



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

حجم لجن لبنی

سمیرا مرادی^۱، فاطمه زراعت‌پیشه^۲، حسین زنگانه^۱، مهدی قجری شמושکی^۳، علیرضا وسیعی^۲، فریده طباطبایی یزدی^۲،

سید علی مرتضوی^۲

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

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

۳-کارخانه شیر پگاه گلستان، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

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 فرآورده های مشتق شده از شیر، از نظر تکنولوژیکی کیفیت مناسبی نخواهند داشت. در این پروژه که با همکاری شرکت پگاه گلستان انجام پذیرفته است، با هدف کاهش حرارت دهی 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 لاکتیکی در استان گلستان در دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند. پس از انجام فرایند، شمارش کلی میکروبی، شمارش اسپورهای هوازی و بی هوازی انجام شد. نتایج نشان داد که با استفاده از این روش، بار میکروبی کل، اسپورهای هوازی و بی هوازی شیرهای 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 لبنی می شود. در حالت معمول هر ۲۰ دقیقه یک بار، خروج لجن لبنی انجام می شود، که در این فرایند در سپراتور و باکتوفوگاسیون ۱، به ۲۱ دقیقه یکبار، به منظور کاهش لجن لبنی انجام شد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۵

کلمات کلیدی:

شیر،

بار میکروبی،

سپراتور،

باکتوفیوژ،

لجن لبنی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.241

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.25.8

* مسئول مکاتبات:

tabatabai@um.ac.ir

۱- مقدمه

شیر به دلیل داشتن ترکیبات بیوشیمیایی، میزان آب بالا و همچنین pH تقریباً خنثی، محیط مناسبی برای رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند. تعداد و نوع میکروارگانیسم‌های موجود در شیر تحت تأثیر فصل، بهداشت مزرعه، خوراک و کارایی سیستم خنک کننده می‌باشد. تعداد باکتری‌های موجود در شیر از چند صد تا هزار در هر میلی لیتر شیر تازه از گاوهای سالم است [۱]. این میکروارگانیسم‌ها عمدتاً *Micrococci* و *Streptococci* هستند، اگر چه باکتری‌های *Coryneform*، از جمله *Corynebacterium bovis* نیز نسبتاً رایج است. کلی‌فرم‌ها^۱ و سایر باکتری‌های گرم منفی نیز ممکن است در شیر خام وجود داشته باشد. رایج‌ترین باکتری‌های گرم منفی در شیر خام عبارتند از: *Pseudomonas*، *Enterobacter*، *Flavobacterium*، *Klebsiella*، *Aeromonas*، *Acinetobacter*، *Alcaligenes* و *Achromobacter*. شیر خام به دست آمده در شرایط بهداشتی نامطلوب اغلب حاوی کلی‌فرم‌های گرم منفی، شامل جنس: *Citrobacter*، *Enterobacter*، *Escherichia* و *Klebsiella* است [۲-۴]. باکتری‌های تشکیل‌دهنده اسپور نقش مهمی در حفظ کیفیت شیر خام و فرآوری شده از جمله شیرهای پاستوریزه و استریلیزه با روش UHT^۲ 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 10^3 باشد. با این حال، شیر بسیار آلوده ممکن است حاوی بیش از CFU/mL 10^6 باشد [۵ و ۶].

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

روش‌های مختلفی تولید می‌شود. یکی از این روش‌ها تولید پنیر به روش لاکتیکی می‌باشد. پنیر لاکتیکی از پنیرهای سنتی ایران می‌باشد که از فرآورده‌های تخمیری شیر محسوب می‌شود که در تهیه آن با افزودن باکتری‌های لاکتیکی و آنزیم‌های خاص پنیر به شیر پاستوریزه استاندارد موجب می‌گردد تا شیر منعقد شده و لخته پنیر تازه تشکیل شود. از آنجائی‌که پروتئین‌های محلول در شیر در حین فرآیند تولید پنیر در مخلوط آب نمک و آب پنیر باقی می‌مانند، بخشی از ارزش غذایی آب پنیر به آن برمی‌گردد. پنیر لاکتیکی ضمن آنکه مثل سایر پنیرها غنی از پروتئین، کلسیم و فسفر می‌باشد، علاوه بر آن به دلیل استفاده از باکتری‌های لاکتیکی جهت تخمیر شیر حاوی ویتامین‌های A و املاح معدنی با ارزش می‌باشد. یکی از مسائل مهم در تولید پنیر لاکتیکی 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 باریکروبی بسیار حیاتی می‌باشد [۵-۹].

باکتوفوگاسیون یکی از روش‌های جایگزین پاستوریزاسیون به حساب می‌آید. حدود ۹۸ تا ۹۹ درصد از سلول‌های سوماتیک، باکتری‌ها و اسپورهای باکتری‌ها را می‌توان یا سانتریفیوژ کردن 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 تأثیر 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 تأثیر نیروی گریز از مرکز به اطراف محفظه هدایت شده و وارد لجن شیر می‌شوند [۱۰-۱۲].

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

1. Coliform
2. Ultra High Temperature

مواد غیر لبنی است [۱۳]. خوشبختانه میکروارگانیسم‌های اسپورزای مقاوم به حرارت غالباً از سایر میکروارگانیسم‌ها سنگین‌تر بوده و به آسانی از شیر جدا می‌شوند. چون اسپورها به حرارت مقاوم هستند، باکتوفوگاسیون تکمیل‌کننده عملیات ترمیزاسیون، پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون می‌باشد. این دستگاه می‌تواند ۹۶ درصد اسپورها را از شیر حذف نماید. هم‌چنین 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 تک‌فازی که فقط یک مسیر خروجی در بالا برای شیری که تعداد باکتری‌های آن کاهش یافته است دارد. لاشه‌ی باکتری‌ها در محفظه‌ی رسوب‌گیر واقع در بدنه‌ی دستگاه جمع شده و در فواصل زمانی از پیش تعیین شده تخلیه می‌گردد. ب. دستگاه باکتوفوگاسیون دو فازی که دو مسیر خروجی در راس دستگاه دارد، یکی برای تخلیه‌ی مداوم لاشه‌ی باکتری‌های به هم فشرده شده و دیگری برای شیری که باکتری‌های آن کاهش یافته است. مقدار لاشه‌ی میکروارگانیسم‌ها از باکتوفوگاسیون دو فازی حدود ۳ درصد جریان ورودی بوده و این نسبت در باکتوفوگاسیون یک فازی کمتر و در حدود ۰/۱۵ درصد از جریان ورودی است. لجن دفعی از باکتوفوگاسیون علاوه بر لاشه‌ی میکروپها، حاوی ماده‌ی خشک بالاتری نسبت به شیر ورودی می‌باشد، زیرا مقداری از میسل‌های بزرگ کازئین 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 تک‌فازی حدود ۰/۱۵ 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 میکروارگانیسم‌ها 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. باقی‌مانده‌ی 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

خامه، به شیر اسکیم اضافه می‌شود. نحوه‌ی جداسازی چربی در سپراتور، براساس اختلاف دانسیته‌ی چربی شیر (۰/۹۳) و شیر پس‌چرخ (۱/۰۳۶) 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، شیرپس‌چرخ 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 لاکتیکی از شیری استفاده می‌شد که دو بار فرایند پاستوریزاسیون بر روی آن انجام می‌گرفت. این فرایند بدین صورت انجام می‌گرفت که ابتدا پاستوریزاسیون و سپس شیر وارد سپراتور و باکتوفوگاسیون می‌شد و این مرحله مجدد تکرار می‌شد. دلیل انجام دو مرحله‌ی فرایند حرارتی جلوگیری از آلودگی میکروبی و بد طعمی در طول دوره ماندگی پنیر لاکتیکی 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 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 بدست آمده از دستگاه‌های سپراتور و باکتوفوگاسیون می‌باشد. صنایع لبنی به‌طور کلی به‌عنوان 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 کازئین و باکتری‌هایی که توانایی تولید آنزیم پروتئاز را دارند، به‌عنوان 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

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

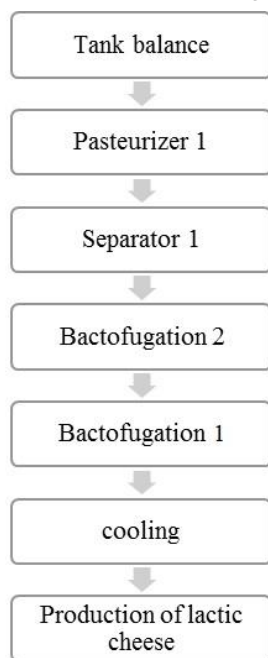


Fig 1 Schematic steps of the thermal process of lactic milk production

۲-۳-آزمون‌های میکروبی

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

۲-۳-۱-محیط کشت PCA

ابتدا به منظور شمارش کل باکتری‌ها از محیط کشت PCA استفاده شد. نمونه‌های لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون پس از رقیق‌سازی در محلول رینگر [۲۰]، با رقت‌های 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} به این محیط کشت تلقیح شدند. برای تشخیص تعداد باکتری‌های هوازی از باکتری‌های بی‌هوازی و یا بی‌هوازی 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 هدررفت شیر از طریق وارد شدن در لجن لبنی بررسی شد. در سپراتور و باکتوفوگاسیون خط ۱ زمان خروج لجن لبنی از ۲۰ دقیقه به ۲۱ دقیقه افزایش یافت و دما ثابت در نظر گرفته شده‌است.

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

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-نمونه برداری

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

۲-۲-مراحل انجام فرایند

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

شمارش کلی باکتریایی، شمارش اسپور هوازی (ترموفیل و مزوفیل) و شمارش اسپورهای بی‌هوازی انجام گرفت.

نتایج بدست‌آمده مربوط به نمونه‌های سال ۱۳۹۹ در نمودار ۲ ارائه شده است. در فصل بهار (۱۳۹۹/۰۱/۲۵) شمارش کل میکروبی (نمودار 2(a))، $CFU/mL \times 10^5$ در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی بود که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور به $CFU/mL \times 10^4$ رسیده است که نشان‌دهنده ۷۶/۳ درصد کاهش در تعداد شمارش کلی میکروبی و تفاوت معنی دار با نمونه های شیر خام موجود در تانک تعادل است. در مراحل باکتوفوگاسیون دوگانه ۱ و ۲ تعداد شمارش کلی به ترتیب به $CFU/mL \times 10^3$ و $CFU/mL \times 10^3$ رسیده است که به طور معنی داری در مقایسه با نمونه های شاهد، سبب کاهش ۶۵/۱ درصد و ۴۷/۹ درصد کاهش باریکروبی در نمونه شیر شده است ($P < 0.5$). به طور کلی مجموع فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه سبب کاهش ۹۶ درصد باریکروبی شده است.

در مورد تعداد اسپور بی‌هوازی (نمودار 2(b))، مراحل جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه ۱ و ۲، به ترتیب هر مرحله سبب کاهش ۷۹/۸، ۹۶/۸ و صفر درصد شده است و به طور کلی تمام این مراحل باعث کاهش ۹۹/۳ درصد تعداد اسپورهای بی‌هوازی شده است.

همچنین شمارش اسپورهای هوازی مزوفیل و ترموفیل نیز انجام شد (نمودار 2(c,d)). نتایج نشان می‌دهد که به ترتیب در تعداد اسپورهای هوازی ترموفیل ۷۳/۳، ۵۰ و ۵۰ درصد و اسپورهای هوازی مزوفیل ۳۴/۷۹، ۴۲/۴ و ۶۰/۲ 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 اسپورهای هوازی ترموفیل و مزوفیل ۹۳/۳ و ۸۵/۰۴ درصد به طور معنی داری کاهش یافته است ($P < 0.5$). در نمونه جمع‌آوری شده در فصل تابستان (۱۳۹۹/۰۴/۰۳) شمارش کل میکروبی در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی، $CFU/mL \times 10^5$ بود، که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور و دو مرحله باکتوفوگاسیون ۱ و ۲، شمارش میکروبی به ترتیب به $CFU/mL \times 10^4$ و $CFU/mL \times 10^3$ کاهش

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

۲-۳-۲- محیط کشت Skim Milk Agar

این محیط کشت حاوی ۲ درصد شیر پس چرخ و ۲ درصد آگار است [۲۱]. این محیط کشت در دو $pH = 9$ و $pH = 10$ تهیه گردید [۲۲]. نمونه‌های لجن شیر سپراتور و باکتوفیوژ پس از رقیق‌سازی در محلول رینگر، با رقت‌های 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} به این محیط کشت تلقیح و در دو دمای ۳۷ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. این مراحل برای نمونه‌هایی که تحت تیمار حرارتی ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفتند، نیز به منظور ایجاد شوک حرارتی به باکتری‌های اسپورزا و جداسازی آن‌ها انجام گرفت [۲۰].

۲-۳-۳- محیط کشت MRS

نمونه‌های لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون، پس از رقیق‌سازی در محلول رینگر و با رقت‌های 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} به محیط کشت MRS تلقیح و در دمای $37^\circ C$ گرمخانه‌گذاری شدند [۲۰].

۲-۳-۴- محیط کشت SDA

نمونه‌های لجن شیر سپراتور و باکتوفوگاسیون پس از تهیه‌ی رقت لازم در محلول رینگر [۲۰] و در رقت‌های 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} در این محیط کشت تلقیح و در دمای $25^\circ C$ گرمخانه‌گذاری گردیدند.

۲-۴- آنالیز آماری

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

۳- نتایج و بحث

بررسی ویژگی‌های میکروبی شیر فرایندشده در پاستوریزاتور، سپراتور و باکتوفوگاسیون نمونه های شیر مصرفی جهت تولید پنیر لاکتیکی مربوط در طول سال‌های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ در زمان‌های مختلف انجام شد (نمودار ۳ و ۲). در این پژوهش

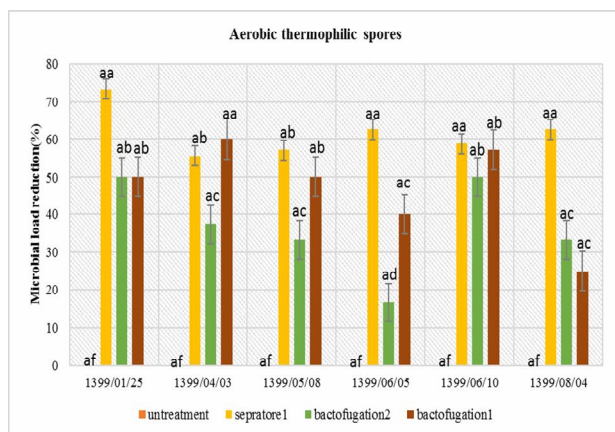
یافته است، که نشان‌دهنده به ترتیب ۶۶/۱، ۷۰/۹، ۲۳/۴ درصد کاهش معنی دار در تعداد شمارش کلی میکروبی است ($P < 0.5$). به طور کلی پس از طی این مراحل ۹۲ درصد بار میکروبی کاهش یافته است. این سه مرحله فرایند به ترتیب سبب کاهش ۷۷/۴، ۸۵/۷ و صفر درصد در تعداد اسپورزهای بی‌هوازی شده است. به طور کلی تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶/۸ درصد تعداد اسپورزهای بی‌هوازی شده است. فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه به ترتیب باعث کاهش معنی دار ۸۶/۴، ۷۰/۷، و صفر درصد به طور معنی داری کاهش یافته‌اند ($P < 0.5$) و در کل تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶ درصد تعداد اسپورهای بی‌هوازی شده است. نتایج شمارش تعداد اسپورزهای هوازی مزوفیل و ترموفیل نیز نشان می‌دهد که به ترتیب تعداد اسپورزهای هوازی ترموفیل ۶۲/۵، ۱۶/۷ و ۴۰ درصد و اسپورزهای هوازی مزوفیل ۵۲/۷۸، ۷۰/۶ و ۴۰ درصد در هر مرحله فرایند به طور معنی داری کاهش یافته‌اند. در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورزهای هوازی ترموفیل و مزوفیل ۸۱/۳ و ۹۱/۶۷ کاهش یافته است.

در تاریخ ۱۳۹۹/۰۶/۱۰ نمونه‌گیری انجام گرفته و نمونه پس از ذخیره‌سازی در تانک تعادل تحت تیمار به منظور کاهش بار میکروبی قرار گرفت. تعداد شمارش کلی میکروبی در تانک تعادل قبل از فرایند، 1.32×10^6 CFU/mL بود. پس از انجام فرایند جداسازی با استفاده از سپراتور تعداد شمارش کلی میکروبی تا 1.7×10^6 CFU/mL (۸۷/۳ درصد کاهش) کاهش یافته است. در مرحله باکتوفوگاسیون دو، شمارش کلی میکروبی 4.5×10^5 CFU/mL بود (۷۳/۴ درصد کاهش) و در مرحله باکتوفوگاسیون یک، شمارش کلی میکروبی تا 7×10^5 CFU/mL (۸۴/۴ درصد کاهش) کاهش یافته است که در مجموع ۹۹ 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 اسپورزهای بی‌هوازی پس از هر فرایند، به ترتیب ۹۰/۷، ۲۵ و صفر درصد کاهش مشاهده شده است و در مجموع ۹۳ درصد اسپورزهای بی‌هوازی در انتهای فرایند شیر کاهش یافته‌اند. تعداد اسپورهای هوازی ترموفیل به ترتیب ۵۸/۸، ۵۰ و ۵۷/۱ درصد پس از طی هر سه مرحله فرایند به طور موثری کاهش یافته‌اند و به طور کلی نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل ۹۱/۲ درصد کاهش یافته‌اند. همچنین در مورد

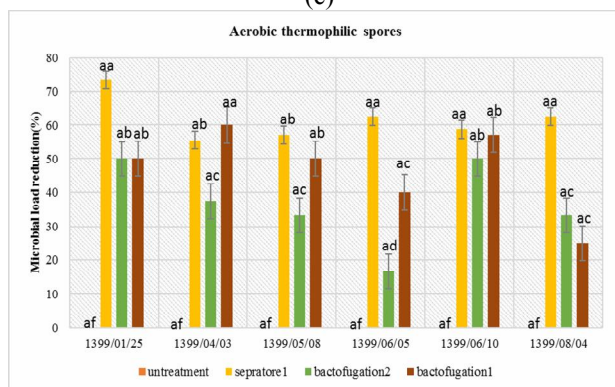
در بررسی‌های انجام شده بر روی نمونه شیر جمع‌آوری شده در فصل تابستان (۱۳۹۹/۰۵/۰۸) شمارش کل میکروبی در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی، 3.2×10^6 CFU/mL بود. پس از یک مرحله فرایند در سپراتور، تعداد شمارش میکروبی کل به 9.8×10^4 CFU/mL رسیده است و پس از باکتوفوگاسیون ۲ و ۱ تعداد شمارش کل میکروبی به 2.42×10^3 CFU/mL و 1.6×10^3 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 ۶۹/۴، ۷۵/۳ و ۳۳/۹ درصد رسید ($P < 0.5$) و ۹۲ درصد کاهش بار میکروبی پس از طی هر سه فرایند مشاهده شده است. هرکدام از این مراحل به ترتیب سبب ۸۳/۵، ۸۰ و صفر درصد کاهش در تعداد اسپورزهای بی‌هوازی شده‌اند و در کل تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶/۸ درصد تعداد اسپورزهای بی‌هوازی شده‌اند. فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه ۱ و ۲ به ترتیب باعث کاهش معنی دار ۵۷/۱، ۳۳/۳ و ۵۰ درصد در تعداد اسپورزهای هوازی ترموفیل (کل هر سه مرحله ۸۵/۷ درصد) و کاهش ۶۹/۲، ۴۸ و ۴۱/۷ درصد از تعداد اسپورزهای هوازی مزوفیل (۹۰/۶۷ درصد در کل سه مرحله) شده است ($P < 0.5$).

در فصل تابستان (۱۳۹۹/۰۶/۰۵) شمارش کل میکروبی 4.2×10^6 CFU/mL در شیر موجود در تانک تعادل قبل از فرایند حرارتی بود که پس از یک مرحله فرایند در سپراتور تا 1.05×10^4 CFU/mL کاهش یافت که نشان‌دهنده ۷۵ درصد کاهش معنی دار در تعداد شمارش کلی میکروبی است. در مراحل

یافته است، که نشان‌دهنده 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 اسپورزهای بی‌هوازی شده است. به طور کلی تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶/۸ درصد تعداد اسپورزهای بی‌هوازی شده است. فرایند جداسازی و باکتوفوگاسیون دوگانه به ترتیب باعث کاهش معنی دار ۸۶/۴، ۷۰/۷، و صفر درصد به طور معنی داری کاهش یافته‌اند ($P < 0.5$) و در کل تمام این مراحل باعث کاهش ۹۶ درصد تعداد اسپورهای بی‌هوازی شده است. نتایج شمارش تعداد اسپورزهای هوازی مزوفیل و ترموفیل نیز نشان می‌دهد که به ترتیب تعداد اسپورزهای هوازی ترموفیل ۶۲/۵، ۱۶/۷ و ۴۰ درصد و اسپورزهای هوازی مزوفیل ۵۲/۷۸، ۷۰/۶ و ۴۰ درصد در هر مرحله فرایند به طور معنی داری کاهش یافته‌اند. در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورزهای هوازی ترموفیل و مزوفیل ۸۱/۳ و ۹۱/۶۷ کاهش یافته است.



(c)

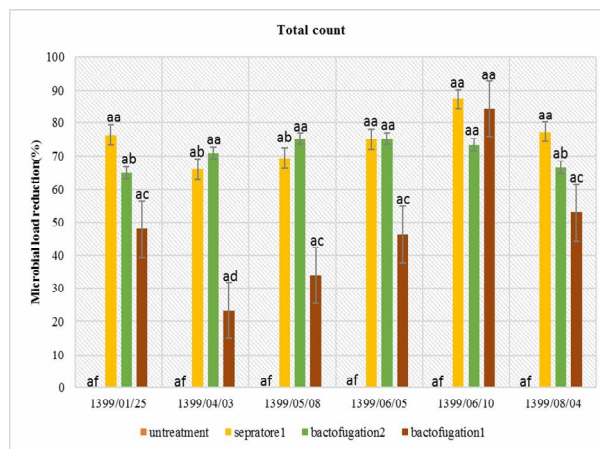


(d)

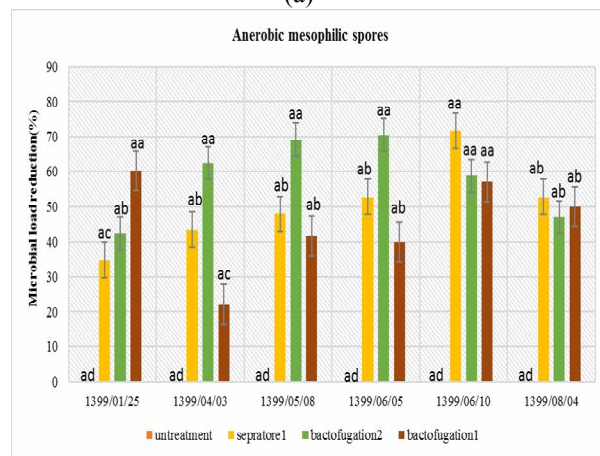
Fig 2 Comparison between the percentage of microbial load reduction (a: total microbial count, b: anerobic spores, c: aerobic mesophilic spores, d: aerobic thermophilic spores) in 1399. Data are expressed as mean± standard deviation (n= 3) and different letters show significant difference at the 5% level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

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

اسپورهای هوازی مزوفیل نیز در مرحله جداسازی با سپراتور، ۷۱/۶۷ درصد کاهش، در مرحله بکتوفوگاسیون دو، ۵۸/۸ درصد کاهش و در مرحله بکتوفوگاسیون یک، ۵۷/۱ درصد کاهش معنی دار نسبت به مرحله قبلی مشاهده شده است و در مجموع تعداد اسپورهای هوازی مزوفیل نسبت به شیر فرایند نشده، ۹۵ درصد کاهش یافته است. در این تاریخ با وجود آلودگی بالای نمونه شیر اما تا ۹۹ درصد بار میکروبی 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، 45×10^5 CFU/mL بود. پس از مرحله اول فرایند در سپراتور، تعداد شمارش میکروبی کل تا 1.02×10^4 CFU/mL کاهش یافت و پس از بکتوفوگاسیون دو و یک، تعداد شمارش کل میکروبی به ترتیب به 3.4×10^4 CFU/mL و 1.6×10^4 CFU/mL رسیده است.



(a)



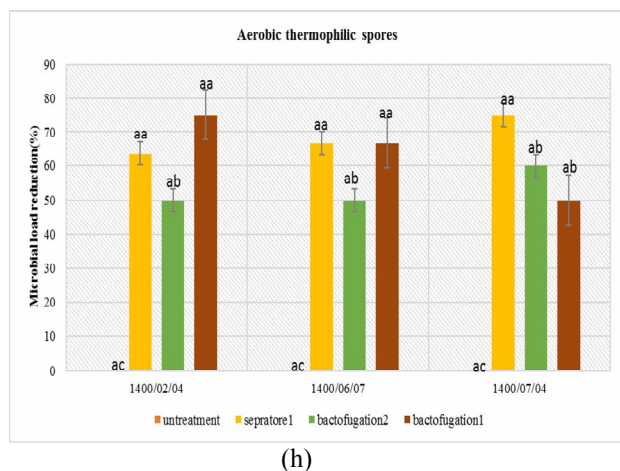
(b)

در مجموع ۸۷ درصد اسپورزهای بی‌هوازی در انتهای فرایند شیر کاهش یافته‌اند. تعداد اسپورهای هوازی ترموفیل به ترتیب ۶۶/۷، ۵۰ و ۶۶/۷ درصد پس از طی هر سه مرحله فرایند به طور معنی داری کاهش یافته‌اند و به طور کلی نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل ۹۴/۴ درصد کاهش یافته‌اند ($P < 0.5$). همچنین در مورد اسپورهای هوازی مزوفیل نیز در مرحله جداسازی با سپراتور ۴۷/۵۴ درصد کاهش، در مرحله باکتوفوگاسیون دو، ۵۶/۳ درصد کاهش و در مرحله باکتوفوگاسیون یک، ۲۸/۶ درصد کاهش نسبت به مرحله قبلی مشاهده شده‌است و در مجموع تعداد اسپورهای هوازی مزوفیل نسبت به نمونه شیر فرایند نشده ۸۳/۶۱ درصد کاهش یافته‌است.

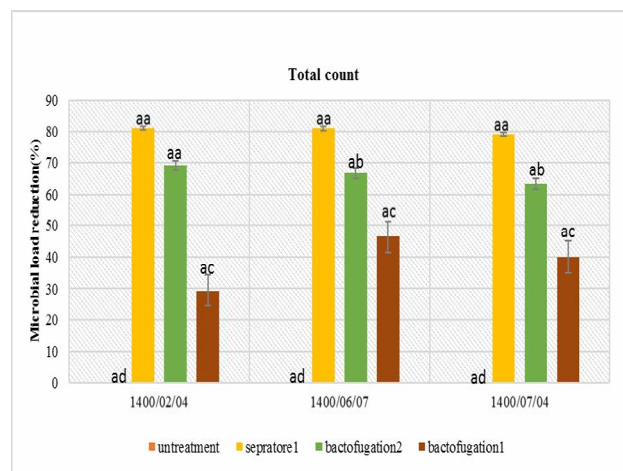
بررسی میکروبی نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده در تاریخ ۱۴۰۰/۰۷/۰۴ انجام شد. شمارش کلی میکروبی نمونه شیر فرایند نشده موجود در تانک تعادل انجام شده و تعداد CFU/mL 4×10^6 در این نمونه موجود بوده‌است. پس از یک مرحله فرایند در سپراتور تعداد در نمونه CFU/mL 84×10^4 شمارش شده‌است. پس از باکتوفوگاسیون دو، CFU/mL 28×10^4 و باکتوفوگاسیون یک، CFU/mL 82×10^4 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 اسپورهای بی‌هوازی نشان داده که به ترتیب پس از هر مرحله ۵۲/۲، ۷۲/۷ و صفر درصد اسپورهای بی‌هوازی کاهش یافته‌اند و نمونه فرایند شده نسبت به نمونه موجود در تانک تعادل تعداد اسپورهای بی‌هوازی آن ۸۷ درصد کاهش یافته‌است. نتایج شمارش تعداد اسپورهای هوازی مزوفیل و ترموفیل نیز نشان می‌دهد که به ترتیب تعداد اسپورهای هوازی ترموفیل ۷۵، ۶۰ و ۵۰ درصد و اسپورهای هوازی مزوفیل ۵۹/۴۶، ۶۰ و ۳۳/۳ درصد در هر مرحله فرایند کاهش معنی داری یافته‌اند ($P < 0.5$). در نهایت پس از طی هر سه فرایند، درصد اسپورهای هوازی ترموفیل و مزوفیل 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 دوگانه (۱ و ۲) انجام گرفت و پس از هر مرحله شمارش میکروبی انجام شد. براساس نتایج بدست آمده شمارش کلی میکروبی (نمودار ۳(e)) در نمونه شیر تانک تعادل، CFU/mL 58×10^6 بدست آمده‌است. پس از طی هر سه فرایند از هر کدام نمونه برداری انجام شده و تعداد شمارش کلی میکروبی به ترتیب CFU/mL 11×10^6 ، CFU/mL 34×10^4 و CFU/mL 24×10^4 بوده‌است که نشان دهنده کاهش معنی دار ۸۱، ۶۹/۱ 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 اسپورهای بی‌هوازی (نمودار ۳(f)) و هوازی (۳(g,h)) نیز پس از هر مرحله نشان می‌دهد که تعداد اسپورهای بی‌هوازی به ترتیب ۶۹/۱، ۶۶/۷ و صفر درصد پس از هر مرحله کاهش یافته‌اند و اسپورهای هوازی ترموفیل (نمودار ۳(h))، به ترتیب پس از هر مرحله فرایند ۶۳/۶، ۵۰ و ۷۵ درصد (و مزوفیل (نمودار ۳(g))، (به ترتیب ۵۴/۷۶، ۵۲/۶ و ۳۳/۳ درصد) نیز کاهش معنی دار یافته‌اند. همچنین تعداد کل اسپورهای بی‌هوازی، اسپورهای هوازی ترموفیل و اسپورهای هوازی مزوفیل به ترتیب پس از اتمام فرایندها ۹۳، ۹۵/۵ و ۸۵/۷۱ درصد به طور موثری کاهش یافته‌اند.

در تاریخ ۱۴۰۰/۰۶/۰۷ نمونه پس از ذخیره‌سازی در تانک تعادل تحت فرایند به منظور کاهش بار میکروبی قرار گرفت. تعداد شمارش کلی میکروبی در تانک تعادل قبل از فرایند CFU/mL 39×10^6 بود. پس از انجام فرایند جداسازی با استفاده از سپراتور تعداد شمارش کلی میکروبی تا CFU/mL 82×10^4 (۷۹ درصد کاهش) کاهش یافته‌است. در مرحله باکتوفوگاسیون دو، شمارش کلی میکروبی CFU/mL 30×10^4 بود (۶۳/۴ درصد کاهش) و در مرحله باکتوفوگاسیون یک، شمارش کلی میکروبی تا CFU/mL 18×10^4 (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 اسپورهای بی‌هوازی پس از هر فرایند، به ترتیب ۶۹/۶، ۵۷/۱ و صفر درصد کاهش مشاهده شده است و



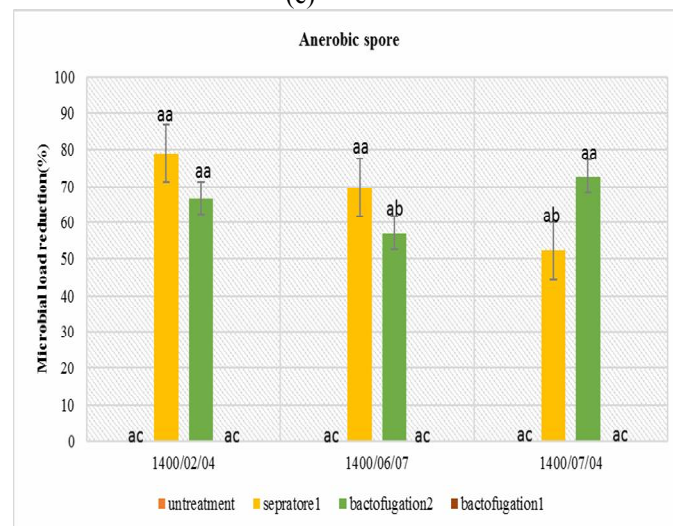
(h)



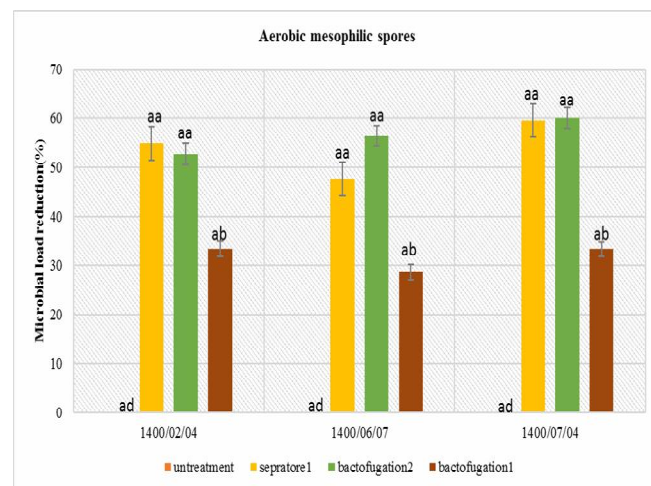
(e)

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، اسپوره‌های بی‌هوازی و اسپوره‌های هوازی ترموفیل و مزوفیل) بیانگر این است که به طور کلی درصد کاهش بار میکروبی در هر دو سال ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰ توسط سپراتور بیش از بکتوفوگاسیون دوگانه است و بکتوفوگاسیون ۱ بیش از ۲ می‌باشد. درصد کاهش کل بار میکروبی در تمام نمونه‌ها بیش از ۹۵ درصد می‌باشد. نمونه‌های شیر در شهریورماه سال ۱۳۹۹ و مهرماه سال ۱۴۰۰ به ترتیب حاوی بیشترین تعداد میکروارگانیسم در نمونه بوده‌اند و فرایندهای تیمار غیرحرارتی انجام شده بر روی این نمونه‌ها سبب کاهش ۹۹ و ۹۷ درصد شمارش کلی میکروبی شده است، که این امر نشان می‌دهد که در آلودگی بالا هم این روش‌ها، به خوبی قادر به کاهش بار میکروبی نمونه‌های شیر هستند. با توجه به نتایج بدست آمده، مشاهده می‌شود که افزایش زمان هر مرتبه خروج لجن لبنی سبب کاهش فاضلاب تولیدی کارخانه شده است، اما تأثیری بر افت کیفیت میکروبی شیر تولیدی نداشته است. یعنی یک تعادل بین زمان خروج لجن لبنی و کاهش بار میکروبی ایجاد شده است. پنیرها با دو روش اصلی اسیدی کردن شیر یا استفاده از آنزیم پنیرسازی تولید می‌شوند. برخی از پنیرها به وسیله باکتری‌ها انجام می‌شود و در واقع، همان



(f)



(g)

بادکردگی دیررس پنی‌ر شوند. این مساله اهمیت انجام باکتوفوگاسیون را در شیر مورد استفاده جهت پنی‌سازی 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 میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا بدون تغییر در رنگ، طعم و خواص تغذیه‌ای آن می‌باشد و از ایجاد تغییرات و از بین رفتن ترکیبات غذایی حساس به حرارت مانند ویتامین‌ها جلوگیری می‌کند. در مقایسه با نمونه‌ای که دو بار عملیات پاستوریزاسیون بر روی آن انجام شده، این روش بدون استفاده از حرارت بیش از حد، در کاهش بار میکروبی بسیار موثر بوده است. به طور کلی استفاده ترکیبی از چند روش 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 مزوفیل، سایکروتروف و گرمادوست و پتانسیل آن به عنوان یک روش فناورانه برای حذف میکروارگانیسم‌های عامل فساد مقاوم به پاستوریزاسیون دسته‌های مختلف شیر خام از ۶۹ مزرعه لبنی که به مجموعه‌هایی در ۳ مخزن حجیم A، B و C تقسیم شده‌اند، را در زمان‌های مختلف در طول فرآیند فن‌آوری مورد ارزیابی قرار دادند. از آنجایی که شیر خام بلافاصله قبل از باکتوفوگاسیون از قبل (۵۵ درجه سانتیگراد) گرم شده بود، اثر باکتوفوگاسیون با مقایسه تعداد شیر خام، از پیش گرم شده و باکتوفورژ شده تخمین زده شد. این سانتریفیوژ 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 استارترهایی 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 لاکتیک است. پاستوریزاسیون شیر (حرارت‌دهی در دمای ۷۴-۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه) میکروارگانیسم‌های پاتوژن و عامل فساد را تخریب می‌کند و مهم‌ترین تیمار حرارتی به کار گرفته شده برای شیر پنی‌سازی می‌باشد که باعث ایمنی قابل قبول و بهبود کیفیت پنی‌ر حاصل می‌شود. با این وجود پاستوریزاسیون تاثیر جانبی 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 باکتوبیولوژیکی سایر فرآورده‌های شیری نظیر پنی‌ر، پودر آب پنی‌ر مورد استفاده در غذای کودک و پودر شیر بهره‌گیری می‌شود. بعضی از باکتری‌ها و به ویژه اسپورها مقاوم به حرارت به طور مشخصی چگالی بیشتری از شیر دارند. باکتوفوگاسیون در اصل فرایندی جهت پاک‌سازی شیر از وجود این باکتری‌ها می‌باشد. چون اغلب این اسپورها مقاوم به حرارت می‌باشند. باکتوفوگاسیون در حقیقت مکمل فرایند‌های حرارتی خواهد بود. اصول کار باکتوفوگاسیون همان اصول کار جداکننده‌های گریز از مرکز می‌باشد. لاشه باکتری‌ها ممکن است بصورت مداوم و همزمان با شیر خارج شود (باکتوفوگ‌های دو فازی که دارای دو خروجی جهت شیر و سیال دفعی می‌باشند) و یا اینکه لاشه‌ها در فضای رسوب گیر در داخل کاسه سانتریفیوژ جمع شده و در فاصله‌های 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 کلاستریدیوم (اسپورهای بی‌هوازی) 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 باکتوفیوژ برای جداسازی میکروارگانیسم‌ها استفاده شد، که به خوبی باریک‌بینی شیر کاهش یافته و برای تولید پنیر لاکتیکی به کار برده شد. براساس نتایج بدست آمده، این فرایند، قادر به کاهش موثر در بار میکروبی شیر تا حدود ۹۸ درصد گردید و این امر موجب کاهش برگشت شیرهای فساد شده به کارخانه لبنی شده است.

۵- تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب با کد ۳/۵۵۹۰۵ در دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

۶- منابع

- [1] Hassan, A., & Frank, J. (2011). Microorganisms associated with milk.
- [2] Agarwal, A., Pathera, A. K., Kaushik, R., Kumar, N., Dhull, S. B., Arora, S., & Chawla, P. (2020). Succinylation of milk proteins: Influence on micronutrient binding and functional indices. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 254-264.
- [3] Vithanage, N. R., Dissanayake, M., Bolge, G., Palombo, E. A., Yeager, T. R., & Datta, N. (2017). Microbiological quality of raw milk attributable to prolonged refrigeration conditions. *Journal of Dairy Research*, 84(1), 92-101.
- [4] Yang, C., Zhao, F., Hou, Q., Wang, J., Li, M., & Sun, Z. (2020). PacBio sequencing reveals bacterial community diversity in cheeses collected from different regions. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1238-1249.
- [5] Júnior, P. H. R., de Sá Oliveira, K., de Almeida, C. E. R., De Oliveira, L. F. C., Stephani, R., da Silva Pinto, M., de Carvalho, A. F., & Perrone, Í. T. (2016). FT-Raman and chemometric tools for rapid determination of quality parameters in milk powder: Classification of samples for the presence of

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

۴- نتیجه گیری کلی

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

- 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., & Haghi, M. (2011). Bactofugation of Liquid Milks; a Mechanical procedure to reduce bacteria in dairy product. The First International Congress of Medical Bacteriology,
- [26] Toloue Naddaf Abkouhi, M., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, S. A., & Edalatian, M. (2019). Identification of Alkaline Protease Producing Bacilli from Sludge of Bactofuge and Separator Using Culture-Based and Molecular Techniques. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 21(7), 1819-1830.
- lactose and fraud detection by addition of maltodextrin. *Food Chemistry*, 196, 584-588.
- [6] Özer, B., & Yaman, H. (2014). Milk and milk products: microbiology of liquid milk. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*.
- [7] Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). *Fundamentals of cheese science*. Springer.
- [8] Kilcawley, K., Wilkinson, M., & Fox, P. (2000). A survey of the composition and proteolytic indices of commercial enzyme-modified Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 10(3), 181-190.
- [9] Lemieux, L., & Simard, R. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Le Lait*, 72(4), 335-385.
- [10] Faccia, M., Gambacorta, G., Martemucci, G., Natrella, G., & D'Alessandro, A. G. (2018). Technological attempts at producing cheese from donkey milk. *Journal of Dairy Research*, 85(3), 327-330.
- [11] Karataş, A. (2018). Dairy products added to rearing media negatively effect *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) egg production and larval development. *Journal of Insect Science*, 18(6), 7.
- [12] Ribeiro-Júnior, J., Tamanini, R., Alfieri, A., & Beloti, V. (2020). Effect of milk bactofugation on the counts and diversity of thermophilic bacteria. *Journal of Dairy Science*, 103(10), 1-12.
- [13] McCarthy, O. (2011). Plant and Equipment| Centrifuges and Separators: Applications in the Dairy Industry.
- [14] Gésan-Guiziou, G. (2010). Removal of bacteria, spores and somatic cells from milk by centrifugation and microfiltration techniques. In *Improving the safety and quality of milk* (pp. 349-372). Elsevier.
- [15] Dhungana, P., Truong, T., Bansal, N., & Bhandari, B. (2022). A novel continuous method for size-based fractionation of natural milk fat globules by modifying the cream separator. *International Dairy Journal*, 125, 105209.
- [16] Kumar, C. G., & Takagi, H. (1999). Microbial alkaline proteases: from a



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

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

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

ARTICLE INFO

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 bactofuge 1 to 21 minutes to reduce dairy sludge.