منابع آلودگی میکروبی در خط تولید دوغ در مدت یک سال در یک کارخانه فراورده‌های لبنی، انجام شد. نمونه‌ها از نقاط کنترلی مختلف از ابتدا تا انتهای خط تولید شامل شیر خام، شیر پاستوریزه، آب فرمولاسیون، آغازگر، ماست دوغ، دوغ پاستوریزه، دوغ نهایی، سطوح و هوای دستگاه پرکن، سالن نگهداری دوغ پاستوریزه، سالن پرکن و انبار جمع‌آوری شد. آنالیز میکروبی نمونه‌ها برای تعیین شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، کپک و مخمر، کلی‌فرم‌ها، *اشرشیا کلی*، میکروارگانیسم‌های سرماگرا و گرمادوست، باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک و استافیلوکوکس‌های کوآگولاز مثبت مطابق استانداردهای ملی ایران انجام گردید. نتایج نشان داد کیفیت بهداشتی دوغ به کیفیت شیر خام، کفایت تیمار حرارتی، کیفیت میکروبی اجزای افزوده شده و مواد بسته‌بندی، انجام CIP وضدعفونی مناسب لوله‌ها، سطوح فرآوری و کارخانه بستگی دارد. نتایج حاکی از آن است که تعیین نقاط کنترل بحرانی و سازماندهی سیستم‌های کنترل خودکار به منظور حذف یا به حداقل رساندن ریسک آلودگی‌ها ضروری می‌باشد.

کلید واژگان: دوغ پاستوریزه، منابع آلودگی میکروبی، نقاط کنترل بحرانی.

*مسئول مکاتبات: m.sarabi@rifst.ac.ir

۱- مقدمه

امروزه، شیر و فراورده‌های آن، نه تنها از نظر تحقیقات علمی بلکه در بازار تجارت جهانی رونق فراوانی یافته‌اند. مهم‌ترین عوامل مؤثر بر اقبال این محصولات، اثرات سلامت‌بخش، ویژگی‌های تغذیه‌ای مطلوب و خصوصیات حسی منحصربه فرد آن‌ها است[۱]. دوغ یکی از نوشیدنی‌های سنتی ایران و برخی ملل دیگر در اروپای شرقی، خاورمیانه و آسیا به شمار می‌آید. طبق تعریف استاندارد ملی ایران، دوغ ساده، نوشیدنی لاکتیکی حاصل از تخمیر شیر است که ماده خشک آن از راه رقیق کردن ماست یا شیر دوغ‌سازی، استاندارد شده است[۲].

محصولات لبنی از جمله دوغ، به دلیل رطوبت بالا و دارا بودن مواد مغذی محیط مناسبی برای رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد[۳]؛ لذا در صنایع لبنی برای حفظ کیفیت محصولات لبنی در طی مدت نگهداری، معمولاً از دماهای پایین استفاده می‌نمایند؛ هرچند نگهداری محصولات لبنی در مدت نسبتاً طولانی در دماهای پایین باعث تغییر توازن میکروبی آن شده و شرایط را برای رشد باکتری‌های سرمادوست فراهم می‌آورد. بیشترین فلور میکروبی فراورده‌های لبنی نگهداری شده در دماهای پایین را باکتری‌های سرما دوست تشکیل داده که به دلیل دارا بودن خاصیت پروتئولیتیکی و لیپولیتیکی، سبب فساد محصولات لبنی می‌گردند[٤، ٥، ٦].

فساد مخمری نیز به عنوان یک مشکل در فراورده‌های لبنی تخمیری مثل ماست و دوغ شناخته شده است. نقش مخمرها به عنوان میکروارگانیسم‌های عامل فساد در فراورده‌های لبنی با توجه به فعالیت‌های آنزیمی بالا و توانایی آن‌ها برای رشد در دمای پایین، pH پایین، فعالیت آبی پایین و غلظت نمک بالا مرتبط می‌باشد[۷]. منشأ آلودگی‌های مخمری در طول فرایند تولید از مزرعه تا محصول نهایی شامل غذای دام، انسان‌ها، سطوح وسایل و تجهیزات و افزودنی‌های مورد استفاده در فراورده‌های مختلف می‌باشد[۸، ۹، ۱۰].

Eneroth و همکاران (۱۹۹۸) باکتری‌های سرماگرا گرم منفی(سودوموناس، انتروباکتریاسه[1] و آئرومونـاس[2]) و گرم مثبت تولید کننده اسپور (باسیلوس) را در خط تولید شیر پاستوریزه در سه کارخانه واقع در سوئد و نروژ مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد اکثر آلودگی‌های ثانویه به باکتری‌های گرممنفی، در مرحله پرکردن اتفاق افتاده است.سودوموناس از همه بسته‌ها (۱۰۰٪)، انتروباکتریاسه‌ها از ۹٪ و ائرومونـاس از ۳٪ بسته‌ها جداسازی شد[۱۱].

Moreira و همکاران(۲۰۰۱) به منظور جداسازی و تعیین مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای عامل فساد ماست آزمایشاتی را روی ۷۳ نمونه ماست تجاری تولید شده در مناطق مختلف برزیل انجام دادند. طبق نتایج بدست آمده، شمارش کلی نمونه‌های ماست حدود ٦×۱۰۷ cfu/gr بود. با این حال تعداد مخمرها در حدود یک سلول در هر ۲۷۰۰ گرم ماست گزارش شد. هیچ شواهدی مبنی بر آلودگی سیستماتیک در منبع وجود نداشت. همچنین مشخص گردید که آلودگی ماست در ماه‌های گرم سال بیشتر بوده و معمولاً انبارداری نامناسب نمونه‌های ماست منجر به افزایش تعداد مخمرها شده است. مهمترین جنس‌های مخمر عامل آلودگی در این تحقیق *دباریومایسس*، *هانزنولا*، *کاندیدا* و *ساکارومایسس* معرفی گردید [۱۲].

Ercolini و همکاران (۲۰۰۹) از تکنیک مولکولی RAPD-PCR به منظور ارزیابی فلور میکروبی نمونه‌های شیر خام در سطح گونه استفاده کردند. گونه‌های مختلف سودوموناس‌ها و انتروباکتریاسه‌ها به طور غالب شیوع بیشتری داشتند. علاوه بر این ایزوله‌های گرم مثبت متعلق به جنس *استافیلوکوکوس* و *لاکتوکوکوس* نیز یافت شدند. آزمایشات رشد در دماهای مختلف نشان داد که بیش از ۵۰ درصد ایزوله‌های گرم منفی در دماهای پایین و هم‌چنین ٦۵ درصد از گونه‌های سودوموناس در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز رشد کردند. تنها ۱۳ ایزوله گرم منفی بر روی محیط میلک آگار[3] فعالیت پروتئولیتیکی را نشان دادند که اساسا متعلق به جنس *سودوموناس* بوده و توانایی فعالیت در هر دو دمای ۷ و ۲۰ درجه سانتی‌گراد را دارا بودند[۱۳].

از دیگر عواملی که در کیفیت فراوردهای حاصل از شیر تأثیرگذار است،آلودگی ثانویه فراورده است. آلودگی ثانویه در بخش سرد کردن محصول، محل نگهداری و یا بسته‌بندی نهایی محصول در اثر شرایط نامناسب بهداشتی ایجاد می‌گردند. حضور کلی‌فرم‌ها به

1. *Enterobacteriaceae*
2. *Aeromonas*
3. Agar milk

عنوان شاخص آلودگی و نشان‌دهنده آلودگی ثانویه محصول طی فرآوری است؛ همچنین آلودگی پس از فرایند غالباً توسط میکروارگانیسم‌های سرمادوست ایجاد شده که با تولیدآنزیم‌های متعدد باعث نامطلوب شدن طعم محصول می‌گردند[۹].

بهترین روش برای جلوگیری از آلودگی و فساد دوغ، شناسایی نقاط بحرانی[1]خط تولید آن و اجرای سیستم کنترلی در این نقاط است. با توجه به روند رو به افزایش مصرف دوغ در کشور و نقش طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها از جمله مخمرها، کلی‌فرم‌ها و سرماگراها در کاهش کیفیت در محصول دوغ پاستوریزه، شناسایی این عوامل از طریق تعیین نقاط بحرانی خط تولید دوغ نقش مؤثری در افزایش بازارپسندی و زمان ماندگاری محصول دوغ خواهد داشت. لذا تحقیق حاضر با هدف شناسایی نقاط بحرانی خط تولید دوغ و پس از آن ارائه روش‌های مناسب جهت کنترل عوامل میکروبی مولد فساد صورت پذیرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

به منظور جداسازی و شمارش میکرارگانیسم‌های مختلف از محیط کشت‌های پلیتکانتآگار[2]، پلیت کانت اسکیم میلک آگار[3]، ویآربیآگار[4]، لاکتوز براث[5]، ائوزین متیلن بلو آگار[6]، امآراسآگار[7]، وایجیسیآگار[8]، برد-پارکر آگار[9]، گازپکبی‌هوازی A و رینگر[10] ساخت شرکت مرک آلمان (Merck, Germany) و پلیتاستریل ۸ سانتی‌متریکبارمصرف ساخت شرکت لب‌تورن انگلستان (Labtron, UK) استفاده گردید.

۲-۲- نمونه‌برداری

به منظور بررسی آلودگی‌های میکروبی در خط تولید دوغ، نمونه‌گیری بر اساس ریسک خطرات میکروبی نقاط مختلف خط تولید یک کارخانه صنعتی تولید کننده دوغ،در هر ماه به مدت یکسال (از مهرماه ۱۳۹۴ تا شهریور ۱۳۹۵) انجامگرفت. نقاط نمونه‌گیری منتخب به شرح ذیل بود:

۱- مخلوط شیر تحویلی برای تولید دوغ از تانک ذخیره؛
۲- شیر پس از پاستوریزاسیون؛
۳- آغازگر مورد استفاده در فرمولاسیون دوغ؛
۴- آب مورد استفاده در تولید دوغ (آب فرمولاسیون)؛
۵- ماست دوغ؛
۶- دوغ پس از پاستوریزاسیون؛
۷- سطوح دستگاه پرکن دوغ؛
۸- هوای اتاقک پرکن دوغ؛
۹- هوای سالن نگهداری دوغ پاستوریزه قبل از پرکردن؛
۱۰- هوای اتاق بسته بندی؛
۱۱- هوای انبار نگهداری دوغ بسته بندی شده؛
۱۲- نمونه دوغ نهایی داخل بطری.

جهت نمونه‌گیری از نمونه‌های شیر خام مخلوط، شیر پاستوریزه شده، آب، ماست دوغ و دوغ پاستوریزه شده، میزان ۳۰ میلی‌لیتر از هر نمونه در سه تکرار، در ظروف استریل با برچسب مشخص، جمع‌آوری شد و سپس نمونه‌ها جهت ادامه آنالیزها، تحت شرایط کاملا اسپتیک به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

۲-۳- آزمون‌های میکروبی

جداسازی و شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها و باکتری‌های سرمادوست، با استفاده از محیط کشت پلیت کانت آگار و به ترتیب مطابق استانداردهای ملی ایران به شماره‌های ۱-۵۲۷۲ و ۳۴۵۱ انجام شد[۱۵و ۱۴].

جداسازی و شمارش باکتری‌های مقاوم به حرارت بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۴۵۱۸ و با استفاده از محیط کشت پلیت کانت اسکیم میلک آگار به همراه معرف بروموکروزول پرپل[11] انجام شد[۱۶].

به منظور شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت وی آر بی آگار، بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲۶۳ استفاده گردید[۱۷] و شمارش *اشریشیا کلی* طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۹۴۶ و با کمک محیط کشت‌لاکتوز براث جهت غنی سازی و محیط کشت انتخابی ائوزین متیلن بلو انجام شد[۱۸].

1. Control Points (CPs)
2. Plate Count Agar (PCA)
3. Plate Count Skimmed Milk Agar
4. Violet Red Bile (VRB)Agar
5. Lactose Broth (LB)
6. Eosin Methylene Blue (EMB) Agar
7. De Man, Rogosa and Sharpe(MRS)
8. Yeast Extract Glucose Chloramphenicol (YGC) Agar
9. Baird-Parker (B.P.A) Agar
10. Baird-Parker (B.P.A) Agar
11. Bromocresol purple

شمارش کپک و مخمر با استفاده از محیط کشت وای جی سی آگار و بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱-۱۰۸۹۹ [۱۹] و جداسازی و شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک طبق استاندارد شماره ٤٧٢١ ایران و با استفاده از محیط کشت ام آراس آگار انجام شد[۲۰].

به منظور شناسایی *استافیلوکوکوس اورئوس* کواگولاز مثبت از محیط کشت برد پارکر آگار بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۱-٦٨٠٦ استفاده گردید[۲۱]؛ همچنین تست سطوح بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ٤٨٠٦ و بر اساس روش سوآپ انجام شد[۲۲].

به منظور ارزیابی بار میکروبی هوا در نقاط مختلف خط تولید دوغ، درب پلیت‌های حاوی حدود ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت پلیت کانت آگار برداشته شد و پلیت‌ها در نواحی مختلف، به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در معرض هوای محیط فرآوری قرارگرفت. پس از طی مدت مذکور و بستن درب پلیت‌ها، در دمای ۳۲/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. در نهایت تعداد پرگنه‌های تشکیل شده، توسط دستگاه پرگنه شمار بلستون هند(Bellestone, India)، مشخص شد[۲۳].

۲-٤- تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به خصوصیات میکروبی نمونه‌های دوغ در طول مدت زمان ماندگاری، در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار با استفاده از نرم افزار آماری Minitab مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از آنالیز واریانس، میانگین‌های مربوطه با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن($P<۰/۰۵$) مقایسه شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی بار آلودگی میکروبی شیر خام ورودی

شمارش‌هایمیکروبی، با استفاده از رقت‌های cfu/ml 10^{-5}، 10^{-6} و 10^{-7} از نمونه‌های شیرخام تهیه شد. پس از تلقیح و طی دوره گرمخانه‌گذاری، جهت محاسبه تعداد میکروارگانیسم‌ها، عدد شمارش شده در عکس رقت ضرب گردید. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در طی یک سال نمونه‌گیری از شیر اولیه مورد استفاده در تهیه دوغ از ٦/١٢ log cfu/ml تا ٨/٩٢ log cfu/ml متغیر بوده است؛ به‌طوری که بیشترین میزان آلودگی در نمونه شیر مربوط به مهر ماه سال ٩٤ بدست آمد و کمترین آن متعلق به اسفند همان سال بود. در خصوص کپک و مخمر بیشترین میزان آن در فروردین ۹۵ بدست آمد که البته به لحاظ آماری با میزان آلودگی به کپک و مخمر شیر خام در مهر و بهمن ٩٤ و نیز اردیبهشت و خرداد ۹۵ تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که به‌جز در بهمن ماه ٩٤، شیر خام به کلی‌فرم و *اشریشیا کلی* آلوده بود. همچنین بیشترین میزان میکروارگانیسم‌های سرماگرا در شیر نمونه گیری شده در آبان ٩٤ بدست آمد درحالی که در آذر ٩٤ آلودگی به سرماگراها مشاهده نگردید؛ این درحالی است که بیشترین میزان آلودگی به میکرواگانیسم‌های گرمادوست در آذرماه ٩٤ مشاهده شد. میزان باکتری‌های اسید لاکتیک شمارش شده در شیر آبان ماه ۹۵ نیز در مقایسه با سایر ماه ها بسیار بیشتر بود (۱۰/۰۱ log cfu/ml).

شیر دارای رطوبت بالا، pH تقریباً خنثی و مواد مغذی (چربی، پروتئین، ویتامین و املاح معدنی) است، لذا محیطی مناسب برای رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. در حیوان سالم، شیر در هنگام ساخت و ترشح، عاری از میکروب است. آلودگی شیر با ورود آن به کانال‌های کوچک شیری آغاز می‌گردد و قسمت عمده آلودگی مربوط به خروج شیر از پستان حیوان می‌باشد. اگر شیرخام در شرایط بهداشتی، تازه دوشیده شده باشد، دارای حدوداً 10^{3} میکروارگانیسم مختلف در هر میلی‌لیتر بوده و pH آن ٦/٥ تا ٦/٧ می‌باشد[٢٤]. کنترل نوع و سطح میکروارگانیسم‌های شیر بسیار مهم است؛ آلودگی به میکروارگانیسم‌ها می‌تواند از طریق گاو، کارگرها یا تجهیزات مورد استفاده در شیردوشی و یا در زمان حمل‌ونقل و نگهداری در شیر در واحد فرآوری آن اتفاق بیفتد. برای نگهداشتن فلور میکروبی در پایین‌ترین سطح ممکن باید بلافاصله پس از شیردوشی، دمای شیر را به زیر ۵ درجه سانتی‌گراد رساند. این دما باید تا زمان فرآوری در واحد تولیدی حفظ شود[۲۵].

روش‌های مدرن تولید، به علاوه استانداردهای کیفی که از سوی مجامع بین‌المللی مورد خواست و توجه قرار دارند این ضرورت

را ایجاب می‌کند که شیرخام در محل دریافت در کارخانه، دارای مزه خوب، شمارش باکتریایی پایین، حداقل فعالیت آنزیمی و عاری از ناخالصی‌ها باشد. چرخه انبارداری و تنظیم دماها می‌تواند به اطمینان یافتن از کیفیت خوب شیرخام اولیه که برای تولید تمامی فراورده‌های لبنی با زمان ماندگاری کوتاه به‌کار می‌رود کمک کند[۲۵]. در کشور ما، شرایط نگهداری دام‌ها و اصول بهداشتی آن به طور قابل توجهی بهبود یافته است، اگر چه هنوز بهداشت نامناسب عامل ایجاد بسیاری از مشکلات است. دستگاه‌های مدرن شیردوشی کمی پیچیده هستند و برنامه‌های گندزدایی مدون باید در مورد آن‌ها اجرا شود. کارکنان نیز باید آگاهی‌های لازم در زمینه احتمال آلودگی به عوامل بیماری‌زا را داشته باشند[۲۶].

Table 1 Microbial count of row milk samples (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E. coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr 94	8.92±0.05 a	5.37±0.07 a	4.37±0.20 e	4.00±0.13 b	5.82±0.07 c	0.00±0.00 e	5.28±0.18 def
Aban 94	6.73±0.09 f	0.00±0.00 e	6.52±0.09 ab	5.00±0.11 a	7.23±0.12 a	1.23±0.25 bcd	10.01±0.01 a
Azar 94	6.21±0.43 g	0.00±0.00 e	2.35±0.13 f	2.58±0.07 c	0.00±0.00 g	5.74±0.24 a	5.71±0.19 d
Day 94	7.20±0.26 e	4.14±0.16 b	2.06±0.05 f	2.51±0.00 c	4.44±0.06 f	0.00±0.00 e	5.04±0.05 f
Bahman 94	7.51±0.07 de	5.30±0.27 a	0.00±0.00 g	0.00±0.00 d	4.81±0.07 e	1.04±0.05 d	5.37±0.11 def
Esfand 94	6.12±0.07 g	4.55±0.13 b	5.29±0.17 d	5.05±0.08 a	4.20±0.10 f	0.00±0.00 e	5.10±0.10 ef
Farvardin 95	6.16±0.07 g	5.55±0.30 a	5.38±0.21 d	5.14±0.07 a	5.44±0.05 d	1.12±0.08 cd	5.56±0.30 de
Ordibehesht 95	8.65±0.08 ab	5.24±0.24 a	6.17±0.15 bc	5.08±0.19 a	5.60±0.14 cd	1.51±0.11 bc	5.42±0.05 def
Khordad 95	8.06±0.03 c	5.18±0.12 a	6.71±0.19 a	5.15±0.10 a	6.13±0.05 b	1.66±0.22 b	7.64±0.14 b
Tir95	8.25±0.07 bc	4.13±0.10 b	5.27±0.13 d	5.10±0.12 a	4.85±0.09 e	0.35±0.16 e	6.47±0.07 c
Mordad 95	6.84±0.08 f	1.79±0.14 d	4.57±0.14 e	4.20±0.09 b	6.16±0.06 b	0.25±0.11 e	5.63±0.23 d
Shahrivar95	7.74±0.21 cd	3.57±0.17 c	5.83±0.05 c	5.00±0.08 a	7.09±0.05 a	1.34±0.22 bcd	7.63±0.21 b

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

۳-۲- بررسی بار آلودگی میکروبی شیر پاستوریزه

همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود نتایج ارزیابی بار آلودگی کلی شیر پاستوریزه در ماه‌های مختلف سال، نشان داد شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در اولین ماه‌های ارزیابی بالا بوده ولی پس از آن دو تا سه سیکل لگاریتمی بار آلودگی کاهش یافته است. همچنین نتایج حاکی از آن است که بجز مهر و آذر ۹۴ و نیز شهریور ۹۵ شیر پاستوریزه فاقد کپک و مخمر بوده است. بیشترین میزان کلی‌فرم و *اشریشیا کلی* در شیر پاستوریزه آذر ۹۴ بدست آمد که نشانه عدم کفایت حرارتی پاستوریزاسیون می‌باشد. بیشترین میزان میکروارگانیسم‌های سرماگرا در ماه شهریور سال ۹۵ بدست آمد که به‌طور چشمگیری این آلودگی بالا بود. همچنین در شیر پاستوریزه آبان، آذر و بهمن ۹۴ و فروردین و اردیبهشت ۹۵ میکروارگانیسم‌های گرمادوست شمارش شد که بیشترین مقدار آن متعلق به آبان ۹۴ بود (۲/۳۰ log cfu/ml). در خصوص باکتری‌های اسید لاکتیک بیشترین میزان شمارش شده به میزان ۷/۶۰ log cfu/ml در شهریور ۹۵ محاسبه گردید. حضور بیش از ۷ سیکل لگاریتمی از باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک در شیر پاستوریزه نشانه عدم فرایند صحیح پاستوریزاسیون در ماه‌های مذکور است.لذا این مسئله، لزوم توجه و دقت بیشتر در فرایند پاستوریزاسیون را از طریق تعمیر و نگهداری صحیح پاستوریزاتورها، جهت اعمال دمای مناسب نشان می‌دهد. همان طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، شمارش جمعیت میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در فصل زمستان(دی، بهمن و اسفند) به مراتب پایین‌تر بوده است که دلیل این امر را می‌توان به نامناسب بودن شرایط دمایی جهت رشد میکروارگانیسم‌هایی که از طرق مختلف مانند پستان حیوان، کارگرها، تجهیزات آلوده شیردوشی و... به شیر خام منتقل می‌شوند، دانست. بنابراین جمعیت میکروبی در شیر خام اولیه و متعاقبا در شیر پاستوریزه شده کاهش یافت.

درجه بهداشتی بودن فراورده‌های لبنی بستگی به شرایط تولید

شیر در دامداری دارد؛ بنابراین منبع تامین شیر برای تولید محصول نهایی مهم است. حتی پاستوریزه کردن بسیار دقیق نیز نمی‌تواند کیفیت را بالا ببرد یا مشکلات ایجاد شده توسط باکتری‌های مضر در مواد اولیه را دفع کند. هر چند پاستوریزه کردن یک عمل مؤثر علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد است، فقط یک اقدام حفاظتی است و نباید جهت اصلاح مواد اولیه غیربهداشتی یا بهداشتی نامناسب به‌کار رود [۲۷- ۲۹].

گروه‌های مهمی چون میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، میله‌ای‌های گرم منفی، اکثر باکتری‌های اسید لاکتیک، کپک‌ها و مخمرها طی عملیات پاستوریزاسیون شیر نابود می‌شوند؛ در مقابل بعضی از انتروکوکسی‌ها، استرپتوکوکسی‌های گرمادوست و لاکتوباسیل‌ها، برخی میکروکوکسی‌ها و اشکال اسپوری تحت این شرایط زنده باقی می‌مانند[۲۵]. مسلماً حضور میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و سایر میکروارگانیسم‌های غیرمقاوم به حرارت در شیر پاستوریزه شده دلیل عدم کفایت فرایند حرارتی است.

۳-۳- بررسی بار آلودگی آغازگر

آلودگی پس از پاستوریزاسیون شاید یکی از بزرگترین دلایل از بین رفتن شرایط بهداشتی محصول تولید شده باشد. منابع اصلی آلودگی پس از فرایند حرارتی، هوا، آب، تجهیزات، ابزار، کارکنان، آغازگرها، و بسته‌بندی می‌باشد[۷ ، ۸].

نتایج آزمون‌های انجام شده روی آغازگر مورد استفاده در تهیه دوغ (جدول ۳) نشان داد که آغازگر فاقد هرگونه آلودگی بوده و میزان باکتری‌های آغازگر فعال در نمونه‌های گرفته شده از مهر ۹۴ تا شهریور ۹۵ از ۵/۱۷ log cfu/ml تا ۸/۳۲ log cfu/ml متغیر بود. دلیل این امر را می‌توان به عدم فعالیت مناسب آغازگر اولیه مورد استفاده یا نامناسب بودن شرایط رشد باکتری‌های آغازگر در طی فرایند دانست. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود جمعیت باکتری‌های آغازگر در فصل زمستان در مقایسه با سایر فصول سال بالاتر بود؛ علت این امر را می‌توان این‌گونه توصیف کرد که شرایط دمایی محیطی در فصول غیر از فصل زمستان برای رشد این میکروارگانیسم‌ها مساعدتر است؛ لذا افزایش رشد میکروارگانیسم‌ها و سپس افزایش غلظت اسیدهای آلی مانند اسید لاکتیک در محیطرخ می‌دهد که درنتیجه آن شرایط محیطی نامساعد شده و کاهش جمعیت باکتریایی اتفاق می‌افتد [۳۰].

لازم به ذکر است که جهت آماده‌سازی کشت آغازگر، ابتدا طبق دستورالعمل شرکت سازنده، محتوی بسته به یک لیتر شیر گرم شده تا دمای تخمیر، افزوده و تا زمان حل شدن کامل گرانولهای آغازگر، شیر به آرامی به هم زده شد. به مخلوط حاصله کشت مادر نیز گفته می‌شود.سپس مایه کشت مادربه ظروف ٤ تا ۲۰ لیتری حاوی شیر استاندارد شده از نظر چربی، اضافه شده و کشت واسط تهیه شد. در ادامه کشت واسط به میزان تقریبا ۳-۲ درصد حجمی به ظروف یا تانک‌های بزرگ حاوی شیر استاندارد شده اضافه شد.

میکروارگانیسم‌هایی که به عنوان آغازگر در تولید دوغ بکار می‌روند، باکتری‌های اسید لاکتیک بوده که قادرند با تخمیر قند لاکتوز، اسید لاکتیک تولید نمایند. در تولید دوغ ایرانی به طور متداول از دو میکروارگانیسم *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* به این منظور استفاده می‌شود. مدیریت تولید آغازگر و کنترل فعالیت و حیات آن، مسأله‌ای ضروری در کیفیت فراورده نهایی و زمان ماندگاری فراورده‌های تخمیری است. آماده‌سازی محیط کشت و انتقال آن، نیازمند اجرای بالاترین استانداردهای بهداشتی به همراه توجه به جزئیات فنون تولید و انتخاب دستگاه مناسب می‌باشد. محیط کشت باید حاوی مقادیر بالای باکتری‌های زنده و فعال در نسبت‌های صحیح باشد تا شیر در زمان معین به pH مطلوب برسد. در روش تلقیح مستقیم به مخزن، از سلول‌های منجمد آغازگر استفاده می‌شود و ضروری است که این آغازگرها در دماهای بسیار پایین نگهداری شده و طبق دستورالعمل تولید کننده به کارگرفته شوند[۲۵].

Table 2 Microbial count of pasteurized milk samples (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E.coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr94	4.02±0.03 [b]	0.8±0.06 [b]	2.78±0.21 [c]	2.09±0.05 [b]	2.37±0.21 [b]	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [f]
Aban94	6.44±0.19 [a]	0.00±0.00 [c]	4.45±0.29 [b]	2.14±0.06 [b]	0.00±0.00 [f]	2.30±0.49 [a]	0.00±0.00 [f]
Azar94	3.30±0.09 [c]	1.13±0.15 [a]	10.00±0.00 [a]	5.14±0.10 [a]	0.00±0.00 [f]	2.11±0.19 [ab]	0.00±0.00 [f]
Day94	1.04±0.05 [g]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [f]	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [f]
Bahman94	1.02±0.02 [g]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [f]	1.10±0.11 [c]	0.00±0.00 [f]
Esfand 94	1.39±0.18 [fg]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [f]	0.00±0.00 [d]	0.20±0.05 [e]
Farvardin95	1.13±0.10 [g]	0.00±0.00 [c]	0.52±0.08 [d]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [f]	2.21±0.19 [ab]	0.32±0.02 [d]
Ordibehesht95	2.07±0.06 [e]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	1.60±0.26 [c]	1.82±0.10 [b]	2.46±0.06 [b]
Khordad95	1.16±0.19 [g]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	0.46±0.07 [d]	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [f]
Tir95	1.75±0.13 [ef]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	0.09±0.03 [e]	0.00±0.00 [d]	0.41±0.08 [d]
Mordad 95	2.75±0.22 [d]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	0.74±0.08 [d]	0.00±0.00 [d]	0.75±0.15 [c]
Shahrivar95	1.17±0.09 [g]	1.21±0.16 [a]	0.00±0.00 [e]	0.00±0.00 [c]	7.02±0.02 [a]	0.00±0.00 [d]	7.60±0.19 [a]

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

Table 3 Microbial count of starter (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E.coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr94	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	7.60±0.20 [c]
Aban94	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	6.91±0.05 [d]
Azar94	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	6.17±0.10 [e]
Day94	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	8.32±0.16 [a]
Bahman94	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	7.54±0.11 [c]
Esfand 94	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	7.43±0.08 [c]
Farvardin95	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	5.30±0.19 [f]
Ordibehesht95	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	8.30±0.10 [a]
Khordad95	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	7.88±0.05 [b]
Tir95	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	7.95±0.09 [b]
Mordad 95	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	5.92±0.22 [e]
Shahrivar95	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [a]	5.50±0.25 [f]

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

۳-٤- بررسی بار آلودگی آب فرمولاسیون

برای تولید دوغ باید از آب قابل شرب استفاده کرد. بدین‌منظور، آب تصفیه شده شهری و یا آب حاصل از منابع طبیعی مانند چشمه و سفره‌های آب زیرزمینی مناسب می‌باشد. هم‌چنین لازم است کلیه اقدامات احتیاطی برای جلوگیری از هرگونه آلودگی یا تأثیرات خارجیروی کیفیت آن انجام گیرد؛ به‌طورکلی آب آشامیدنی باید عاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا باشد [۳۱].

پیشرفته‌ترین روش تصفیه آب، روش اسمز معکوس[1] (RO) می‌باشد. در کارخانجات تولید فراورده‌های لبنی معمولاً از آب RO در فرمولاسیون محصولات استفاده می‌شود. البته لازم به ذکر است که در صورت آلودگی ثانویه آب RO از طریق مخزن نگهداری، لوله‌های انتقال آب یا ... و نیز در صورت عملکرد نامناسب فیلترهای اسمز معکوس، آب می‌تواند حاوی آلودگی‌های مختلف از جمله آلودگی میکروبی باشد. هرچند در تهیه دوغ مورد ارزیابی در طی یک سال از آب RO استفاده گردید نتایج ارزیابی بار آلودگی میکروبی آب مورد استفاده در فرمولاسیون دوغ حاکی از آلودگی آن به میکروارگانیسم‌ها می‌باشد؛ به‌طوری که در هیچ یک از ماه‌های سال آب مورد استفاده فاقد آلودگی میکروبی نبود. بیشترین میزان شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در فروردین سال ۹۵ معادل ۸ سیکل لگاریتمی بدست آمد که نشان‌دهنده آلودگی بالای آب فرمولاسیون احتمالاً به دلیل عملکرد نادرست فیلترهای تصفیه آب و یا آلودگی لوله‌های مسیر انتقال آن از محل تولید به محل فرآوری محصول بود. علاوه بر آن در ماه‌های مختلف سال آلودگی به کپک و مخمر، میکروارگانیسم‌های سرماگرا و گرمادوست، کلی‌فرم‌ها و حتی *اشریشیا کلی* مشاهده گردید (جدول ٤).

1. Reverse Osmosis

Table 4 Microbial count of formulation water (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E.coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr94	3.56±0.11 bc	0.00±0.00 f	0.00±0.00 g	0.00±0.00 b	0.00±0.00 g	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Aban94	2.41±0.11 f	0.24±0.06 e	0.61±0.12 f	0.00±0.00 b	1.46±0.11 e	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Azar94	3.71±0.09 b	1.06±0.06 c	2.20±0.07 c	0.00±0.00 b	1.04±0.06 f	3.14±0.14 b	0.00±0.00 a
Day94	3.03±0.05 d	1.56±0.10 b	0.85±0.08 ef	0.00±0.00 b	0.00±0.00 g	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Bahman94	3.47±0.13 bc	2.85±0.12 a	0.88±0.04 e	0.00±0.00 b	0.00±0.00 g	8.07±0.11 a	0.00±0.00 a
Esfand 94	3.06±0.04 d	0.58±0.23 d	2.10±0.10 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 g	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Farvardin95	8.00 a±0.00	1.84±0.14 b	3.66±0.10 a	1.10±0.08 a	10.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Ordibehesht95	3.33±0.09 c	0.75±0.13 cd	1.60±0.15 d	0.00±0.00 b	4.23±0.12 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Khordad95	2.63±0.07 ef	0.00±0.00 f	0.00±0.00 g	0.00±0.00 b	2.45±0.24 d	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Tir95	1.76±0.07 g	0.00±0.00 f	2.04±0.04 c	0.00±0.00 b	1.65±0.17 e	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Mordad 95	3.63±0.10 b	2.73±0.11 a	2.57±0.12 b	0.00±0.00 b	10.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a
Shahrivar95	2.86±0.08 de	2.85±0.05 a	1.05±0.05 e	1.15±0.11 a	3.52±0.08 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

۳-۵- بررسی بار آلودگی ماست دوغ

دوغ ایرانی از ترکیب آب و ماست به نسبت‌های متفاوت تولید می‌گردد. به همین دلیل چگونگی ترکیب ماست از نظر چربی، پروتئین و ماده خشک کل در فراورده نهایی مؤثر می‌باشد[۳۲]. ماست نباید دارای هیچ گونه آلودگی، مواد خارجی و تغییر رنگ قابل رؤیت باشد؛ همچنین ماست باید عاری از عوامل بیماری‌زا باشد[۳۳].

با توجه به آن‌که در تهیه ماست نیاز به حرارت‌دهی اولیه شیر در حدود ۸۵ تا ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه می‌باشد، در صورت وجود آلودگی میکروبی در شیر پاستوریزه، در این مرحله نیز بار آلودگی به میزان زیادی کاهش خواهد یافت؛ لذا همان طور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود بجز در شهریور ماه ۹۵، شمارش کپک و مخمر در ماست دوغ کمتر از یک سیکل لگاریتمی و یا صفر بود. هرچند ماست دوغ در ماه‌های آبان و آذر ۹۴ و فروردین ۹۵ به کلی‌فرم‌ها آلوده بود، باکتری *اشریشیا کلی* در هیچکدام از نمونه‌های ماست دوغ مشاهده نگردید. بیشترین میزان میکروارگانیسم‌های سرماگرا در آذر ۹۴ و بیشترین میزان گرمادوست‌ها در آذر و بهمن ۹۴ شمارش شد. همچنین با توجه به استفاده از آغازگر در تهیه ماست دوغ میزان باکتری‌های اسید لاکتیک در اغلب ماه‌های مورد بررسی بیش از ۷ سیکل لگاریتمی بدست آمد؛ این درحالی است که در شهریور ۹۵ تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک ۳/۱۲ log cfu/ml محاسبه گردید که احتمالاً به دلیل عدم فعال شدن باکتری‌های به‌کار رفته در فرایند تولید است.

Table 5 Microbial count of yoghurt (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E.coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr94	5.33±0.25 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	7.17±0.10 cd
Aban94	0.00±0.00 e	0.00±0.00 c	1.63±0.07 b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	7.13±0.12 d
Azar94	2.31±0.14 c	0.00±0.00 c	10.00±0.00 a	0.00±0.00 a	10.00±0.00 a	10.00±0.00 a	7.12±0.12 d
Day94	0.00±0.00 e	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	7.09±0.01 d
Bahman94	0.00±0.00 e	0.55±0.11 b	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	10.00±0.00 a	7.41±0.20 cd
Esfand 94	4.73±0.19 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	7.19±0.15 cd
Farvardin95	1.49±0.20 d	0.00±0.00 c	0.81±0.08 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	1.14±0.08 b	5.53±0.24 e
Ordibehesht95	0.00±0.00 e	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	8.14±0.14a
Khordad95	2.52±0.30 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	7.61±0.24 bc
Tir95	0.00±0.00 e	0.43±0.04 b	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.26±0.05c	7.88±0.05 ab
Mordad 95	5.40±0.29 a	0.52±0.09 b	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d	5.73±0.20 e
Shahrivar95	0.00±0.00 e	2.05±0.05 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	1.05±0.05b	0.00±0.00 d	3.12±0.06 f

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

۳-۶- بررسی بار آلودگی دوغ پاستوریزه شده

در فرایند تولید دوغ، شیر پاستور شده بعد از افزودن آغازگر تحت اثر فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک قرار گرفته و در مدت زمان گرمخانه‌گذاری به اسیدیته مطلوب رسیده و شبکه ژلی تشکیل می‌گردد. سپس توسط آب تصفیه شده رقیق شده و طعم‌دار می‌گردد و در نهایت جهت افزایش ماندگاری و جلوگیری از

افزایش اسیدیته حاصل از فعالیت کشت آغازگر افزوده شده، محصول تحت تأثیر فرایند پاستور قرار گرفته و تا انتقال به واحد بسته‌بندی، در مخازن استریل نگهداری می‌شود؛ لذا در صورت اعمال فرایند پاستوریزاسیون مناسب و عدم آلودگی ثانویه، انتظار می‌رود دوغ پاستوریزه شده فاقد بسیاری از میکروارگانیسم‌های مولد فساد و آلودگی باشد.

همان‌طور که در جدول ٦ مشاهده می‌شود دوغ پاستوریزه شده در مهرماه ۹٤ و شهریور ۹۵ فاقد هرگونه آلودگی بوده و در مجموع درکلیه ماه‌ها آلودگی به کپک و مخمر و *اشریشیا کلی* در نمونه-های دوغ مشاهده نگردید. این در حالی است که در آذر ۹٤ آلودگی به بسیاری از میکروارگانیسم‌های مورد بررسی مشاهده گردید؛ به ویژه میزان آلودگی دوغ پاستوریزه شده به کلی‌فرم‌ها و میکروارگانیسم‌های سرماگرا بسیار بالا بود که دلیل این امر را می-توان به عدم کفایت فرایند پاستوریزاسیون نسبت داد.

Table 6 Microbial count of pasteurized Doogh (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E.coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr94	0.00±0.00 e	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c
Aban94	2.05±0.05 a	0.00±0.00 a	1.59±0.22 b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c
Azar94	1.11±0.12 c	0.00±0.00 a	10.00±0.00 a	0.00±0.00 a	10.00±0.00 a	1.43±0.09 a	1.43±0.09 b
Day94	0.00±0.00 e	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.43±0.06 c
Bahman94	0.00±0.00 e	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	1.22±0.10 b	0.00±0.00 c
Esfand 94	2.33±0.19 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	2.21±0.08 a
Farvardin95	1.63±0.09 b	0.00±0.00 a	0.62±0.13 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	1.59±0.26 b
Ordibehesht95	1.52±0.21 b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.42±0.07 b	0.00±0.00 c	0.45±0.06 c
Khordad95	0.00±0.00 e	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c
Tir95	0.19±0.09 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c
Mordad 95	0.00±0.00 e	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	2.21±0.30 a
Shahrivar95	0.00±0.00 e	0.00±0.00 a	0.00±0.00 d	0.00±0.00 a	1.05±0.05 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 d

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

۳-۷- بررسی بار آلودگی دستگاه پرکن

ارزیابی بهداشتی تجهیزات لبنی یک عملیات روزمره است که باید به منظور تأیید عملیات تمیز کردن انجام شود. بهداشت کارخانه بستگی به کارایی سیستم تمیز کردن (حذف باقیمانده‌های مولد فساد از سطوح) و تخریب مؤثر همه یا اغلب میکروارگانیسم‌های باقیمانده دارد [۷].

با توجه به اهمیت پرکن در آلودگی یا عدم آلودگی محصول نهایی، تست سوآپ پرکن دوغ و نیز تست هوای اتاقک پرکن در طی ماه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تست سوآپ نشان داد که بجز در اسفند ۹٤ و فروردین و مرداد ۹۵، در سایر ماه‌ها هیچگونه آلودگی میکروبی مشاهده نگردید؛ این در حالی است که بیشترین آلودگی متعلق به نمونه ارزیابی شده در اسفند ۹٤ بدست آمد؛ به‌طوری که نازل پرکن آلودگی به *اشریشیا کلی* نیز داشت که دلیل آن عدم رعایت مسائل بهداشتی از جمله عدم شستشوی مناسب دستگاه است (جدول ۷).

Table 7 Microbial count of Filler swab (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E.coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr94	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Aban94	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Azar94	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Day94	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Bahman94	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Esfand 94	6.00±0.00 a	2.5±0.03 a	2.48±0.09 a	1.40±0.02 a	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Farvardin95	1.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.55±0.05 b	0.00±0.00 b	2.30±0.05 a	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Ordibehesht95	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Khordad95	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Tir95	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Mordad 95	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	1.50±0.04 b	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a
Shahrivar95	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 a	0.00±0.00 a

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

مسلماً این آلودگی‌های میکروبی در هنگام پرکردن دوغ پاستوریزه شده می‌تواند به محصول نهایی منتقل شده و سبب آلودگی ثانویه آن گردد. در خصوص هوای اتاقک پرکن، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در همه ماه‌های سال آلودگی میکروبی در هوای اتاقک پرکن وجود داشته که میزان شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و کپک و مخمر در مهرماه ۹۴ بیش از سایر ماه-ها بدست آمد. در سایر ماه‌ها این میزان در حدود یک سیکل لگاریتمی یا کمتر از آن بود (شکل ۱).

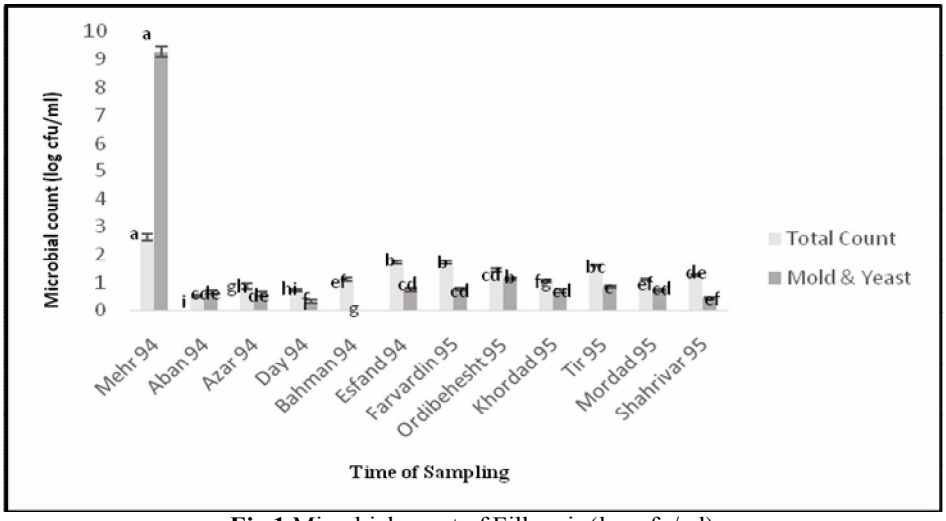

Fig 1 Microbial count of Filler air (log cfu/ml)

عملیات پرکردن و انتخاب ماده بسته‌بندی از مراحل بحرانی هستند که در مورد اکثر مواد غذایی اهمیت زیادی در افزایش عمر ماندگاری محصول دارند. در خصوص فراورده‌های با عمر ماندگاری کوتاه مانند دوغ، این قسمت از فرایند به دلیل حساس بودن ماهیت فراورده، بسیار بحرانی است[۲۵]. عملیات پرکردن و بسته‌بندی در واقع آخرین مرحله‌ای است که در آن، تولیدکننده در تماس مستقیم با محصول است. انتخاب غیرصحیح مکانیسم پرکردن، عملیات ضعیف بهداشتی و عدم قابلیت ماده بسته‌بندی در حفظ محصول می‌تواند باعث افت زود هنگام عمر ماندگاری محصول و نارضایتی مصرف‌کننده شود [۲۵]. ورود آلاینده‌ها نیز در هوای بخش بسته‌بندی می‌تواند با پر کردن و ایجاد یک پرده از هوای استریل در خط پرکنی به حداقل برسد. هدف اولیه از بسته‌بندی محصولات لبنی اطمینان از آن است که فراورده نهایی تحت شرایط ایمن، سالم و مناسب به دست مصرف‌کننده برسد[۳٤].

مهم‌ترین جنبه عملیات پرکردن مسأله بهداشت آن است. دستگاه پرکن باید قابلیت شستشو و استریلیزه‌شدن کامل را دارا باشد. هر گونه کوتاهی در این مورد، در بهترین حالت، بدون شک منجر به کاهش عمر ماندگاری محصول و در بدترین حالت، فساد ماده غذایی می‌شود. اکثر پرکن‌های مدرن و کامل، قابلیت شسته شدن کامل در محل[1] را دارند. اما خیلی از مدل‌های قدیمی‌تر (پرکن‌هایی با مقیاس کوچک)، لازم است تا از هم باز و به صورت دستی تمیز شوند[۲۵].

۳-۸- بررسی بار آلودگی هوای سالن‌های مختلف فرآوری محصول

بهداشت محیط فرآوری محصولات غذایی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در سلامت محصول نهایی تولیدی است. هوای آلوده سالن‌های مختلف تولید و نگهداری در صورتی که مجهز به فیلترهای تصفیه هوا نبوده یا از هوای با فشار مثبت استفاده ننمایند، می‌تواند عامل انتقال آلودگی‌های میکروبی مختلف نظیر کپک و مخمر در طی مراحل فرآوری به محصول در حال تولید یا فراورده نهایی باشد؛ لذا به منظور بررسی شرایط بهداشتی سالن-های تولید دوغ، هوای سالن نگهداری دوغ پاستوریزه، سالن بسته‌بندی و انبار نهایی محصول، به منظور بررسی شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر در هر ماه نمونه-برداری گردید که نتایج آن در اشکال ۲ تا ٤ قابل مشاهده است.

1. Clean-In-Place (CIP)

در کلیه ماه‌های مورد ارزیابی، سالن نگهداری دوغ پاستوریزه شده دارای آلودگی میکروبی بود. بیشترین شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در مهر ۹۴ (در حدود ۳ سیکل لگاریتمی) و بیشترین شمارش کپک و مخمر در اردیبهشت ۹۵ (در حدود یک سیکل لگاریتمی) بدست آمد (شکل ۲).

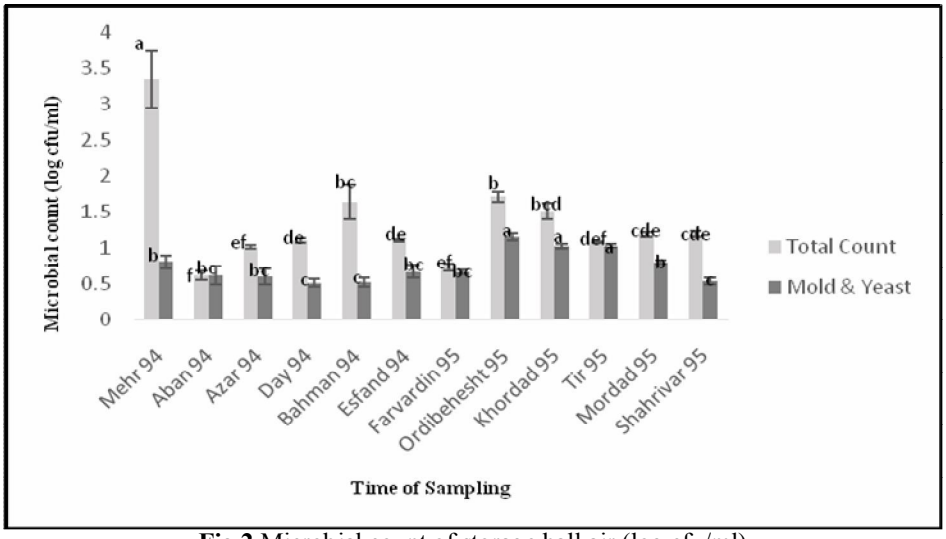

Fig 2 Microbial count of storage hall air (log cfu/ml)

در شکل ۳ نتایج شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و شمارش کپک و مخمر حاصل از تست هوای سالن بسته‌بندی دوغ نهایی قابل مشاهده است. نتایج حاکی از آن است که بیشترین شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها و نیز بیشترین شمارش کپک و مخمر متعلق به مهرماه ۹۴ بوده است که مقادیر بدست آمده به ترتیب log ۲/۱۸cfu/ml و ۱/۴۲ می‌باشد. همچنین نتایج نشان داد که هوای انبار نگهداری محصول نهایی در همه ماه‌های مورد بررسی دارای آلودگی بوده؛ به‌طوری که بیشترین شمارش کلی میکروارگانیسم-ها متعلق به مهر ۹۴ و بیشترین میزان کپک و مخمر مربوط آبان ۹۴ بود که البته به لحاظ آماری با مهر ۹۴ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل٤).

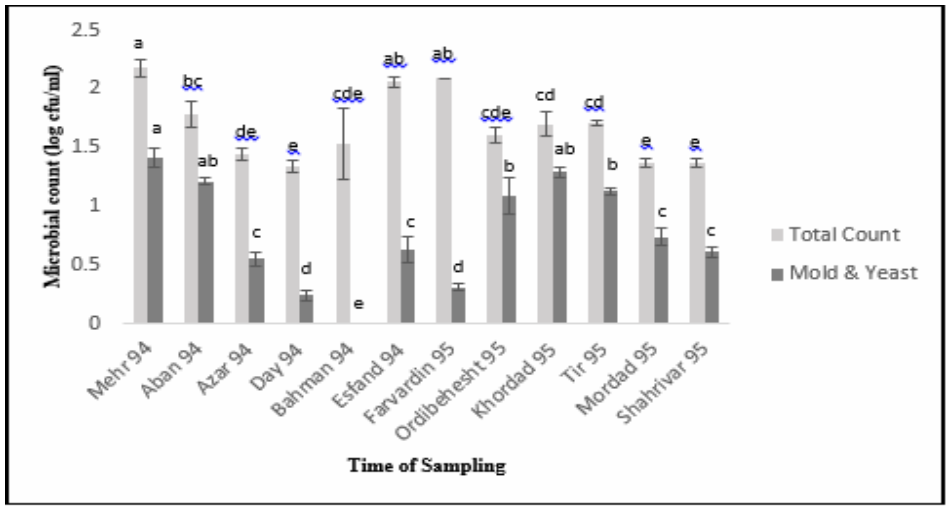

Fig 3 Microbial count of packaging hall air (log cfu/ml)

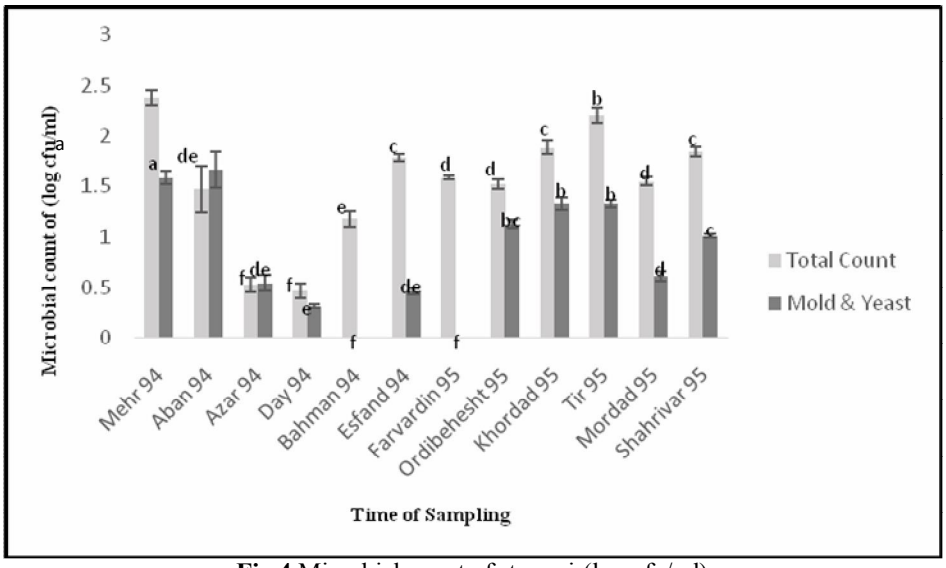

Fig 4 Microbial count of store air(log cfu/ml)

میکروارگانیسم‌های آلوده‌کننده هوا ممکن است همراه با ذرات جامد نظیر گرد و غبار باشند یا به صورت ارگانیسم‌های منفرد به‌واسطه تبخیر قطرات آب یا رشد گونه‌های خاص کپک در هوا وجود داشته باشند. منابع عمده آلودگی‌های ناشی از آلودگی هوا شامل فعالیت پرسنل کارخانه، سیستم‌های تهویه هوا، جریان هوا از بیرون ساختمان و مواد بسته‌بندی می‌باشد[۳۵، ۳۶]. در تحقیقی مشخص گردید که پرسنل کارخانه، تجهیزات لبنی، مواد ساختمانی و سیستم‌های تهویه به ترتیب مسئول ۶۰-۵۰ درصد، ۳۵-۲۵ درصد، ۲۰-۱۰ درصد، ۵-۱ درصد از آلودگی هوا می‌باشند [۷]. افزایش در میزان آئروسل‌ها طی شستشو؛ همچنین پس از آبکشی کف سالن تولید و نیز قابلیت انتشار میکروارگانیسم‌ها از سطوح شسته شده و مرطوب در نتیجه فعالیت‌های فیزیکی، توسط چندین محقق گزارش شده است؛ بنابراین در صورت امکان، در طی فرآوری محصولات لبنی در نواحی نزدیک محصول، نباید از روش تمیزسازی مرطوب استفاده شود چرا که سبب آلودگی هوای محیط توسط آئروسل‌ها می‌گردد [۳۷ ، ۳۸].کنترل آلودگی‌های هوای داخل سالن تولید نیز از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. مؤثرترین روش در کنترل آلودگی‌های هوای داخل سالن تولید، حذف همه منابع آلودگی از نواحی است که محصول ممکن است در معرض هوا قرار گیرد. تهویه نیز مسأله‌ای مهم است، خصوصاً در نواحی‌ای که گرمای اضافی تولیده شده در طی فرایند، باید حذف شود. هواکش‌ها باید به طور سفارشی و با توجه به انواع مختلف ساختمان‌ها ساخته شوند و باید قابلیت انعطاف برای کاربرد با توجه به هر تغییر بعدی در تولید را داشته باشد. تصفیه هوای ورودی خصوصاً اگر کارخانه در یک منطقه شدیداً صنعتی واقع شده باشد، غالباً ضروری است[۲۷ ، ۲۸، ۲۹].

استفاده از فیلترهای دقیق با کارایی بالا[1] (HEPA) ۹۹/۹۹ درصد از ذرات آلوده کننده با اندازه بزرگتر از ۰/۳ میکرومتر را حذف می‌کند[۷]. امروزه فیلترهای جدید HEPA (ULPA) می‌توانند ۹۹/۹۹۹درصد از ذرات با اندازه ۰/۱۲ میکرومتری را حذف کنند. سیستم‌های فیلتر هوا با کارایی بالا قادر می‌سازد که بتوان هوای بیشتری از حالت معمول وارد سالن‌های تولید کرد و بنابراین سبب ایجاد فشار مثبت هوا می‌شود. با باز شدن درب سالن تولید، هوای فیلتر شده به خارج از سالن جریان می‌یابد و بنابراین راه ورود هوای فیلتر نشده را مسدود کرده و سبب کاهش آلودگی میکروبی می‌شود [۷ ، ۸].

۳-۹- بررسی بار آلودگی دوغ نهایی

نتایج نمونه‌گیری از محصول نهایی در طی یک‌سال حاکی از آن است که نمونه دوغ ماه مهر، دی و بهمن ۹٤ و نیز تیر ۹۵ فاقد آلودگی میکروبی بود، اما در سایر ماه‌ها آلودگی به میکروارگانیسم‌های مختلف کمابیش مشاهده گردید. درخصوص شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، بیشترین میزان آلودگی در آذر و اسفند ۹٤ و اردیبهشت ۹۵ بدست آمد که کمتر از ۲ سیکل

1. High Efficiency Particulate Air

لگاریتمی بود. درخصوص کپک و مخمر، حداکثر مقدار مجاز بر اساس استاندارد ملی ایران در مورد دوغ، cfu/ml ۱۰۰ است؛ همان‌طور که در جدل ۱۲ مشاهده می‌شود آلودگی به کپک و مخمر در هیچ‌یک از نمونه‌ها دوغ مشاهده نشد؛ همچنین بر اساس استاندارد ویژگی‌های میکروبی دوغ در ایران، حداکثر مقدار کلی‌فرم cfu/ml ۱۰ است که نتایج نشان داد تنها در نمونه مربوط به آذرماه ۹۴، میزان کلی‌فرم‌ها از حد مجاز استاندارد بیشتر بوده است. در هیچ‌یک از نمونه‌ها آلودگی به *اشریشیا کلی* مشاهده نگردید که بدین لحاظ نمونه‌های دوغ، با استاندارد ملی ایران مطابقت داشت [۳۸].

Table 12 Microbial count of final Doogh (log cfu/ml)*

Time of Sampling	Total Count	Mold& Yeast	Coliform	*E.coli*	Psychrotropilic Bacteria	Termophilic Bacteria	Lactic Acid Bacteria
Mehr94	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [d]
Aban94	0.81±0.08 [b]	0.00±0.00 [a]	0.74±0.15 [b]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [d]
Azar94	1.48±0.01 [a]	0.00±0.00 [a]	3.13±0.07 [a]	0.00±0.00 [a]	10.00±0.00 [a]	2.75±0.23 [a]	0.00±0.00 [d]
Day94	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [d]
Bahman94	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [d]
Esfand 94	1.71±0.16 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [d]
Farvardin95	0.45±0.10 [c]	0.00±0.00 [a]	0.64±0.12 [b]	0.00±0.00 [a]	0.50±0.09 [b]	0.10±0.06 [b]	1.62±0.20 [b]
Ordibehesht95	1.60±0.14 [a]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.47±0.07 [b]	0.00±0.00 [c]	0.60±0.22 [c]
Khordad95	0.44±0.07 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [d]
Tir95	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [d]
Mordad 95	0.00±0.00 [d]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	10.00±0.00[a]	0.00±0.00 [c]	0.52±0.07 [c]
Shahrivar.95	0.47±0.07 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [a]	0.00±0.00 [c]	0.00±0.00 [c]	3.06±0.10 [a]

*Mean ± standard deviation

Different letter in each column for each parameter indicate a significant difference ($p<0.05$)

بیشترین میزان آلودگی به میکروارگانیسم‌های گرمادوست نیز به نمونه آذر ۹۴ تعلق داشت. میزان سرماگراها در دو ماه آذر ۹۴ و مرداد ۹۵ به شدت زیاد بود و ۱۰ سیکل لگاریتمی بدست آمد. همچنین در نمونه‌های دوغ فروردین، اردیبهشت، مرداد و شهریور ۹۵ آلودگی به باکتری‌های خانواده اسید لاکتیک مشاهده گردید.

همچنین لازم به ذکر است که با توجه به آن‌که بر اساس استاندارد ملی ایران یکی دیگر از میکروارگانیسم‌های مورد بررسی، *استافیکوکوکوس*‌های کوآگولاز مثبت می‌باشد؛ در خصوص نمونه شیر خام، شیر پاستوریزه، ماست دوغ، دوغ پس از پاستوریزاسیون و دوغ نهایی، جستجو و شمارش این ارگانیسم‌ها نیز انجام شد که نتایج نشان‌دهنده عدم آلودگی به *استافیلوکوکوس*‌های کوآگولاز مثبت در همه نمونه‌های یاد شده در کلیه فصول سال بود؛ لذا در جداول مربوطه به نتایج، این میکروارگانیسم عنوان نگردید.

Hatamikia و همکاران (۲۰۱۶) ۲۰۰ نمونه دوغ که شامل ۱۵۰ نمونه تجاری از ۵ برند مختلف تولید کننده دوغ در ایران و ۵۰ نمونه دست‌ساز به طور تصادفی از سوپرمارکت‌ها خریداری و میزان آلودگی به کلی‌فرم‌ها، *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و کپک و مخمر را بر طبق استانداردهای ملی ایران اندازه‌گیری نمودند. حضور *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در همه نمونه‌ها منفی بود. شمارش کلی‌فرم همه نمونه‌ها کمتر از حدمجاز استاندارد ایران بدست آمد. ۵۶ نمونه (۲۸ درصد نمونه‌ها) به لحاظ میزان شمارش کپک و مخمر بیش از حد استاندارد ایران (حد مجاز مساوی یا کمتر از cfu/ml ۱۰۰ است) بدست آمد که در این میان، ۹۳ درصد نمونه‌های دست‌ساخته و ۷ درصد نمونه‌های تجاری را شامل می‌شد[۳۹].

Gulmez و Guven (۲۰۰۳) زنده‌مانی*اشریشیاکلی*، *لیستریامونوسیتوژنز* و *یرسینیاانتروکولیتیکا* را در آیران[1] (دوغ ترکیه) در طول نگهداری در یخچال مورد آزمایش قرار دادند. نتایج نشان داد *اشریشیاکلی* و *لیستریامونوسیتوژنز* بیش ۲۱ روز در همه نمونه‌ها زنده ماندند ولی *یرسینیاانتروکولیتیکا* فقط تا روز دهم در آیران زنده ماند[۴۰].

Gulmez و همکاران (۲۰۰۳) کیفیت میکروبیولوژی و شیمیایی نمونه‌های آیران تولید شده به دو روش دستی و صنعتی در دو شهر کارز و آنکارا در ترکیه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج به منظور ارزیابی میکروبی تعداد کلی‌فرم‌ها، کپک‌ها و مخمرها مورد بررسی قرار گرفت. هر چند نتایج نشان دهنده وجود تعداد زیادی کلی‌فرم، کپک و مخمر (بیش از حد استاندارد) در میان اکثر

1. Ayran

نمونه‌ها بود، آیران‌های بطری شده از کیفیت بالاتری در مقایسه با آیران دست‌ساز برخوردار بودند. همچنین نمونه‌های آیران آنکارا کیفیت بهتری از نمونه‌های آیران کارز داشتند[٤١].

مهربان و همکاران (١٣٩٠) در تحقیقی با هدف تعیین منابع آلودگی میکروبی در طول تولید دوغ در سهکارخانه فرآورده‌های لبنی واقع در شهر مشهد، از ١٦ نقطه کنترلی مختلف از ابتدا تا انتهای خط تولید نمونه‌برداری کردند.نتایج نشان داد کیفیت بهداشتی دوغ به کیفیت شیرخام، کفایت تیمار حرارتی،کیفیت میکروبی اجزای افزوده شده و مواد بسته‌بندی، سطوح در تماس با دوغ و کفایت ضدعفونی کارخانه بستگی دارد.آغازگر به عنوان منبع آلودگی احتمالی به باکتری‌های سرماگرا، کلی‌فرم‌ها و مخمرها، آب آشامیدنی و شستشو به عنوانمنبع آلودگی کلی‌فرم‌ها و مخمرها، نازل‌ها و مواد بسته‌بندی به عنوان منبع آلودگی کلی-فرم‌ها، مخمرها و شمارش کلی میکروارگانیسم‌های هوازی مزوفیل، و هوای سالن تولید به عنوان منبع آلودگی باکتری‌های سرماگرا، کلی‌فرم‌ها و مخمرهاتعیین شدند[٤٢].

٣-١٠- ارائه راهکارهای عملی جهت کاهش یا جلوگیری از آلودگی میکروبی دوغ

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمون‌های میکروبی انجام شده طی یکسال در نقاط بحرانی خط تولید دوغ پاستوریزه، راهکارهای ذیل جهت بهبود شرایط تولید محصول به لحاظ ممانعت از آلودگی‌های میکروبی (اولیه و ثانویه) به شرح ذیل پیشنهاد می‌گردد:

٣-١٠-١-مسلما کیفیت یک محصول به کیفیت مواد اولیه مورد استفاده در تهیه آن بسیار وابسته است. هرچه بار میکروبی اولیه شیر مورد استفاده درتهیه دوغ کمتر باشد، در فرایندهایی نظیر استفاده از جدا کننده[1] و نیز فرایند حرارتی پاستوریزاسیون امکان کاهش و یا حذف بسیاری از میکروارگانیسم‌ها بیشتر خواهد بود. با توجه به آن که در برخی از ماه‌های سال، شیر ورودی جهت تهیه دوغ از کیفیت میکروبی نامناسبی برخوردار بوده است، به نظر می‌رسد کنترل شیر ورودی به کارخانه ضروری است. استفاده از شیر دامداری‌های صنعتی و پیشرفته که مجهز به سیستم های دوشش بهداشتی و نیز سیستم‌های سردکننده در محل دامداری بوده و دارای مخازن مخصوص در هنگام حمل شیر به کارخانه می‌باشند؛ به‌طوری که سرمای آن را تا لحظه تحویل شیر به کارخانه حفظ کنند؛ در این خصوص بسیار حائز اهمیت است.

٣-١٠-٢-مهم‌ترین هدف فرایند پاستوریزاسیون شیر، نابودی کلیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و متعاقباً افزایش قابلیت نگهداری آن است؛ وجود *اشریشیا کلی* در نمونه شیر بعد از فرایند پاستوریزاسیون در برخی از ماه‌های سال نشانه عدم کفایت فرایند حرارتی است که می‌تواند به دلیل وجود اشکال در دستگاه پاستوریزاتور با مبدل صفحه‌ای، از نوع نیمه مداوم می‌باشد، استفاده از دما و زمان نامناسب این فرایند (بسته به میزان بار آلودگی اولیه شیر خام)، و یا عدم فرایند CIP مناسب باشد؛ لذا بررسی دوره‌ای عملکرد دستگاه پاستوریزاتور، تنظیم دما و زمان فرایند بر اساس بار آلودگی اولیه شیر خام و نیز کنترل فرایند CIPبا نمونه‌برداری دقیق از سطوح دستگاه به عنوان راهکارهایی عملی در این بخش توصیه می‌شود.

٣-١٠-٣-همان‌طور که نتایج بررسی‌های انجام شده بر کشت آغازگر مورد استفاده در تهیه دوغ پاستوریزه نشان داد، کشت آغازگر فاقد آلودگی به میکروارگانیسم دیگری بود. با این وجود تعداد میکروارگانیسم‌های آغازگر در برخی از ماه‌های سال بسیار کم بدست آمد؛ این درحالی است که درصورتی که فعالیت این میکروارگانیسم‌ها مناسب باشد، تعداد آن‌ها در طی فرایند گرمخانه‌گذاری شیر به منظور تولید ماست دوغ افزایش یافته و با تولید اسید، سبب کاهش pH گردیده و محیط را برای میکروارگانیسم‌های نامطلوب، نامساعد خواهند نمود؛ لذا استفاده از کشت آغازگر فعال با تعداد مناسب یکی از روش‌های کنترل بار آلودگی در محصول خواهد بود.

٣-١٠-٤-هرچند در تهیه دوغ مورد ارزیابی در طی یک سال از آب ROاستفاده گردید نتایج ارزیابی بار آلودگی میکروبی آب مورد استفاده در فرمولاسیون دوغ حاکی از آلودگی آن به میکروارگانیسم‌های مختلف (کپک و مخمر، میکروارگانیسم‌های سرماگرا و گرمادوست، کلی‌فرم‌ها و حتی *اشریشیا کلی*) بود. آلودگی بالای آب فرمولاسیون احتمالاً به دلیل عملکرد نادرست فیلترهای تصفیه آب و یا آلودگی لوله‌های مسیر انتقال آن از محل تولید به محل فرآوری محصول است. کنترل و یا تعویض دوره‌ای فیلترهای تصفیه آب و نیز کنترل مسیر انتقال آب ROاز محل

1. Separator

انتقال تا تانک‌های تولید ماست دوغ و CIPمناسب لوله‌های مسیر انتقال، به منظور جلوگیری از آلودگی آن، در تولید دوغی با کیفیت بهداشتی مناسب بسیار حائز اهمیت است.

۳-۱۰-۵- پس از پاستوریزاسیون دوغ، محصول به منظور پرشدن در بسته‌بندی‌های مختلف، از طریق لوله‌هایی به دستگاه پرکن هدایت می‌شود. در هنگام پرکردن، دوغ مجدداً به مدت کوتاهی در معرض هوای اطراف مخزن پرکن قرار خواهد گرفت و درصورتی که اتاقک پرکن و یا اطراف آن به لحاظ میکروبی از شرایط مناسب برخوردار نباشد و نیز درصورتی که عملیات CIPدستگاه پرکن به خوبی صورت نگرفته باشد، امکان انتقال آلودگی ثانویه به محصول پاستوریزه شده وجود خواهد داشت. علاوه بر آن بطری و نیز درپوش آن در صورتی که دارای بار میکروبی باشند، می توانند سبب انتقال آلودگی به دوغ گردند. با توجه به اهمیت مرحله پرکردن و بسته‌بندی، تمیز نگاه داشتن سطوح و هوای اتاقک پرکن با استفاده از شستشوی منظم و اصولی و نیز استفاده از لامپ UV با کارایی مناسب در اتاقک و نیز کنترل روزانه سطوح و هوای اتاقک پرکن با استفاده از تست-های میکروبی شمارش کلی و کپک و مخمر به عنوان راهکارهایی عملی جهت جلوگیری از آلودگی ثانویه دوغ پاستوریزه در این مرحله ارائه می‌شود. همچنین دقت در نوع درب‌بندی به طوری که منفذی برای ورود میکروارگانیسم‌ها به ویژه کپک و مخمر و حتی اکسیژن از فضای محیط بسته بندی و انبار وجود نداشته باشد از توصیه‌های اکید جهت جلوگیری از آلودگی ثانویه و کنترل فعالیت میکروارگانیسم ها در محصول می‌باشد.

۳-۱۰-۶-عدم رعایت موارد بهداشتی از سوی کارکنان به ویژه کارکنان بخش‌هایی که با محصول نهایی (پس از فرایند پاستوریزاسیون) سر و کار دارند، امکان آلودگی ثانویه محصول به میکروارگانیسم‌هارا فراهم می سازد؛ لذا انجام آزمایش‌های دوره-ای کارکنان به منظور اطمینان از وضعیت سلامتی ایشان، آموزش کارکنان در خصوص نحوه رعایت مسائل بهداشتی حین انجام کار (نظیر استفاده از روپوش های یکبار مصرف، کلاه، دستکش و ماسک) و نیز انجام تست‌های مداوم سوآپ از دستان کارکنان به ویژه در بخش بسته‌بندی محصول نهایی از مهم‌ترین راهکارها جهت جلوگیری از آلودگی دوغ نهایی خواهد بود.

۳-۱۰-۷- نحوه تردد کارکنان هر بخش در سالن‌های تولید جهت جلوگیری از انتقال آلودگی میکروبی از بخشی به بخش دیگرحائز اهمیت است (استفاده از لباس‌های مشخص برای هر گروه که به آسانی قابل تمایز باشند)؛ لذا تفکیک اصولی بخش‌های مختلف کارخانه از دیگر راهکارها جهت کاهش و یا جلوگیری از آلودگی میکروبی محصول نهایی خواهد بود.

۳-۱۰-۸- با توجه به نتایج حاصل از آزمایشات مختلف، آلودگی به کپک و مخمر، بیشتر ناشی از آلودگی ثانویه محصول در اثر آلوده بودن هوای سالن‌های مختلف تولید و انبار است. مهم‌ترین راهکار به منظور جلوگیری از آلودگی به کپک و مخمر استفاده از فشار هوای مثبت و فیلتر شده در سالن‌های مختلف تولید و نگهداری محصول و نیز مجزا نمودن بخش‌های مختلف تولید، نگهداری و غیره، از یکدیگر است.

۳-۱۰-۹- محیط اطراف کارخانه نیز در نوع میکروارگانیسم‌ها و سطح آلودگی محصول نهایی دخیل می باشد لذا نحوه مدیریت دفع فاضلاب و پساب کارخانه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

۳-۱۰-۱۰ - فرآوری یک محصول از ابتدا تا انتها به صورت زنجیری به یکدیگر مرتبط بوده و در صورتی که در هر بخش موارد بهداشتی به درستی رعایت نگردد، بر مراحل دیگر و در مجموع بر روی محصول نهایی اثرگذار خواهد بود و سبب کاهش کیفیت محصول نهایی می‌گردد؛ لذا توجه به جزء جزء مراحل تولید و نمونه‌برداری دوره‌ای از نقاط پرخطر در دستیابی به محصولی با کیفیت مناسب و ماندگاری بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

٤- نتیجه گیری

با توجه به روند رو به افزایش تولید دوغ در کشور و مشکلاتی که کارخانجات تولید فراورده‌های لبنی در تولید دوغ با آن مواجه‌اند؛ از جمله تغییر طعم، آروما و باد کردگی محصول در طول زمان نگهداری، که علاوه بر نارضایتی مشتری، سالانه زیان مالی زیادی به واحدهای تولید کننده فراورده‌های لبنی وارد می‌کند، توجه به کیفیت دوغ پاستوریزه از طریق شناسایی نقاط بحرانی خط تولید دوغ و پس از آن ارائه روش‌های مناسب جهت کنترل عوامل میکروبی مولد فساد امری ضروری برای واحدهای

تولیدی لبنی می‌باشد. تحقیق حاضر با هدف شناسایی نقاط بحرانی خط تولید دوغ به لحاظ آلودگی‌هایمیکروبی،به منظور ارائه راهکارهای پیشگیرانه و کنترلی جهت حذف آلودگی‌های میکروبی در کارخانه تولید دوغ انجام گردید.

نتایج بررسی نقاط بحرانی خط تولید دوغ به لحاظ آلودگی‌های میکروبی نشان داد یکی از مهم‌ترین عوامل در میزان آلودگی میکروبی محصول نهایی، کیفیت مواد اولیه مورد استفاده در تهیه محصول می‌باشد؛ کنترل میزان آلودگی شیر خام ورودی و نیز آب مورد استفاده در فرمولاسیون دوغ می‌تواند در تولید محصولی با کیفیت مناسب سهم بسزایی ایفا نماید. علاوه بر آن کنترل دستگاه‌ها و تجهیزات مورد استفاده در خط تولید به‌ویژه پاستوریزاتور، در کیفیت محصول تولید شده بسیار حائز اهمیت است. در صورت عدم کفایت فرایند حرارتی در طی تولید محصول، شاهد حضور میکروارگانیسم‌ها در محصول نهایی و به تبع آن آلودگی محصول در طی زمان ماندگاری خواهیم بود. آلودگی ثانویه با انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها به‌ویژه مخمرها و کپک‌ها فاکتور بسیار مؤثری در آلودگی دوغ خواهد بود؛ عدم رعایت شرایط بهداشتی مناسب در فضای کلی کارخانه مخصوصاً در سالن بسته‌بندی و فضای دستگاه پرکن و نیز درب بندی نامناسب محصول می‌تواند عامل مهمی در آلودگی دوغ به میکروارگانیسم‌ها و بادکردگی و ایجاد طعم نامطلوب در آن گردد.

۵- منابع

[1] Tamime, A.Y. 2008.Fermented milks. John Wiley & Sons, Newyork.

[2] Alvandi, H., Jamebozorg, T.2008. Status report of the country producing doogh.Tehran: Ministry of industry, Mine and Trade.

[3] Almazeedi, H.M., Gholoum, F.A.,Akbar, B.H. 2013. Microbiological status of raw and pasteurized milk in the sate of Kuwait. Internatinal Journal of Engineering and Science,3(11): 15-19.

[4] Barbano, D.M., Ma, Y., Santos, M.V. 2006. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. Journal of Dairy Science, 89(1):15-19.

[5] Goff, D. 2015. Introduction to Dairy Science-Milk Production and Biosynthesis, Dairy Science and Technology Education eBook Series, Canada.

[6] Fernandes, R. (Ed.). 2009. Microbiology handbook: dairy products. Royal Society of Chemistry, London.

[7] Robinson, R.K. 2002. Dairy Microbiology Handbook. John Wiley and sons, Newyork.

[8] Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 2001. Yoghurt: Science and Technology.2 ed. Cambridge, England, 249-305, 535-587.

[9] Smit, G.2003.Dairy Procesing: Improving Quality. Elsevier.

[10] Jakobsena, M. Narvhu, J. 1996. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products, review article. International Dairy Journal, 6(8-9): 755-768.

[11] Eneroth, Å., Christiansson, A., Brendehaug, J., & Molin, G. (1998). Critical contamination sites in the production line of pasteurised milk, with reference to the psychrotrophic spoilage flora. International Dairy Journal, 8(9), 829-834.

[12] Moreira, S.R., Schwan, R.F., de Carvalho, E.P., Wheals, A.E. 2001. Isolation and identification of yeasts and filamentous fungi from yoghurts in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 32(2): 117-122.

[13] Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I., & Villani, F. 2009. Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. Journal of Food microbiology, 26(2), 228-231.

[14] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran, 1379, Milk and dairy products- Total enumeration of microorganisms colonies at 30° C, Iran National Standard, No. 5484.

[15] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1373, Enumeration of Psychrotrophic microorganisms in the milk and dairy products at 6.5◦C, Iran National Standard, No. 3451.

[16] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1376, The microbial tests of milk and dairy products, Enumeration of thermophilic bacteria, Iran National Standard, No. 4518.

[17] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1386, B, Microbiology of food and animal feed -Comprehensive method for counting coliform bacteria - colony

counting method, Iran National Standard, No. 9263.
[18] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1384, A, Microbiology of food and animal feed - search and counting of Escherichia coli using the most probable number method, Iran National Standard, No. 2946.
[19] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1387, J, Microbiology of food and animal feed - A Comprehensive Method for Counting mold and Yeast - Part 1: Colony Counting Method in Products with water Activity More than 0/95, Iran National Standard, No. 10899-1.
[20] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1377, Enumeration of mesophilic lactic acid bacteria by colony counting at 30 ° C in food, Iran National Standard, No. 4721.
[21] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1384, B, Microbiology of food and animal feed -Enumeration of Staphylococcus positive coagulase (Staphylococcus aureus and other species) - Test method, Part 1: Method of using Bird-Parker agar medium culture, Iran National Standard, No. 6806-1.
[22] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1386, J, Microbiology of food and animal feed - Sampling comprehensive techniques from surfaces using contact plates and swabs, Iran National Standard, No. 4806.
[23] Salustiano, V.C., Andrade, N.J., Brandao, S.C.C., Azeredo, R.M.C.,Lima, S.A.K. 2003.Microbiological air quality of processing areas in a dairy plants as evaluated by the sedimentation technique and a one-stage air samplers. Brazilian Journal of Microbiology, 34(3): 255-259.
[24] mahdipur,M and Alipur, M,M, 1377, Bacterial and fungal contamination of food, Nashr Arkan, Esfahan.
[25] Mortazavi, S,A., Edalatian, M,R., Mohebbi, M., Shafafi Zanonian, M.1384. Predicting the shelf life of food based on mathematical models, Jahan Kade, Mashhad.
[26] Barazandegan, Kh., zand vakili, F,1380, Application of HACCP system in dairy industry, Aftab Andishe, Tehran.
[27] Notermans, S., Gallhoff, G., Zwietering, M.H., Mead, G.C. 1995. Identification of critical control points in the HACCP system with a quantitative effect on the safety of food products. Journal of Food Microbiology, 12(1): 93-98.
[28] Gardner, I.A. 1997. Testing to fulfill HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points) requirements: principles and examples. Journal of Dairy Science, 80(12): 3453–3457.
[29] Cullor, J.S. 1997. HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points): Is It Coming to the Dairy? Journal of Dairy Science, 80(12): 3449–3452.
[30] Moayednia, N., Ehsani, M. R., Emamdjomeh, Z., & Mazaheri, A. F. 2009. Effect of refrigerated storage time on the viability of probiotic bacteria in fermented probiotic milk drinks. International journal of dairy technology, 62(2), 204-208.
[31] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1386, A, Drinking Water: Microbiological Features, Iran National Standard, No. 1011.
[32] Forughinia, S,1385,Investigating the effect of some mechanical and hydrocolloid factors on the stabilization of Iranian doogh, MSc thesis, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran.
[33] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1387, B, Yoghurt: characteristics and test methods, Iran National Standard, No. 695.
[34] Wainess, H. 1995. In Technical Guide for the Packaging of Milk and Milk Products, 3 rd ed, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
[35] Luck, H., Gavron, H. 1990. The Microbiology of Milk Products, Vol. 2, 2 nd ed., In Dairy Microbiology R.K. Robinson, ed., Elsevier Applied Science, London.
[36] Fenlon, D.R., Wilson, J., Donachie, W. 1996. The incidence and level of *Listeria monocytogenes* contamination of food sources at primary production and initial processing. Journal of Applied Bacteriology, 81(6): 641-650.
[37] Kang, Y.J. Frank, J.F. 1990. Characteristics of biological aerosols in dairy processing plants. Journal of Dairy Science, 73(3): 621-626.

[38] Institute of Standard and Industrial Researchs of Iran , 1387, A, Plain Doogh: characteristics and test methods, Iran National Standard, No. 2453.
[39] Hatamikia M., Bahmani, M., Hassanzad Azar, H., Sepahvand, R., Parsaei, P., Aminzare, M. 2016. Microbial contamination of commercial and traditional doogh dairy products in Lorestan province of Iran. Journal of Food Quality and Hazards Control, 3(3): 114-116.
[40] Gulmez, M., Guven, A. 2003. Survival of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* 4b and *Yersinia enterocolitica* O3 in different yogurt and kefir combinations as prefermentation contaminant. Journal of Applied Microbiology, 95(3): 631-636.
[41] Gulmez, M., Guven, A., Sezer, C., Duman, B. 2003. Evaluation of microbiological and chemical quality of Ayran samples marketed in Kars and Ankara cities in Turkey. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 9(1): 49-52.
[42] Mehraban Sang Atash, M,1390, Evaluation of microbial contamination sources, affecting swell Iranian Doogh during the production process, Journal of Food Research, 21 (1): 55-45.

Identification of critical points in pasteurized Doogh production line and applying of appropriate strategies for controlling microbial contamination

Yazdi, M. [1], Sarabi jamab, M. [2*], Pahlevanlo, A. [3]

1. PhD student of Biotechnology Department, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
2. Associated Professor of Biotechnology Department, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran
3. Assistant Professorof Biotechnology Department, Research Institute of Food Science and Technology, Mashhad, Iran

(Received: 2019/04/23 Accepted:2019/08/05)

This study was carried out to determine the sources of microbial contamination in Doogh production line during a year in a dairy factory. Samples were taken from different critical control points from the beginning to the end of the production line including raw milk, pasteurized milk, water, culture, Doogh yoghurt, pasteurized Doogh, packed Doogh, filler and filling air duct, storage hall for pasteurized Doogh, and filling and storage rooms. The microbial analysis of the samples was performed to determine the total count of microorganisms, mold and yeast, coliforms, *E. coli*, Psychrophilic and thermophilic microorganisms, lactic acid bacteria and coagulase positive staphylococci in accordance with national standards of Iran. The results showed that Doogh health quality depends on the quality of raw milk, the adequacy of heat treatment, microbial quality of the ingredients and packaging materials, Doing suitable CIPand disinfectantion of processing surfaces and factory environment. The results indicate that the assessment of critical control points and the organization of automatic control systems are necessary in order to eliminate or minimize the risk of microbial contaminats.

Key Words: Critical control points, Microbial contamination sources, Pasteurized Doogh.

* Corresponding Author E-Mail Address: m.sarabi@rifst.ac.ir