



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

## حجم لجن لبني

سمیرا مرادی<sup>۱</sup>، فاطمه زراعت پیشه<sup>۲</sup>، حسین زنگانه<sup>۳</sup>، مهدی قجری شموشکی<sup>۳</sup>، علیرضا وسیعی<sup>۳</sup>، فریده طباطبائی یزدی<sup>۲</sup>  
سید علی مرتضوی<sup>۲</sup>

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.

## چکیده

## اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۵

كلمات کلیدی:

شیر،

بار میکروبی،

سپراتور،

باکتوفیوژ،

لجن لبني.

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 مصرف کننده را به خطر می اندازد. دوم اینکه اگر کیفیت میکروبی شیر مناسب نباشد فراورده های مشتق شده از شیر، از نظر تکنولوژیکی کیفیت مناسبی نخواهد داشت. در این پژوهه که با همکاری شرکت پگاه گلستان انجام پذیرفته است، با هدف کاهش حرارت دهنی شیر (به منظور عدم افت ارزش تغذیه ای در نتیجه حرارت) از فرایند جداسازی (با سپراتور) و باکتوفوگاسیون دوگانه به منظور کاهش بار میکروبی استفاده شد. نمونه های شیر مورد استفاده برای تولید پنیر لاكتیکی در استان گلستان در دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انجام فرایند، شمارش کلی میکروبی، شمارش اسپورهای هوایی و بی هوایی انجام شد. نتایج نشان داد که با استفاده از این روش، بار میکروبی کل، اسپورهای هوایی و بی هوایی شیرهای جمع آوری شده در تمام طول سال، تا حد قابل قبول و بدون کاهش کیفیت میکروبی پنیر تولیدی در طول دوره نگهداری کاهش یافته است. از طرف دیگر فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون باعث تولید لجن لبني می شود. در حالت معمول هر ۲۰ دقیقه یک بار، خروج لجن لبني انجام می شود، که در این فرایند در سپراتور و باکتوفوگاسیون ۱، به ۲۱ دقیقه یکبار، به منظور کاهش لجن لبني انجام شد.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8

\*مسئول مکاتبات:

tabatabai@um.ac.ir

روش‌های مختلفی تولید می‌شود. یکی از این روش‌ها تولید پنیر به روش لاكتیکی می‌باشد. پنیر لاكتیکی از پنیرهای سنتی ایران می‌باشد که از فرآوردهای تخمیری شیر محسوب می‌شود که در تهیه آن با افزودن باکتری‌های لاكتیکی و آنزیمهای خاص پنیر به شیر پاستوریزه استاندارد موجب می‌گردد تا شیر منعقد شده و لخته پنیر تازه تشکیل شود. از آنجائی که پروتئین‌های محلول در شیر در حین فرآیند تولید پنیر در مخلوط آب نمک و آب پنیر باقی می‌مانند، بخشی از ارزش غذایی آب پنیر به آن برهمی گردد. پنیر لاكتیکی ضمن آنکه مثل سایر پنیرها غنی از پروتئین، کلسیم و فسفر می‌باشد، علاوه بر آن به دلیل استفاده از باکتری‌های لاكتیکی جهت تخمیر شیر حاوی ویتامین‌های A و املاح معدنی با ارزش می‌باشد. یکی از مسائل مهم در تولید پنیر لاكتیکی فرایند حرارتی مناسب و کافی می‌باشد. 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 ۶ کیلو شیر، ۱ کیلوگرم پنیر بدست می‌آید. بنابراین انتخاب مناسب فرایندهای حرارتی و جداسازی بارمیکروبی بسیار حیاتی می‌باشد [۹-۵].

باکتوفوگاسیون یکی از روش‌های جایگزین پاستوریزاسیون به حساب می‌آید. حدود ۹۹ تا ۹۸ درصد از سلول‌های سوماتیک، باکتری‌ها و اسپورهای باکتری‌ها را می‌توان 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 سانتریفیوژهای اختصاصی برای جداسازی باکتری‌ها قبل از پاستوریزاسیون استفاده می‌شود. در فرایند باکتوفوگاسیون میکروارگانیسم‌های شیر در میدان سانتریفیوژ تحت تاثیر نیروی گریز از مرکز به اطراف محفظه هدایت شده و وارد لجن شیر می‌شوند [۱۰-۱۲].

لجن شیر بین ۱۰-۵ درصد از حجم شیر را در بر می‌گیرد که ۱۳-۱۶ آن ماده خشک است و شامل ۶-۸ درصد نیتروژن، ۰/۲۵-۰/۳۵ درصد چربی، ۴/۷ درصد لاکتوز و ۱/۵-۳ درصد

## ۱- مقدمه

شیر به دلیل داشتن ترکیبات بیوشیمیایی، میزان آب بالا و همچنین pH تقریباً خشی، 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 می‌باشد. تعداد باکتری‌های موجود در شیر از چند صد تا هزار در هر میلی لیتر شیر تازه از گاوهای سالم است [۱]. این میکروارگانیسم‌ها عمدها Streptococci و Micrococcii هستند، اگر چه باکتری‌های Corynebacterium bovis، Coryneform نیز نسبتاً رایج است. کلی فرم‌ها<sup>۱</sup> و سایر باکتری‌های گرم منفی نیز ممکن است در شیر خام وجود داشته باشد. رایج‌ترین باکتری‌های Pseudomonas گرم منفی در شیر خام عبارتند از: Klebsiella Flavobacterium Enterobacter Alcaligenes Acinetobacter Aeromonas Achromobacter شیر خام به دست آمده در شرایط بهداشتی نامطلوب اغلب حاوی کلی فرم‌های گرم منفی، شامل جنس: Citrobacter Enterobacter Escherichia Klebsiella است [۲-۴]. باکتری‌های تشکیل دهنده اسپور نقش مهمی در حفظ کیفیت شیر خام و فرآوری شده از جمله شیرهای پاستوریزه و استریلیزه با روش<sup>۲</sup> UHT ایفا می‌کنند. به طور خاص، سویه‌های Bacillus تشکیل دهنده اسپور می‌توانند به سرعت باعث فساد شیر شوند. Listeria monocytogenes Staphylococcus aureus، Salmonella spp. Mycobacterium tuberculosis شایع‌ترین ارگانیسم‌های بیماری‌زا در ارتباط با شیر خام هستند. طبق شرایط بهداشتی تعیین شده، میزان آلودگی انتظار می‌رود که کمتر از CFU/mL<sup>۳</sup> باشد. با این حال، شیر بسیار آلوده ممکن است حاوی بیش از CFU/mL<sup>۴</sup> باشد [۵ و ۶].

فرآورده‌های تخمیری بدست آمده از شیر مانند پنیر از مهمترین فرآورده‌های بدست آمده از شیر خام است. پنیر به شکل‌های مختلف در سراسر دنیا به فراوانی مصرف می‌شود. پنیر به

1. Coliform

2. Ultra High Temperature

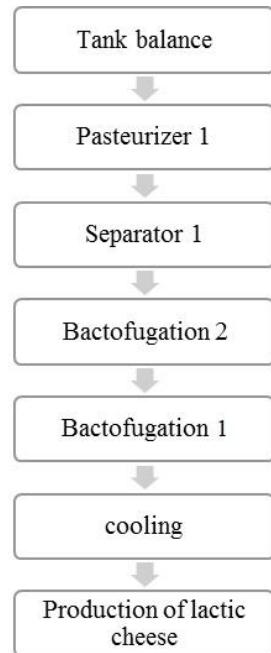
خامه، به شیر اسکیم اضافه می‌شود. نحوه جداسازی چربی در سپراتور، براساس اختلاف دانسیته‌ی چربی شیر (۹۳٪) و شیر پس‌چرخ (۱۰۳٪) بوده و نیروی گریز از مرکز حاصل از فعالیت سانتریفیوژ دستگاه سپراتور، دارای یک جام یا کاسه‌ی اصلی است که بشقاب‌ها یا دیسک‌ها داخل آن قرار می‌گیرند. خروجی‌های سپراتور شامل خامه، شیرپس چرخ و گل سپراتور (لجن لبنی) می‌باشد. عوامل موثر بر جدا شدن خامه شامل درجه حرارت و سرعت سپراتور می‌باشد. ترکیبات گل سپراتور شامل آب، مواد ازته، چربی و ناخالصی‌های میکروبی می‌باشد [۱۵].

این طرح در کارخانه پگاه گلستان انجام گرفت. در این کارخانه در گذشته به منظور تولید پنیر لاكتیکی از شیری استفاده می‌شد که دو بار فرایند پاستوریزاسیون بر روی آن انجام می‌گرفت. این فرایند بین صورت انجام می‌گرفت که ابتدا پاستوریزاسیون و سپس شیر وارد سپراتور و باکتوفوگاسیون می‌شد و این مرحله مجدد تکرار می‌شد. دلیل انجام دو مرحله‌ای فرایند حرارتی جلوگیری از آلدگی میکروبی و بد طعمی در طول دوره ماندگی پنیر لاكتیکی می‌باشد. دو بار عملیات حرارتی سبب افت ارزش تغذیه‌ای، هدر رفتن انرژی، کاهش راندمان تولید پنیر از شیر، افزایش ضایعات و افزایش هزینه‌های تولید می‌شود. به منظور جلوگیری از دوبار فرایند حرارتی، کاهش هزینه‌های تولید و کاهش ضایعات سپراتور و باکتوفوگاسیون، عملیات به این 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. مسئله دیگر در صنایع لبنی، لجن لبنی بسته آمده از دستگاه‌های سپراتور و باکتوفوگاسیون می‌باشد. صنایع لبنی به طورکلی به عنوان بزرگ‌ترین منبع پساب فاضلاب در بسیاری از کشورها محسوب می‌شود. روزانه حجم زیادی لجن سپراتور و باکتوفوگاسیون که حاوی ترکیبات مفید مانند چربی، پروتئین‌هایی از قبیل کازین و باکتری‌هایی که توانایی تولید آنزیم پروتیاز را دارند، به عنوان ضایعات دور ریخته می‌شوند. از طرف دیگر، پساب صنایع لبنی دارای تأثیرات منفی زیست‌محیطی است [۱۶]. از این رو تلاش برای به حداقل رساندن این پساب لبنی امری ضروری به نظر می‌رسد. در هر خروج لجن لبنی، هر دستگاه (سپراتور و باکتوفوگاسیون) مقدار ۹ تا ۱۰ کیلو ضایعات لجن لبنی تولید می‌شود. در این طرح علاوه

مواد غیر لبنی است [۱۳]. خوشبختانه میکرووارگانیسم‌های اسپورزای مقاوم به حرارت غالباً از سایر میکرووارگانیسم‌ها سنگین‌تر بوده و به آسانی از شیر جدا می‌شوند. چون اسپورها به حرارت مقاوم هستند، باکتوفوگاسیون تکمیل کننده‌ی عملیات ترمیزاسیون، پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون می‌باشد. این دستگاه می‌تواند ۹۶ درصد اسپورها را از شیر حذف نماید. هم چنین می‌توان از باکتوفیوژ دو مرحله‌ای نیز استفاده نمود. در این صورت شیر پس از عبور از دستگاه اول، وارد دستگاه دوم شده و به این ترتیب تا ۹۹ درصد اسپورها حذف می‌شوند. به طور کلی دو نوع دستگاه باکتوفوگاسیون وجود دارد: الف. دستگاه باکتوفوگاسیون تک فازی که فقط یک مسیر خروجی در بالا برای شیری که تعداد باکتری‌های آن کاهش یافته است دارد. لشه‌ی باکتری‌ها در محفظه‌ی رسوب‌گیر واقع در بدنی دستگاه جمع شده و در فواصل زمانی از پیش تعیین شده تخیله می‌گردد. ب. دستگاه دارد، یکی برای تخیله‌ی مداوم لشه‌ی باکتری‌های به هم فشرده شده و دیگری برای شیری که باکتری‌های آن کاهش یافته است. مقدار لشه‌ی میکرووارگانیسم‌ها از باکتوفوگاسیون دو فازی حدود ۳ درصد جریان ورودی بوده و این نسبت در باکتوفوگاسیون یک فازی کمتر و در حدود ۱۵٪ درصد از جریان ورودی است. لجن دفعی از باکتوفوگاسیون علاوه بر لشه‌ی میکروب‌ها، حاوی ماده‌ی خشک بالاتری نسبت به شیر ورودی می‌باشد، زیرا مقداری از میسل‌های بزرگ کازین همراه با اسپور باکتری‌ها جدا می‌شوند. باکتوفوگاسیون در دمای بالا میزان پروتئین را در لجن دفعی افزایش می‌دهد. مقدار ماده‌ی جدا شده از شیر در سیستم تک فازی حدود ۱۵٪ درصد و در سیستم دو فازی ۳ درصد بوده و دمای مناسب برای باکتوفوگاسیون در محدوده‌ی ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار دارد [۱۴].

یکی دیگر از روش‌های جداسازی میکرووارگانیسم‌ها سپراتور می‌باشد. سپراتور وسیله‌ای برای تفکیک شیر تازه، به شیر اسکیم (شیر بدون چربی) و خامه می‌باشد. شیر اسکیم پس از جداسازی کامل چربی، از شیر تازه ساخته می‌شود. باقی مانده‌ی مخلوط، که حاوی کل چربی شیر است، خامه نام دارد. شیر پس از عبور از سپراتور، بر حسب میزان چربی مورد نیاز استاندارد شده برای تولید شیر با درصد چربی متفاوت، مقدار مشخصی

در سپراتور و باکتوفوگاسیون به ۲۱ دقیقه افزایش یافت. دما در سپراتور و هر دو باکتوفوگاسیون ثابت (۶۰ درجه سانتی گراد) در نظر گرفته شد (شکل ۱).



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

### ۳-۲-آزمون‌های میکروبی

برای بررسی کشت میکروبی، نمونه گیری از بالانس تانک، خروجی پاستوریزاتور، خروجی سپراتور و خروجی هر باکتوفوگاسیون انجام شد. از استاندارد ملی شماره ۸۹۲۳-۵ آزمون به 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].

### ۳-۲-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  $10^{-3}$  به این محیط کشت تلقیح شدند. برای تشخیص تعداد باکتری‌های هوایی از باکتری‌های بی‌هوایی و یا بی‌هوایی اختیاری کشت سطحی و پورپلیت به عمل آمد. همچنین به منظور

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

در این پژوهه که با همکاری شرکت پگاه گلستان انجام می‌گیرد، با هدف کاهش حرارت‌دهی شیر (به منظور عدم افت ارزش تغذیه‌ای در نتیجه حرارت) از فرایند جداسازی (با سپراتور) و باکتوفوگاسیون دو گانه به منظور کاهش بار میکروبی استفاده می‌شود. نمونه‌های شیر مورد استفاده برای تولید پنیر لاتیکی در استان گلستان در دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ مورد بررسی قرار خواهند گرفت. پس از انجام فرایند، شمارش کلی میکروبی، شمارش اسپورهای هوایی و بی‌هوایی انجام خواهد شد.

## ۲-مواد و روش‌ها

### ۱-۲-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-مراحل انجام فرایند

مراحل شماتیک فرایندهای صورت گرفته برای آماده سازی شیر برای تولید پنیر لاتیکی (شیر لاتیکی) 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 کیوگرم 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 هر پارشال

شمارش کلی باکتریایی، شمارش اسپور هوایی (ترموفیل و مزوفیل) و شمارش اسپورهای بیهوایی انجام گرفت.

نتایج بدست آمده مربوط به نمونه های سال ۱۳۹۹ در نمودار ۲ ارائه شده است. در فصل بهار (۱۳۹۹/۰۱/۲۵) شمارش کل میکروبی (نمودار(a))  $54 \times 10^0$  CFU/mL در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی بود که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور به  $28 \times 10^4$  CFU/mL رسیده است که نشان دهنده  $\frac{76}{3}$  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 ۲ و ۱ تعداد شمارش کلی به ترتیب به  $447 \times 10^3$  و  $223 \times 10^3$  CFU/mL رسیده است که به طور معنی داری در مقایسه با نمونه های شاهد، سبب کاهش  $65/1$  درصد و  $47/9$  درصد کاهش بار میکروبی در نمونه شیر شده است ( $P < 0.5$ ). به طور کلی مجموع فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه سبب کاهش  $96$  درصد بار میکروبی شده است.

در مرور تعداد اسپور بیهوایی (نمودار(b))، مراحل جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه ۲ و ۱، به ترتیب هر مرحله سبب کاهش  $96/8$ ،  $79/8$  و صفر درصد شده است و به طور کلی تمام این مراحل باعث کاهش  $99/3$  درصد تعداد اسپورهای بیهوایی شده است.

همچنین شمارش اسپورزاهای هوایی مزوفیل و ترموفیل نیز انجام شد (نمودار(c,d)). نتایج نشان می دهد که به ترتیب در تعداد اسپورزاهای هوایی مزوفیل  $72/3$  و  $50$  درصد و اسپورزاهای هوایی ترموفیل  $42/4$  و  $60/2$  درصد کاهش در سه مرحله فرایند مشاهده و موجب تفاوت معنی داری با نمونه های شیر خام موجود در بالانس تانک شده است ( $P < 0.5$ ). در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورزاهای هوایی ترموفیل و مزوفیل  $92/3$  و  $85/04$  درصد به طور معنی داری کاهش یافته است ( $P < 0.5$ ). در نمونه جمع آوری شده در فصل تابستان (۱۳۹۹/۰۴/۰۳) شمارش کل میکروبی در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی،  $36 \times 10^0$  CFU/mL بود، که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور و دو مرحله باکتوفوگاسیون ۲ و ۱، شمارش میکروبی به ترتیب  $122 \times 10^4$  و  $272 \times 10^3$  CFU/mL کاهش

تشخیص باکتری های مزوفیل از ترموفیل، پلیت ها در دو دمای  $37$  و  $50$  سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. شمارش باکتری ها توسط دستگاه پرگنه شمار انجام پذیرفت.

### 2-3-2-محیط کشت Skim Milk Agar

این محیط کشت حاوی  $2$  درصد شیر پس چرخ و  $2$  درصد اگار است [۲۱]. این محیط کشت در دو  $pH = 9$  و  $pH = 10$  و تهیه گردید [۲۲]. نمونه های لجن شیر سپراتور و باکتوفیوژ پس از رقیق سازی در محلول رینگر، با رقت های  $10^{-1}$  و  $10^{-2}$  و  $10^{-3}$  به این محیط کشت تلقیح و در دو دمای  $37$  و  $50$  درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. این مراحل برای نمونه هایی که تحت تیمار حرارتی  $80$  درجه سانتی گراد به مدت  $15$  دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفتند، نیز به منظور ایجاد شوک حرارتی به باکتری های اسپورزا و جداسازی آنها انجام گرفت [۲۰].

### 2-3-3-محیط کشت MRS

نمونه های لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون، پس از رقیق سازی در محلول رینگر و با رقت های  $10^{-1}$  و  $10^{-2}$  و  $10^{-3}$  به محیط کشت MRS تلقیح و در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  گرمخانه گذاری شدند [۲۰].

### 2-4-3-محیط کشت SDA

نمونه های لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون پس از تهیه 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  $25^{\circ}\text{C}$  گرمخانه گذاری گردیدند.

## 2-4-آنالیز آماری

این طرح با استفاده از آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار با استفاده از نرم افرا SPSS نسخه ۲۲ انجام شد.

## 3-نتایج و بحث

بررسی ویژگی های میکروبی شیر فرایند شده در پاستوریزاتور، سپراتور و باکتوفوگاسیون نمونه های شیر مصرفی جهت تولید پنیر لاکتیکی مربوط در طول سال های  $1399$  و  $1400$  در زمان های مختلف انجام شد (نمودار ۲ و ۳). در این پژوهش

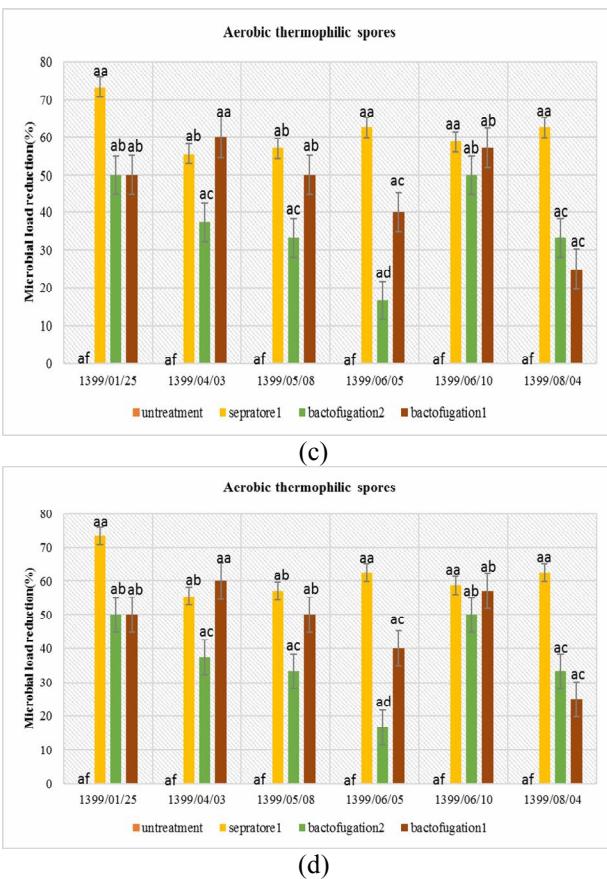
باکتوفوگاسیون دو، تعداد شمارش کلی به  $10^4$  CFU/mL رسیده است که سبب ۷۵/۲ درصد کاهش بار میکروبی معنی دار در نمونه شیر شده است. در مرحله باکتوفوگاسیون یک، شمارش کل میکروبی تا  $10^4$  CFU/mL کاهش یافته است. به طور کلی مجموع این فرایندها سبب کاهش ۹۷ درصد بار میکروبی شده است. همچنین تعداد باکتری های اسپورزای بی هوایی در مراحل جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه به ترتیب ۸۶/۴ و ۸۰/۷ درصد و صفر درصد به طور معنی داری کاهش یافته اند ( $P<0.5$ ) و در کل تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶ درصد تعداد اسپورهای بی هوایی شده است. نتایج شمارش تعداد اسپورزاهای هوایی مزووفیل و ترموفیل نیز نشان می دهد که به ترتیب تعداد اسپورزاهای هوایی ترموفیل ۶۲/۵ و ۱۶/۷ و ۴۰ درصد و اسپورزاهای هوایی مزووفیل ۵۲/۷۸ و ۷۰/۶ و ۴۰ درصد در هر مرحله فرایند به طور معنی داری کاهش یافته اند. در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورزاهای هوایی ترموفیل و مزووفیل ۹۱/۶ و ۸۱/۳ کاهش یافته است.

در تاریخ ۱۳۹۹/۰۶/۱۰ نمونه گیری انجام گرفته و نمونه پس از ذخیره سازی در تانک تعادل تحت تیمار به منظور کاهش بار میکروبی قرار گرفت. تعداد شمارش کلی میکروبی در تانک تعادل قبل از فرایند،  $10^6$  CFU/mL بود. پس از انجام فرایند جداسازی با استفاده از سپراتور تعداد شمارش کلی میکروبی تا  $10^7$  CFU/mL (۸۷/۳ درصد کاهش) کاهش یافته است. در مرحله باکتوفوگاسیون دو، شمارش کلی میکروبی باکتوفوگاسیون یک، شمارش کلی میکروبی تا  $10^5$  CFU/mL (۸۴/۴ درصد کاهش) کاهش یافته است که در مراحله باکتوفوگاسیون یک، شمارش کلی میکروبی تا  $10^5$  درصد کاهش معنی دار در بار میکروبی مشاهده شده است ( $P<0.5$ ). همچنین در بررسی صورت گرفته بر روی نمونه شیر از نظر تعداد اسپورزاهای بی هوایی پس از هر فرایند، به ترتیب ۹۰/۷ و ۲۵ و صفر درصد کاهش مشاهد شده است و در مجموع ۹۳ درصد اسپورزاهای بی هوایی در انتهای فرایند شیر کاهش یافته اند. تعداد اسپورهای هوایی ترموفیل به ترتیب ۵۸/۸، ۵۰ و ۵۷/۱ درصد پس از طی هر سه مرحله فرایند به طور موثری کاهش یافته اند و به طور کلی نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل ۹۱/۲ درصد کاهش یافته اند. همچنین در مورد

یافته است، که نشان دهنده به ترتیب ۶۶/۱، ۷۰/۹، ۲۳/۴ درصد کاهش معنی دار در تعداد شمارش کلی میکروبی است ( $P<0.5$ ). به طور کلی پس از طی این مراحل ۹۲ درصد بار میکروبی کاهش یافته است. این سه مرحله فرایند به ترتیب سبب کاهش ۷۷/۴، ۸۵/۷ و صفر درصد در تعداد اسپورزاهای بی هوایی شده است. به طور کلی تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶/۸ درصد تعداد اسپورزاهای بی هوایی شده است. فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه به ترتیب باعث کاهش معنی دار ۵۵/۶، ۳۷/۵ و ۶۰ درصد اسپورزاهای هوایی ترموفیل (به طور کلی ۸۸/۹ درصد) و کاهش ۶۲/۵، ۴۳/۵۳ و ۲۲/۲ درصد اسپورزاهای هوایی مزووفیل (۸۳/۵۳ درصد) در مقایسه با نمونه های شاهد شده است ( $P<0.5$ ).

در بررسی های انجام شده بر روی نمونه شیر جمع آوری شده در فصل تابستان (۱۳۹۹/۰۵/۰۸) شمارش کل میکروبی در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی، تعداد شمارش میکروبی کل به  $10^4$  CFU/mL رسیده است و پس از باکتوفوگاسیون ۲ و ۱ تعداد شمارش کل میکروبی به  $10^3$  CFU/mL و  $10^3$  CFU/mL رسیده است. پس از فرایندهای جداسازی، باکتوفوگاسیون ۲ و ۱ درصد کاهش شمارش کلی میکروبی به طور معنی داری به ترتیب برابر با ۷۵/۳ و ۳۳/۹ درصد رسید ( $P<0.5$ ) و ۹۲ کاهش بار میکروبی پس از طی هر سه فرایند مشاهده شده است. هر کدام از این مراحل به ترتیب سبب ۸۰ و ۸۳/۵ و صفر درصد کاهش در تعداد اسپورزاهای بی هوایی شده است. در کل تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶/۸ درصد تعداد اسپورزاهای بی هوایی شده اند. فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه ۱ و ۲ به ترتیب باعث کاهش معنی دار ۵۷/۱، ۳۳/۳ و ۵۰ درصد در تعداد اسپورزاهای هوایی ترموفیل (کل هر سه مرحله ۸۵/۷ درصد) و کاهش ۶۹/۲ و ۴۱/۷ درصد از تعداد اسپورزاهای هوایی مزووفیل (۹۰/۷ درصد در کل سه مرحله) شده است ( $P<0.5$ ).

در فصل تابستان (۱۳۹۹/۰۶/۰۵) شمارش کل میکروبی  $10^5$  CFU/mL در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی بود که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور تا  $10^4$  CFU/mL کاهش یافت که نشان دهنده ۷۵ درصد کاهش معنی دار در تعداد شمارش کلی میکروبی است. در مراحل

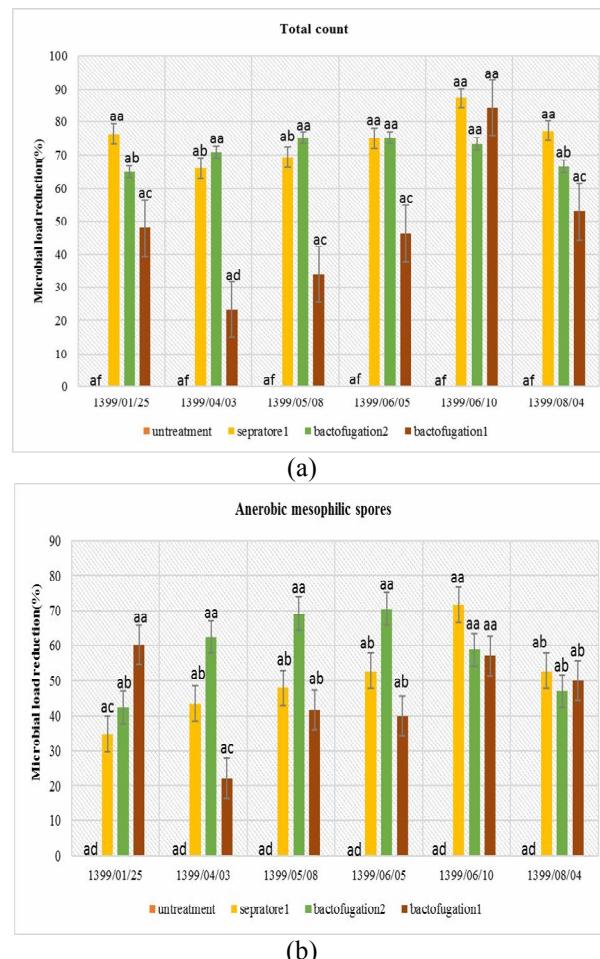


**Fig 2** Comparison between the percentage of microbial load reduction (a: total microbial count, b: anaerobic spores, c: aerobic mesophilic spores, d: aerobic thermophilic spores) in 1399. Data are expressed as mean $\pm$  standard deviation ( $n= 3$ ) and different letters show significant difference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

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

اسپورهای هوایی مزوپیل 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 شده است و در مجموع تعداد اسپورهای هوایی مزوپیل نسبت به شیر فراینده نشده، ۹۵ درصد کاهش یافته است. در این تاریخ با وجود آلدگی بالای نمونه شیر اما تا ۹۹ درصد بارمیکروبی شیر کاهش یافته است.

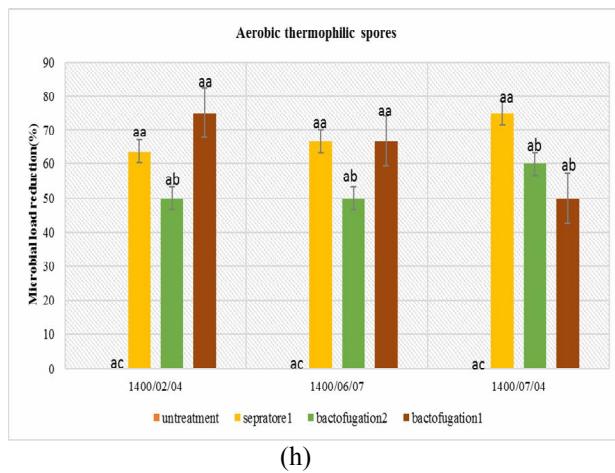
نمونه شیر در فصل پاییز (۱۳۹۹/۰۸/۰۴) جمع آوری شده و در تانک تعادل، شمارش کل میکروبی آن قبل از فرایند حرارتی،  $45 \times 10^6$  CFU/mL تعداد شمارش میکروبی کل تا  $102 \times 10^4$  CFU/mL کاهش یافت و پس از باکتوفوگاسیون دو و یک، تعداد شمارش کل میکروبی به ترتیب به  $34 \times 10^4$  CFU/mL و  $16 \times 10^4$  CFU/mL رسیده است.



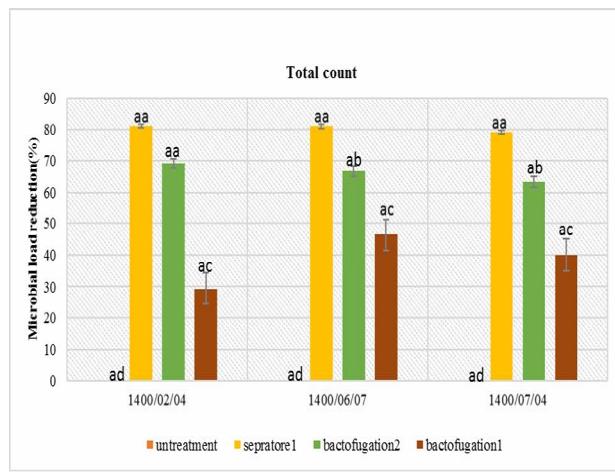
در مجموع ۸۷ درصد اسپورزاهای بی‌هوایی در انتهای فرایند شیر کاهش یافته‌اند. تعداد اسپورزاهای هوایی ترموفیل به ترتیب ۶۶/۷، ۵۰ و ۶۶/۷ درصد پس از طی هر سه مرحله فرایند به طور معنی داری کاهش یافته‌اند و به طور کلی نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل ۹۴/۴ درصد کاهش یافته‌اند( $P<0.5$ ). همچنین در مورد اسپورزاهای هوایی مزووفیل 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 اسپورزاهای هوایی مزووفیل نسبت به نمونه شیر فرایند نشده ۸۳/۶۱ درصد کاهش یافته‌است.

بررسی میکروبی نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده در تاریخ ۱۴۰۰/۰۷/۰۴ انجام شد. شمارش کلی میکروبی نمونه شیر فرایند نشده موجود در تانک تعادل انجام شده و تعداد  $CFU/mL^{*} ۴\times 10^4$  در این نمونه موجود بوده‌است. پس از یک مرحله فرایند در سپراتور تعداد در نمونه  $CFU/mL^{*} ۸۴\times 10^4$  شمارش شده‌است. پس از باکتوفوگاسیون دو،  $CFU/mL^{*} ۲۸\times 10^4$  باکتوفوگاسیون یک،  $CFU/mL^{*} ۸۲\times 10^4$  شمارش شده‌است. به طور کلی 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 و کل فرایندها موجب کاهش  $۹۷$  درصدی بار میکروبی شده‌است( $P<0.5$ ). بررسی اسپورزاهای بی‌هوایی نشان داده که به ترتیب پس از هر مرحله  $۵۲/۲$ ،  $۷۲/۷$  و صفر درصد اسپورزاهای بی‌هوایی کاهش یافته‌اند و نمونه فرایند شده نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل تعداد اسپورزاهای بی‌هوایی آن ۸۷ درصد کاهش یافته‌است. نتایج شمارش تعداد اسپورزاهای هوایی مزووفیل و ترموفیل نیز نشان می‌دهد که به ترتیب تعداد اسپورزاهای هوایی ترموفیل  $۷۵$  و  $۶۰$  و  $۵۰$  درصد و اسپورزاهای هوایی مزووفیل  $۵۹/۴۶$ ،  $۶۰$  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 هوایی ترموفیل و مزووفیل  $۹۵$  و  $۸۹/۱۹$  درصد کاهش یافته‌اند.

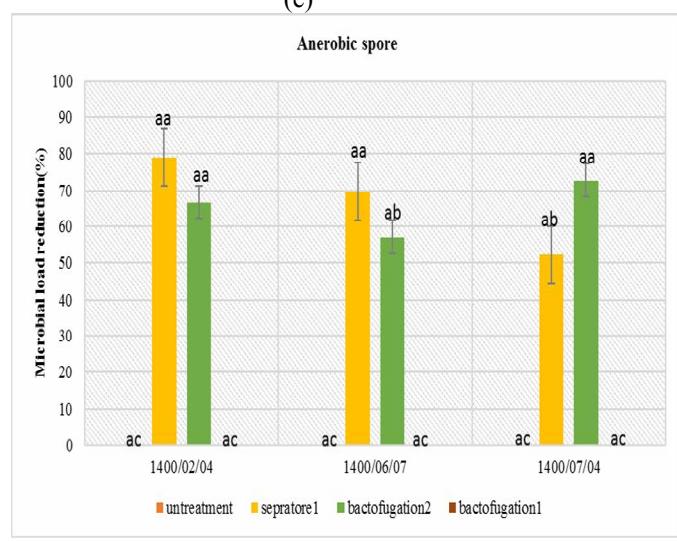
نتایج مربوط به نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده در سال ۱۴۰۰ در نمودار ۳ ارائه شده‌است. بر روی نمونه شیر جمع‌آوری شده در تاریخ ۱۴۰۰/۰۲/۰۴ فرایندهای جداسازی، باکتوفوگاسیون دو گاهه (۱) انجام گرفت و پس از هر مرحله شمارش میکروبی انجام شد. براساس نتایج بدست آمده شمارش کلی  $CFU/mL^{*} ۵۸\times 10^5$  بدست آمده‌است. پس از طی هر سه فرایند از هر کدام نمونه برداری انجام شده و تعادل شمارش کلی میکروبی به ترتیب  $CFU/mL^{*} ۱۱\times 10^4$ ،  $۱۱\times 10^4$  و  $۲۴\times 10^4$  بوده‌است که نشان دهنده کاهش معنی دار  $۶۹/۱$ ،  $۸۱$  و  $۲۹/۴$  درصدی بار میکروبی پس از هر مرحله است( $P<0.5$ ). به طور کلی این مجموعه فرایند سبب کاهش شمارش کلی میکروبی  $۹۶$  درصد شده‌است. نتایج شمارش اسپورزاهای بی‌هوایی (نمودار (f) و هوایی (g,h)) نیز پس از هر مرحله نشان می‌دهد که تعداد اسپورزاهای بی‌هوایی به ترتیب  $۶۶/۷$ ،  $۶۹/۱$  و صفر درصد پس از هر مرحله کاهش یافته‌اند و اسپورزاهای هوایی ترموفیل (نمودار (h)، به ترتیب پس از هر مرحله فرایند  $۶۳/۶$ ،  $۵۰$  و  $۷۵$  درصد) و مزووفیل (نمودار (g)، به ترتیب  $۵۴/۷۶$ ،  $۵۲/۶$  و  $۳۳/۳$  درصد) نیز کاهش معنی دار یافته‌اند. همچنین تعداد کل اسپورزاهای بی‌هوایی، اسپورزاهای هوایی ترموفیل و اسپورزاهای هوایی مزووفیل به ترتیب پس از اتمام فرایندها  $۹۳$ ،  $۹۵/۹$  و  $۸۵/۷۱$  درصد به طور موثق کاهش یافته‌اند. در تاریخ ۱۴۰۰/۰۶/۰۷ نمونه پس از ذخیره‌سازی در تانک تعادل تحت فرایند به منظور کاهش بار میکروبی قرار گرفت. تعادل شمارش کلی میکروبی در تانک تعادل قبل از فرایند  $CFU/mL^{*} ۳۹\times 10^5$  بود. پس از انجام فرایند جداسازی با استفاده از سپراتور تعادل شمارش کلی میکروبی تا  $CFU/mL^{*} ۸۲\times 10^4$  (۷۹ درصد) کاهش یافته‌است. در مرحله باکتوفوگاسیون دو، شمارش کلی میکروبی  $CFU/mL^{*} ۳۰\times 10^4$  بود ( $۶۳/۴$  درصد کاهش) کاهش یافته‌است. در مرحله باکتوفوگاسیون یک، شمارش کلی میکروبی تا  $CFU/mL^{*} ۱۸\times 10^4$  (۴۰ درصد کاهش) کاهش معنی دار یافته‌است، که در مجموع  $۹۵$  درصد کاهش در بار میکروبی مشاهده شده‌است. همچنین در بررسی صورت گرفته بر روی نمونه شیر از نظر تعداد اسپورزاهای بی‌هوایی پس از هر فرایند، به ترتیب  $۶۹/۶$ ،  $۵۷/۱$  و صفر درصد کاهش مشاهده شده است و



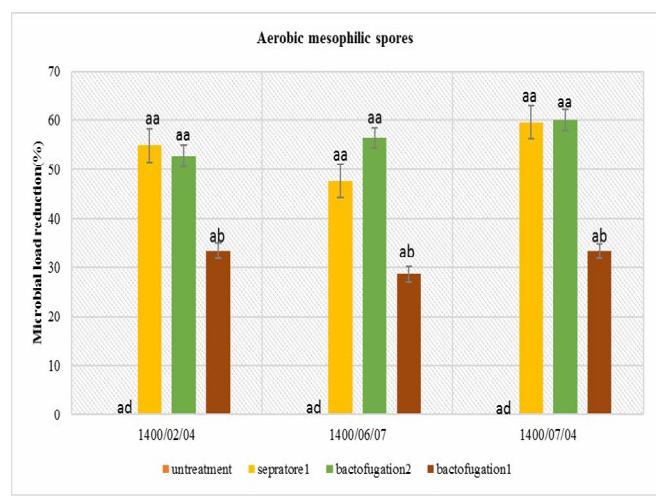
(h)



(e)



(f)



(g)

**Fig 3** Comparison between the percentage of microbial load reduction (e: total microbial count, f: anaerobic 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 بیهوایی و اسپورهای هوایی ترموفیل و مزوفیل) بینگر این است که به طور کلی درصد کاهش بار میکروبی در هر دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ توسط سپراتور بیش از باکتوفوگاسیون دوگانه است و باکتوفوگاسیون ۱ بیش از ۲ می باشد. درصد کاهش کل بار میکروبی در تمام نمونه ها بیش از ۹۵ درصد می باشد. نمونه های شیر در شهریورماه سال ۱۳۹۹ و مهرماه سال ۱۴۰۰ به ترتیب حاوی بیشترین تعداد میکرووارگانیسم در نمونه بوده اند و فرایندهای تیمار غیرحرارتی انجام شده بر روی این نمونه ها سبب کاهش ۹۷ و ۹۹ درصد شمارش کلی میکروبی شده است، که این امر نشان می دهد که در آلودگی بالا هم این روش ها، به خوبی قادر به کاهش بار میکروبی نمونه های شیر هستند. با توجه به نتایج بدست آمده، مشاهده می شود که افزایش زمان هر مرتبه خروج لجن لبی سبب کاهش فاضلاب تولیدی کارخانه شده است، اما تاثیری بر افت کیفیت میکروبی شیر تولیدی نداشته است. یعنی یک تعادل بین زمان خروج لجن لبی و کاهش بار میکروبی ایجاد شده است. پنیرها با دو روش اصلی آنزیم می تواند باعث لخته شدن بافت پنیر شود. اسیدسازی در برخی از پنیرها به وسیله باکتری ها انجام می شود و در واقع، همان

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 دو مرحله‌ای 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 میکرووارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا بدون تغییر در رنگ، طعم و خواص تغذیه‌ای آن می‌باشد و از ایجاد تغییرات و از بین رفتتن 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 شده است. 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 مزو菲尔، سایکروتوف 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 حجیم A، B و C تقسیم شده‌اند، را در زمان‌های مختلف در طول فرآیند فن‌آوری مورد ارزیابی قرار دادند. از آنجایی که شیر خام بلافصله قبل از باکتوفوگاسیون از قبل (۵۵ درجه سانتیگراد) گرم شده بود، اثر باکتوفوگاسیون با مقایسه تعداد شیر خام، از پیش گرم شده و باکتوفرژ شده تخمین زده شد. این سانتریفیوز برای کاهش جداسازی ۸۸ درصد شمارش میکروبی کل در شیر از پیش گرم شده کافی بوده است. 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].

باکتری‌ها یا استارتراهایی که می‌توانند منجر به تولید ماست شوند، قادر به ساخت پنیر هم خواهند بود 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 لاتکتیک است. پاستوریزاسیون شیر (حرارت دهنده در دمای ۷۲–۷۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه) میکروارگانیسم‌های پاتوژن و عامل فساد را تخریب می‌کند و مهم‌ترین تیمار حرارتی به کار گرفته شده برای شیر پنیرسازی می‌باشد که باعث ایمنی قابل قبول و بهبود کیفیت پنیر حاصل می‌شود. با این وجود پاستوریزاسیون تاثیر جانبه نامطلوبی بر بسیاری از ویژگی‌های حسی پنیر دارد و باعث تغییرات بافتی و اغلب تاخیر در رسیدن پنیر می‌شود [۷، ۲۳].

در ابتدا استفاده از سپراتور جهت ارتقاء کیفیت ماندگاری شیر نوشیدنی طراحی گردید، ولی امروزه معمولاً جهت افزایش کیفیت باکتیولوژیکی سایر فرآوردهای شیری نظیر پنیر، پودر آب پنیر مورد استفاده در غذای کودک و پودر شیر بهره‌گیری می‌شود. 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 می‌باشد. چون اغلب این اسپورها مقاوم به حرارت می‌باشند. باکتوفوگاسیون در حقیقت مکمل فرایند های حرارتی خواهد بود. اصول کار باکتوفوگ ها همان اصول کار جداسندهای گریز از مرکز می‌باشد. لاشه باکتری‌ها ممکن است بصورت مدام و همزمان با شیر خارج شود (باکتوفوگ‌های دو فازی که دارای دو خروجی 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 (باکتوفوگ‌های یک فازی که فقط دارای یک خروجی جهت شیر می‌باشند). 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 می‌دهد. دمای مناسب باکتوفوگاسیون ۵۵ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. باکتری‌های متعلق به جنس کلستریدیوم (اسپورهای بی‌هوایی) در فرایند پنیر سازی بسیار مشکل آفرین هستند و می‌توانند حتی در مقادیر کم باعث

خواهد بود. در این طرح به جای استفاده از دو مرحله پاستوریزاسیون، از سپراتور و باکتوفیوز برای جداسازی میکروارگانیسم‌ها استفاده شد، که به خوبی بارمیکروبی شیر کاهش یافته و برای تولید پنیر لاكتیکی به کار برد 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 شده است.

## ۵-تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب با کد ۳/۵۵۹۰۵ در دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. نویسندهای مقاله بر خود لازم می‌دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های 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, I. T. (2016). FT-Raman and chemometric tools for rapid determination of quality parameters in milk powder: Classification of samples for the presence of

در طراحی باکتوفوگاسیون نیز باکتری‌ها و اسپورها که دانسته بالاتری از شیر پس چرخ دارند به سمت خارج رانده می‌شوند [۷]. طلوع نداف آبکوهی و همکاران (۲۰۱۹)، لجن لبنی مربوط به تیمار با باکتوفیوز را از نظر میکروبی مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه پتانسیل باکتوفیوز و لجن جداسدۀ برای تولید آنزیم‌های پروتئاز قلیایی مورد مطالعه قرار گرفته است. مجموع شمارش هوازی و بی‌هوازی زنده در Plate Count در دمای ۳۷ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای هر دو نوع لجن تعیین شد. باکتری‌های پروتولیتیک از لجن لبنتی 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 پروتولیتیک در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد. باسیل‌های تولیدکننده پروتئاز قلیایی جدا شده توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شناسایی شدند. به طور کلی نتایج نشان داده است که لجن لبنی دستگاه باکتوفیوز دارای تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا می‌باشد [۲۶]. استفاده از این روش‌ها، به جای روش‌های معمول و سنتی حرارت دهنده، موجب کاهش تغییرات در خواص شیمیایی شیر مانند دناتوراسیون پروتئین می‌شود. به کارگیری نیتروی گریز از مرکز در فراوری شیر منجر به بهبود کیفیت 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].

## ۷-نتیجه‌گیری کلی

شیر و فرآورده‌های آن حاوی مواد مغذی فراوانی هستند که بسیاری از این ترکیبات نسبت به حرارت حساس بوده و در اثر حرارت دهنده بیش از حد از بین می‌روند. از این رو تلاش در جهت استفاده از فرایندهایی که با استفاده از حرارت کمتر سبب کاهش بارمیکروبی شیر می‌شوند رو به افزایش است. به خصوص در مورد شیر مصری در تولید پنیر که هرچه فرایند حرارت دهنده کمتر بر روی آن انجام شود کیفیت و بازده تولید پنیر بیشتر

- 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 *Bacillus* 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., & Haghī, 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.
- 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., & Belotti, V. (2020). Effect of milk bactofugation on the counts and diversity of thermophilic bacteria. *Journal of Dairy Science*, 103(10), 8790-8782.
- [13]McCarthy, O. (2011). Plant and Equipment| Centrifuges and Separators: Applications in the Dairy Industry.
- [14]Gésan-Guizou, 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



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

**Moradi, S. <sup>1</sup>, Zeraatpisheh, F. <sup>2</sup>, Zanganeh, H. <sup>2</sup>, Ghajari Shamushaki, M. <sup>3</sup>, Vasiee, A. <sup>2</sup>,**  
**Tabatabaei Yazdi, F. <sup>2\*</sup>, Mortazavi, S. A. <sup>2</sup>**

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****ABSTRACT****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

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.