

## بررسی آلودگی بار میکروبی کل، کلی فرم و اشرشیا کلی شیر خام از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه در استان لرستان

بهروز یاراحمدی<sup>1</sup>، حمیدرضا مهدوی<sup>2</sup>، اعظم مؤیدی نژاد<sup>3</sup>

1- مربی، گروه فرآورده های دامی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان

2- استادیار، گروه فرآورده های دامی، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج

3- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی همدان

یافته / دوره دهم / شماره 3 / پاییز 87 / مسلسل 37

### چکیده

دریافت مقاله: 87/4/3، پذیرش مقاله: 87/6/13

**مقدمه:** کیفیت اولیه شیر خام متأثر از عواملی همچون تغذیه دام، سلامتی دام، ترکیب شیمیایی شیر و فعالیت میکروب موجود در آن بوده که بر روی محصولات نهایی تأثیرگذار می باشد. بنابراین کیفیت شیر خام به مدت زمان و شرایطی که شیر از تولید تا تحویل به کارخانه طی می کند بستگی تمام دارد. در استان لرستان 97% شیر تولیدی گاوها از واحدهای کوچک و روستایی بدست می آید. پژوهش فوق با هدف بررسی کانون های آلودگی شیرخام و شناخت نقاط بحرانی آلودگی شیر خام از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه در سال 1382 انجام گرفت.

**مواد و روش ها:** جهت نمونه گیری از شیرخام مراکز با ظرفیت جمع آوری شیر بیش از 3 تن، 1/5 تا 3 تن و کمتر از 1/5 تن به عنوان مراکز با ظرفیت بالا، متوسط و کم تعیین گردید. مراحل نمونه برداری شامل نمونه گیری از شیر پستان، ظروف جمع آوری و نگهداری شیر، مخزن ماشین سیار جمع آوری، مخزن سردکن مرکز جمع آوری و از تانکر حمل شیر به کارخانه بود. آزمایش شمارش کلی بار میکروبی (TC) و آزمایشهای شیمیایی شامل میزان اسیدیته و pH شیر بود. کل نمونه جمع آوری شده در هر ماه 45 نمونه و در طی 12 ماه 540 نمونه جمع آوری گردید. داده ها جهت تجزیه و تحلیل آمار به لگاریتم درپایه 10 تغییر یافته و توسط نرم افزار SPSS 11.5 با استفاده از روش (GLM) آنالیز واریانس گردید.

**یافته ها:** میانگین بار میکروبی (TC) در کلیه فصول سال  $6/43 \pm 0/37$  cfu/ml بود. اثر ماههای مختلف سال، مراحل مختلف نمونه گیری از شیر و ظرفیت مراکز جمع آوری بر روی بار میکروبی کل، کلی فرم و اشرشیا کلی کاملاً معنی دار بود ( $p < 0/01$ ). نتایج نشان داد کمترین بار میکروبی در دی ماه با  $6/31 \pm 0/38$  cfu/ml و بیشترین بار میکروبی در مرداد ماه بامیزان  $6/57 \pm 0/31$  cfu/ml بود. نتایج نشان داد کاهش بار میکروبی از شهریور ماه شروع و در دی و بهمن به کمترین میزان می رسید. نتایج همچنین نشان داد بیشترین میزان باکتریهای کلی فرم و اشرشیا کلی در شهریور ماه بوده و کمترین میزان کلی فرم در شیر خام در دی و بهمن و اشرشیا کلی در بهمن و اسفند ماه بود. ضرایب همبستگی نشان داد بین بار میکروبی با کلی فرم ( $r=0/90$ ) و با اشرشیا کلی ( $r=0/79$ )، همبستگی مثبت و معنی داری وجود داشت ( $p < 0/01$ ).

**بحث و نتیجه گیری:** بطور کلی مشکل مهم جمع آوری شیر در استان لرستان، دوری برخی مراکز جمع آوری شیر و مدت زمان طولانی انتقال شیر از این مراکز تا کارخانه شیر بوده، که بعنوان یکی از علل مهم افزایش بار میکروبی کل از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه می باشد. علاوه بر این امکانات ارتباطی محدود برخی از روستاها باعث افزایش بار میکروبی شیر خام در این مناطق گردیده است.

**کلید واژه ها:** شیر خام، بار میکروبی، کلی فرم، اشرشیا کلی

آدرس مکاتبه: خرم آباد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان

پست الکترونیک: Behrouzy@Gmail.com

## مقدمه

در صنعت شیر کیفیت رکن اساسی است که متخصصین ارزش آن را بالاتر از کمیت (تولید) قلمداد می کنند. کیفیت شیر در کلیه مراحل تولید، جمع آوری و نگهداری تا تولید محصول تأثیرگذار بوده و عدم رعایت الزامات کیفی باعث کاهش بازده تولید و عملکرد محصولات خواهد شد. در این بین عدم آشنایی دامداران با اصول بهداشتی تولید شیر و شیوه های صحیح نگهداری آن منجر به هدر رفتن بسیاری از سرمایه های دامی و نیروی کار دامداران می شود. کیفیت اولیه شیر خام متأثر از عواملی همچون تغذیه و سلامتی دام، ترکیب شیمیایی شیر و فعالیت میکروبی موجود در آن بوده که بر روی فرآورده های نهایی تأثیر گذار می باشد. بنابر این کیفیت شیر خام به مدت زمان و شرایطی که شیر از تولید تا تحویل به کارخانه طی می کند بستگی تمام دارد. شیری که از پستان گاو سالم دوشیده می شود فاقد باکتری می باشد ولی غالباً با انواع میکروبها و استرپتوکوکهایی که معمولاً در مجاری شیر و ابتدای پستان به سر می برند آلوده می شود. تعداد باکتریها در شیر تازه از چند صد تا چند هزار در هر میلی لیتر شیر متغیر است ولی در شرایط غیر پاستوریزه برای بهداشت و سلامت انسان خطرناک می باشد. روشهای سالم سازی شیر متکی به اصل جلوگیری از رشد و نمو میکروبها و در نتیجه حفظ و نگهداری کیفیت غذایی آن می باشد. عوامل مهم آلودگی باکتریایی شیر شامل گاوهای ورم پستانی، آلودگی سطوح داخلی و خارجی پستان گاو، شستشوی نامناسب وسایل شیردوشی و نگهداری شیر در دماهای نامناسب می باشند (1، 15، 16، 24، 26، 33، 36). بار میکروبی کل بعنوان یکی از جنبه های مهم پیش بینی سلامت گاو و بهداشت شیر دوشی بوده و نشانگر نگهداری مناسب شیر و ذخیره آن در دمای پایین می باشد (8). جایارائو<sup>1</sup> و همکاران (2004) در شمارش باکتریهای توتال کانت و کلی فرم در نمونه شیر 126 مزرعه گاو

شیری در پنسیلوانیای آمریکا نتیجه گرفتند که مدیریت و نظارت مناسب بر بهداشت پستان گاوهای گله در بهبود کیفیت شیر خام مؤثر می باشد (28).

در آمریکا TBC بالاتر از 100000 cfu/ml بعنوان شیر با کیفیت پایین طبقه بندی می شود (36). باکتری های کلی فرم، باسیل های گرم منفی، بدون اسپور، میله ای شکل، هوازی یا بیهوازی اختیاری هستند که قادرند در دمای 30 الی 37 درجه سانتی گراد در مدت 24 الی 48 ساعت لاکتوز را تخمیر کرده و گاز و اسید تولید نمایند (3، 13). منبع اصلی این گروه باکتریها روده حیوانات خون گرم است. گونه های غیر روده ای نیز در این گروه یافت می شود. گروههای مختلف کلی فرم ها شامل: الف- گروه آنترو باکتر کلسیلا و سراسیبا - گروه سیترو باکتر شامل ادوارد سیلا<sup>2</sup> و آریزونا<sup>3</sup> ج- گروه پروویدنسیا (13). مهمترین گروه از گونه های شناخته شده شامل آنترو باکتر کلسیلا می باشد. این گروه از باکتری ها در حرارت پاستوریزه از بین می روند و در محصولات پاستوریزه بعنوان شاخص بهداشتی وجود آلودگی ثانوی مورد بررسی قرار می گیرند (3). کلی فرم ها در مورد فرآورده های خام اهمیت نداشته و فقط می توانند به عنوان درجه بندی میزان آلودگی مورد بررسی قرار گیرند. اشرشیا کلی عضو خانواده اینترو باکتریاسی<sup>4</sup> می باشد و قادر به تخمیر لاکتوز و تولید اسید و گاز هستند جنس *Escherichia* شامل شش گونه است که جنس اشرشیا کلی<sup>5</sup> گونه شاخص آن می باشد (14، 30).

اشرشیاکلی معمولترین ارگانسیم هوازی در دستگاه گوارش انسان و برخی از حیوانات دیگر است و شاخص آلودگی مواد غذایی و آب به مدفوع می باشد. طبق گزارشهای موجود اشرشیاکلی از طریق آب، گوشت، شیر و فرآورده های آن به انسان منتقل می

- |                |                        |
|----------------|------------------------|
| 1. Jayarao     | 4. Entero bocteriaceae |
| 2. Edwadsielli | 5. E. coli             |
| 3. Arizona     |                        |

گیری از شیر پستان، ظرف، بیدون کلی یا شیر سردکن، مخزن ماشین سیار جمع آوری، مخزن سردکن مرکز جمع آوری و از تانکر حمل شیر کارخانه بود. آزمایشهای میکروبی شامل: شمارش کلی میکروبی<sup>1</sup>، کلی فرم<sup>2</sup> و اشرشیاکلی مطابق استانداردهای تدوین شده توسط استاندارد های شماره 356 (1346)، 2852 و 2629 (1368)، بر روی نمونه ها انجام شد. جهت شمارش باکتریهای شیر از شمارش مستقیم میکروسکوپی، پلیت استاندارد (SPC) یا روش شمارش کلی باکتریایی (TBC) که عموماً به عنوان معرف شرایط بهداشتی شیر در طی فرآیند تولید و فرآوری استفاده می شود (15، 28) . برای باکتریهای کل (TC) با استفاده از محیط کشت<sup>3</sup> در دمای انکوباسیون  $31 \pm 1^\circ \text{C}$  و به مدت 72 ساعت نگهداری شدند. در این طرح بدلیل تعداد فراوان نمونه ها و حجم بالای محیط کشت مصرفی جهت تشخیص و تعیین باکتری اشرشیاکلی و کلیفرم به جای استفاده از روش MPN از محیط کشت کروم آگار (ECC) برای تشخیص کلی فرم ها و اشرشیا کلی و VRB استفاده شد.

برای تشخیص و تعیین میزان باکتریهای سرماگرادر مراحل مختلف از محیط کشت اسکیم میلک آگار<sup>4</sup> در دمای 6 درجه سانتی گراد و بمدت 10 روز استفاده گردید. جهت شمارش باکتری های شیر با استفاده از رقت های مختلف تعداد کلنی های تشکیل شده بر حسب CFU<sup>5</sup> در هر میلی لیتر شیر خام توسط دستگاه Colony Counter مورد شمارش قرار گرفت. کل نمونه ها در هر ماه 45 نمونه و در 12 ماه 540 نمونه بود. داده های پس از کد گذاری و استخراج در نرم افزار Excel ذخیره گردیده و پس از باز بینی مجدد داده های حاصل بصورت LOG درپایه 10 تغییر

شود. مواد غذایی پخته چنانچه مجدداً آلوده نشوند عاری از آلودگی هستند زیرا این باکتری در حرارت 55 درجه سانتی گراد از بین می رود (3، 13، 17، 30). کل شیر تولیدی گاوها در دنیا بر اساس آمار FAO (2004) به میزان 515/84 میلیون تن و در کشور ما در سال 1383 میزان تولید شیر خام 6/72 میلیون تن بود (6، 20). استان لرستان با 6/5 میلیون واحد دامی و 85 هزار بهره بردار نقش مهمی در دامپروری و اقتصاد کشور دارا می باشد بطوریکه 5% جمعیت دامی کشور را به خود اختصاص داده است. استان لرستان با 229 هزار تن تولید شیر در سال 1382 به میزان 7% نرخ رشد در زمینه تولید شیر نسبت به سال 1381 داشته است، که این مقدار شیر از 40917 گاو اصیل 141338 گاو دورگ و 155227 گاو بومی استحصال شده است. این میزان شیر تولیدی برای گاوهای اصیل، دورگ و بومی به ترتیب 26/81، 44/8، 10/7% بوده است. تقریباً 97% تولید شیر از واحدهای کوچک و روستایی بدست آمده و در طی سالهای گذشته تعداد 87 مرکز جمع آوری شیر با ظرفیت 398 تن در سطح شهرستانهای استان لرستان ایجاد شده است (2، 5). در این خصوص در استانهای با ظرفیت تولید شیر بالا که عمدتاً شیر تولیدی از مناطق روستایی جمع آوری می شود، تحقیقات چندانی صورت نگرفته است. در این پژوهش هدف بررسی اثرات فاکتورهایی از قبیل ماه و ظرفیت مراکز جمع آوری شیر و مراحل مختلف نگهداری و حمل شیر بر روی کیفیت باکتریولوژیکی شیر شامل بار میکروبی کل، کلی فرم و اشرشیا کلی از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه بوده تا بتوان کانون های مهم آلودگی شیرخام در این پروسه تعیین شود.

## مواد و روشها

جهت بررسی فلور میکروبی شیرخام استان لرستان، شیرخام تحویلی توسط مراکز با ظرفیت جمع آوری شیر بیش از 3 تن، بین 1/5 تا 3 تن و کمتر از 1/5 تن به عنوان مراکز با ظرفیت بالا، متوسط و کم و مراحل نمونه برداری شامل نمونه

1. TC

4. SkimMilkAgar

2. Coliform

5. Colony Forming Unit

3. Plate Count Agar

میکروبی به ترتیب با میزان  $5/81 \pm 0/23$  cfu/ml و  $6/81 \pm 0/1$  cfu/ml بود (جدول 2). اثرات متقابل ظرفیتهای مختلف جمع آوری شیر توسط مراکز جمع آوری شیر در مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر نشان داد کمترین بار میکروبی در مرحله شیر تازه دوشیده گاو در مراکز کم و متوسط ظرفیت با میزان  $5/77 \pm 0/14$  cfu/ml و  $5/79 \pm 0/13$  cfu/ml بوده و بیشترین بار میکروبی در مرحله شیر تحویلی به کارخانه در مراکز پر ظرفیت با میزان  $6/89 \pm 0/07$  cfu/ml بود. وضعیت بار میکروبی در جمع آوری شیر نشان داد از نظر بار میکروبی بین مراکز کم و متوسط ظرفیت با میزان  $6/39 \pm 0/34$  cfu/ml و  $6/40 \pm 0/38$  cfu/ml اختلاف معنی دار مشاهده نشد ( $p > 0/01$ ). ولی مراکز پر ظرفیت با  $6/50 \pm 0/39$  cfu/ml بیشترین بار میکروبی را داشتند (جدول 3).

اثرات متقابل ماههای مختلف سال در ظرفیت های مختلف مراکز جمع آوری شیر نشان داد پایین ترین میزان بار میکروبی کل در دی ماه و در مراکز با ظرفیت کم به میزان  $6/25 \pm 0/045$  cfu/ml پر ظرفیت و در مرداد ماه با میزان  $6/76 \pm 0/19$  cfu/ml بود. بر اساس نتایج حاصله اثرات ماههای سال در مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر نمایانگر این موضوع بود که شیر تازه دوشیده گاو در تمام فصول سال دارای کمترین میزان بار میکروبی بود، بین بار میکروبی کل شیر با باکتریهای اشرشیا کلی و باکتریهای کلی فرم همبستگی مثبت معنی داری وجود داشته است ( $p < 0/01$ ). بطوریکه ضرایب همبستگی به ترتیب برابر  $0/79$ ،  $0/90$  بود.

یافته (23، 29) و توسط نرم افزار SPSS 11.5 با استفاده از روش GLM<sup>1</sup> و روند Multivariate آنالیز واریانس گردید. مدل آماری به شرح ذیل می باشد:

$$Y_{ijklm} = m + Li + Rj + Sk + e_{ijkl}$$

$m$  = میانگین صفت مشاهده شده

$Li$  = اثر (گروه بندی بر حسب میزان تولید) سطح ظرفیت

$$i = 1, 2, 3$$

$Rj$  = اثر مرحله نمونه گیری

$$j = 1, 2, 3, 4, 5$$

$S k$  = اثر ماه

$e_{ijkl}$  = اشتباه آزمایشی

## یافته ها

### 1- بار میکروبی کل

نتایج آزمایشها نشان داد میانگین بار میکروبی (TC) در کلیه فصول سال در استان لرستان  $6/43 \pm 0/37$  cfu/ml بود. اثر ماههای مختلف سال و مراحل مختلف نمونه گیری از شیر بر روی بار میکروبی کل کاملاً معنی دار بود ( $p < 0/01$ ). اثر ظرفیت های مختلف جمع آوری شیر بر روی بار میکروبی کل و اثرات ماههای مختلف سال بر مراحل مختلف نگهداری و حمل شیر کاملاً معنی دار بود ( $p < 0/01$ ). مقایسه میانگین ها نشان داد کمترین بار میکروبی در دی ماه با  $6/31 \pm 0/38$  cfu/ml و بیشترین بار میکروبی در مرداد با میزان  $6/57 \pm 0/31$  cfu/ml بود و روند کاهش بار میکروبی از شهریور ماه شروع و در دی و بهمن به کمترین مقدار رسید (جدول 1). بین مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر از نظر میزان بار میکروبی اختلاف کاملاً معنی داری وجود داشت ( $p < 0/01$ ). میانگین وانحراف معیار بار کل میکروبی نشان داد از مرحله دوشش شیر تا تحویل به کارخانه، میزان بار میکروبی در شیر دوشش گاو و شیر تحویلی به کارخانه به ترتیب دارای کمترین و بیشترین بار

جدول شماره 1 - میانگین و خطای معیار ( $\bar{X} \pm SE$ ) بار میکروبی، کلی فرم و اشرشیا کلی شیر خام در ماههای مختلف سال

ماه	اشرشیا کلی <sup>3و2</sup>	کلی فرم <sup>3و2</sup>	بار میکروبی کل <sup>3و2</sup>
فروردین	2/72±0/59b	4/30±1/14b	6/39±0/35 c
اردیبهشت	2/83±0/61c	4/39±1/11c	6/39±0/38c
خرداد	3/02±0/63d	4/65±1/08de	6/44±0/37de
تیر	3/78±0/55e	4/73±1/06f	6/46±0/36ef
مرداد	3/82±0/55ef	5/01±1/09h	6/57±0/31h
شهریور	3/84±0/56f	4/79±1/09g	6/54±0/35gh
مهر	3/77±0/56e	4/71±1/06ef	6/47±0/44ef
آبان	3/02±0/63d	4/62±1/05d	6/49±0/36fg
آذر	2/74±0/66b	4/38±1/09bc	6/35±0/34 ab
دی	2/73±0/65b	4/08±1/14a	6/31±0/38a
بهمن	2/63±0/60a	4/08±1/15a	6/33±0/41ab
اسفند	2/65±0/61a	4/25±1/14b	6/38±0/37bc

1- حروف متفاوت در ستون ها نشانه اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0/01$  می باشد. 2- نتایج بصورت  $\text{Log}_{10}$  می باشد. 3- واحد cfu/ml

جدول شماره 2 - میانگین و خطای معیار ( $\bar{X} \pm SE$ ) بار میکروبی، کلی فرم و اشرشیا کلی شیر خام بر حسب مراکز جمع آوری شیر

ظرفیت مراکز	بار میکروبی کل <sup>3و2</sup>	اشرشیا کلی <sup>3و2</sup>	کلی فرم <sup>3و2</sup>
کم	6/39 ± 0/34 <sup>a</sup>	3/09 ± 0/77 <sup>a</sup>	4/45 ± 1/15 <sup>a</sup>
متوسط	6/40 ± 0/38 <sup>a</sup>	3/12 ± 0/77 <sup>b</sup>	4/49 ± 1/12 <sup>b</sup>
زیاد	6/50 ± 0/39 <sup>b</sup>	3/18 ± 0/76 <sup>c</sup>	4/56 ± 1/11 <sup>c</sup>

1- حروف متفاوت در ستون ها نشانه اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0/01$  می باشد. 2- نتایج بصورت  $\text{Log}_{10}$  می باشد. 3- واحد cfu/ml

جدول شماره 3 - میانگین و خطای معیار ( $\bar{X} \pm SE$ ) بار میکروبی، کلی فرم و اشرشیا کلی شیر خام از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه

مراحل جمع آوری شیر	شیر دوشش گاو	ظروف جمع آوری	ماشین جمع آوری	شیر سردکن	شیر تحویلی به کارخانه
بار میکروبی کل <sup>3و2</sup>	5/81 ± 0/23 <sup>a</sup>	6/38 ± 0/18 <sup>b</sup>	6/53 ± 0/10 <sup>c</sup>	6/65 ± 0/09 <sup>d</sup>	6/81 ± 0/10 <sup>e</sup>
اشرشیا کلی <sup>3و2</sup>	2/17 ± 0/55 <sup>a</sup>	2/87 ± 0/51 <sup>b</sup>	3/17 ± 0/48 <sup>c</sup>	3/58 ± 0/48 <sup>d</sup>	3/86 ± 0/48 <sup>e</sup>
کلی فرم <sup>3و2</sup>	2/75 ± 0/24 <sup>a</sup>	3/96 ± 0/45 <sup>b</sup>	4/65 ± 0/50 <sup>c</sup>	5/32 ± 0/19 <sup>d</sup>	5/82 ± 0/16 <sup>e</sup>

1- حروف متفاوت در ردیف ها نشانه اختلاف معنی دار در سطح  $p < 0/01$  می باشد. 2- نتایج بصورت  $\text{Log}_{10}$  می باشد. 3- واحد cfu/ml

## 2- کلی فرم

آنالیز واریانس نشان داد میانگین کلی فرم در کلیه فصول سال در استان  $4/49 \pm 1/13$  cfu/ml بود. اثر ماههای مختلف سال، ظرفیت مراکز جمع آوری شیر و مراحل نگهداری و حمل شیر، بر روی باکتریهای کلی فرم کاملاً معنی دار بود.

همچنین اثرات متقابل ماههای سال در ظرفیت مراکز و مراحل مختلف نگهداری شیر نیز کاملاً معنی دار بود ( $p < 0/01$ ). بر اساس جدول 1 بین ماههای مختلف سال، کمترین میزان باکتریهای کلی فرم در ماههای دی و بهمن به ترتیب با میزان  $4/08 \pm 1/14$  cfu/ml و  $4/08 \pm 1/15$  بوده و بیشترین میزان باکتریهای کلی فرم در شیر مناطق مختلف استان در ماه

پرزرفیت تفاوت معنی دار وجود داشت ( $p < 0/01$ ) بطوریکه مراکز کم ظرفیت با  $3/09 \pm 0/77$  کمترین و مراکز پر ظرفیت با  $3/18 \pm 0/76$  cfu/ml بیشترین میزان اشرشیا کلی را دارا بودند (جدول 2). جدول 3 میانگین و انحراف معیار اشرشیا کلی در مراحل مختلف جمع آوری و حمل شیر را نشان می دهد.

بر اساس جدول فوق بین مراحل مختلف دوشش شیر تا تحویل به کارخانه اختلاف معنی داری وجود داشت. بطوریکه کمترین میزان اشرشیا کلی در شیر تازه دوشیده گاو با  $2/17 \pm 0/55$  cfu/ml و بیشترین میزان در شیر تحویلی به کارخانه با  $3/86 \pm 0/48$  cfu/ml بوده است ( $p < 0/01$ ).

### بحث و نتیجه گیری

در مطالعه ای توسط دسای<sup>1</sup> و همکاران (18)، نمونه شیر 124 مراکز جمع آوری شیر در هند از نظر بار میکروبی کل مورد آزمایش قرار گرفت و بار میکروبی شیر بین  $4 \times 10^5$  تا  $1/8 \times 10^6$  cfu/ml گزارش گردید. نتایج حاصل از مطالعه فوق نشان دهنده بار میکروبی کمتر در مراکز جمع آوری شیر در هند بوده، که در مقایسه با نتایج بدست آمده در این پژوهش تفاوت بسیار بالای بار میکروبی مناطق مختلف استان لرستان نسبت به مراکز جمع آوری شیر در هند را نشان می دهد. الکسیوا<sup>2</sup> و کراشو<sup>3</sup> و (11) در مطالعه 1459 نمونه شیرخام در کشور بلغارستان برای بررسی میزان بار میکروبی کلی فرم و اسیدیته شیرخام دریافتند 0/2% نمونه ها اسیدیته بیش از حد نرمال داشته و میانگین بار میکروبی  $1 \times 10^7$  cfu/ml بود. آنها نتیجه گرفتند بین آلودگی میکروبی شیر و فصول مختلف سال رابطه معنی دار وجود دارد که نتایج بدست آمده در این تحقیق از نظر بار میکروبی کل با یافته های محققین فوق تفاوت قابل توجهی دارد. اومبوی<sup>4</sup> (34) در مطالعه بار میکروبی شیر خام در

شهریور با میزان  $4/79 \pm 1/09$  cfu/ml بوده و بین ماههای مختلف سال اختلاف معنی داری وجود داشت ( $p < 0/01$ ). بر اساس جدول شماره 2 بین میزان کلی فرم ها در مراکز مختلف جمع آوری شیر اختلاف معنی داری وجود داشت ( $p < 0/01$ ) بطوریکه مراکز با ظرفیت جمع آوری کم دارای میزان کلی فرم کمتر و مراکز با ظرفیت زیاد دارای کلی فرم بیشتری در شیر خام بودند. بر این اساس میانگین و انحراف معیار تعداد کلی فرم ها در مراکز کم، متوسط و زیاد بترتیب برابر با  $4/45 \pm 1/15$ ،  $4/49 \pm 1/12$  و  $4/56 \pm 1/11$  cfu/ml می باشند. نتایج نشان داد بین مراحل مختلف نگهداری و جمع آوری شیر اختلاف معنی داری وجود داشته ( $p < 0/01$ ) بطوریکه بیشترین تعداد کلنی ها کلی فرم در شیر تحویلی به کارخانه با میزان  $5/82 \pm 0/16$  و کمترین میزان در مراحل دوشش شیر تازه گاو با میزان  $2/75 \pm 0/24$  cfu/ml بود (جدول 3).

### 3- اشرشیا کلی

نتایج آزمایشها نشان داد میانگین اشرشیا کلی در کلیه فصول سال در استان لرستان  $3/13 \pm 0/77$  cfu/ml بود. اثر ماههای مختلف سال، ظرفیت های مختلف جمع آوری شیر و مراحل مختلف نمونه گیری بر روی میزان اشرشیا کلی کاملاً معنی دار بود ( $p < 0/01$ ). اثرات متقابل ماههای مختلف سال در ظرفیتهای مختلف و مراحل مختلف نگهداری و حمل شیر معنی دار بود ( $p < 0/05$ ). اثرات متقابل ماههای سال در ظرفیتهای مختلف مراکز معنی دار نشد ( $p > 0/01$ ). مقایسه میانگین ها نشان داد کمترین میزان اشرشیا کلی در ماههای بهمن و اسفند با  $2/63 \pm 0/60$  و  $2/65 \pm 0/61$  cfu/ml و بیشترین میزان اشرشیا کلی در شهریور با میزان  $3/84 \pm 0/56$  cfu/ml بود و بین ماههای شهریور و مرداد اختلاف معنی دار مشاهده نشد (جدول 1). میزان اشرشیا کلی در مراکز مختلف جمع آوری نشان داد بین مراکز کم، متوسط و

1. Desai  
2. Aleksiva

2. Krushev  
3. Ombui

مرکز جمع‌آوری شیر میانگین بار میکروبی را  $3 \times 10^4$  cfu/ml اعلام نمودند. رولی<sup>2</sup> و همکاران (38) در آزمایش 6998 نمونه شیر جمع‌آوری شده در مناطق آلبان اسپانیا طی سالهای 1993 تا 2002 میانگین بار میکروبی کل را بین  $1/2 \times 10^5$  تا  $2/4 \times 10^5$  cfu/ml اعلام نمودند. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج هولم و همکاران (25) و رولی و همکاران (48) که میانگین بار میکروبی را کمتر از  $106$  cfu/ml گزارش کرده اند تفاوت داشته و نشان دهنده کیفیت بالای شیر خام در کشورها ی مورد مطالعه می باشد. ماهاری<sup>3</sup> و گاش<sup>4</sup> (32). در بررسی میکروفرورای شیرخام در کشور اتیوپی پایین ترین میزان بار میکروبی را  $4 \times 10^7$  cfu/ml و بالاترین میزان بار میکروبی را  $1 \times 10^9$  cfu/ml گزارش کردند. آنها در پژوهش خود فراوانی بار میکروبی (TC) را  $98/1\%$  باکتریهای سرماگرا  $1/4\%$  و باکتریهای گرما دوست را  $0/5\%$  گزارش کردند. ون شیک<sup>5</sup> و همکاران (40) در بررسی بار میکروبی شیرخام در 42 مرکز جمع‌آوری شیر در کشور شیلی دریافتند که میزان بار میکروبی به طور متوسط در حدود  $59 \times 10^9$  cfu/ml بود.

آدسیان<sup>6</sup> (12) در بررسی کیفیت باکتریولوژیکی شیرخام کشور ترینیداد دریافت که میزان pH برابر  $6/50 \pm 0/13$  و میزان بار میکروبی کل از  $5/8 \times 10^5$  تا  $5/7 \times 10^8$  cfu/ml متغیر بود. گودفی<sup>7</sup> و مولا<sup>8</sup> (21) در بررسی کیفیت باکتریولوژی شیر خام مراکز جمع‌آوری در کشور اتیوپی، میانگین بار میکروبی کل را در مرحله ظروف جمع‌آوری و نگهداری شیر، در مرحله نگهداری شیر قبل از خنک کردن و در مرحله تحویل به کارخانه به ترتیب  $1/1 \times 10^5$  cfu/ml،  $4 \times 10^6$  cfu/ml و  $1/9 \times 10^8$  cfu/ml بار میکروبی کل در مراکز جمع‌آوری

یکی از مناطق کشور کنیا نتیجه گرفت بیشتر دامداران شیر با کیفیت بالا تولید می کنند ولی بعلت بعد مسافت، دمای بالای محیط و شستشوی نامناسب ظروف جمع‌آوری شیر بار میکروبی افزایش یافته است. نتایج فوق مبنی بر بالا بودن بار میکروبی شیر تحویلی به مراکز جمع‌آوری در مناطق مختلف استان لرستان نیز قابل تعمیم می باشد. نتایج مشابه ای نیز توسط یاراحمدی و همکاران (10) گزارش شده است. نتایج آنها در بررسی عوامل مؤثر بر کیفیت شیر خام استان لرستان در طی سالهای 1378 الی 1380 نشان داده است که اثرات سال، فصل و ماه بر روی بار میکروبی شیر خام کاملاً معنی دار ( $p < 0/01$ ) بوده و بین مناطق مختلف استان از لحاظ بار میکروبی اختلاف کاملاً معنی داری مشاهده شد ( $p < 0/01$ ). آنها نتیجه گرفتند می توان با اتخاذ اقدامات بهداشتی و آموزشی در روستاها از مرحله دوشش شیر خام تا مراحل مختلف جمع‌آوری در کاهش میزان آلودگی و از بین بردن کانون های آلودگی اقدام نمود. وهمنی و همکاران (7) در بررسی فاکتورهای کیفی در شیرخام توزیع شده به روش سنتی (فله) و شیر خام تحویلی به کارخانه در استان کرمان بار میکروبی شیر خام توزیعی به روش سنتی با شیر تحویلی به کارخانه را به ترتیب  $37/31 \times 10^6$  و  $7/47 \times 10^6$  باکتری در میلی لیتر گزارش کرده و نشان دادند اختلاف کاملاً معنی داری بین دو روش وجود داشت. نتایج این تحقیق نشان می دهد بار میکروبی شیر خام تحویلی به کارخانه در استان کرمان تقریباً دو برابر استان لرستان بوده که نشان دهنده کار آموزشی و ترویجی بهتر در استان لرستان می باشد. یاسینی (9) در بررسی کیفیت میکروبیولوژیکی شیر تولیدی استان یزد در طی گزارشی بین شمارش کل میکروبی، کلی فرمها و باکتریهای سرما گرا در ماههای تیر و شهریور تفاوت معنی داری در گاودارهای صنعتی و سنتی مشاهده نکرد. هولم<sup>1</sup> و همکاران (25) در بررسی میکروبیولوژی شیرخام 75

1. Holm  
2. Revelli  
3. Mahari  
4. Gashe

5. Van Schaik  
6. Adesiyun  
7. Godefay  
8. Molla

بررسی خود میزان اشرشیاکلی را بین  $6/6 \times 10^2$  تا  $cfu/ml$   $4 \times 10^5$  گزارش کرد. گوگوو<sup>4</sup> و کالویانو<sup>5</sup> (22) در بررسی وجود اشرشیاکلی در شیرخام و پاستوریزه در کشور بلغارستان نتیجه گرفتند  $11/76\%$  نمونه‌های شیرخام و  $5/18\%$  نمونه‌های شیر پاستوریزه دارای اشرشیاکلی بود. مشابه نتایج این آزمایش توسط بسیاری از محققین در کشورهای مختلف بدست آمده است. بطوریکه مطالعات اومبوی و همکاران (35)، آدسیان (11)، گوگوو و کالویانو (22) نتایج قابل مقایسه ای از نظر میزان کلی فرم و اشرشیا کلی با نتایج این مطالعه نشان می دهد. لوپز<sup>6</sup> و استن فورد<sup>7</sup> (31) در بررسی کانونهای آلودگی شیر خام و پاستوریزه در برزیل دریافتند، وجود آلودگی میکروبی کلی فرمی در  $60\%$  نمونه‌ها بعلت شستشوی نامناسب تانکرهای ذخیره شیر و دمای نامناسب بود.

نتایج آنها نشان داد که تمام نمونه‌های شیرخام ارزیابی شده دارای میکروارگانیزم‌های مزوفیلی و سایکروفیلی بوده و تعداد کلی فرم‌ها در شیر خام میزان بالایی را نشان می دهد.

با نگرشی اجمالی بر نتایج فوق و مقایسه آن با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مشخص می شود وجود کلی فرم در شیر خام یکی از معضلات بهداشتی و آلودگی شیر خام می باشد. از طرف دیگر یافته های الکسیوا و کراشو (1981)، گودفی و مولا (21)، ون شیک و همکاران (40)، آدسیان (11)، اومبوی (45) نشان می دهد بار میکروبی در مراحل مختلف جمع آوری شیر از مرحله دوشش تا تحویل به کارخانه بر روی کیفیت باکتریو لوژیکی شیر خام اثر معنی داری داشته که با نتایج بدست آمده در این پژوهش مطابقت دارد. تحقیقات

شیر را  $1/3 \times 10^7 cfu/ml$  گزارش کردند. آنها در بررسی خود میانگین تعداد کلی فرم‌ها در مرحله ذخیره شیر  $cfu/ml$   $7/1 \times 10^4$  و در مرحله تحویل به کارخانه  $cfu/ml$   $0-4/7 \log 10$  اعلام نمودند. بهرحال آنچه مسلم است نتایج مطالعه حاضر با یافته های آدسیان (12) همخوانی بیشتری نسبت به نتایج گودفی و مولا (21)، ون شیک و همکاران (40) و ماهاری و گاش (32) نشان می دهد. جایارائو<sup>1</sup> و وانگ<sup>2</sup> (29) در بررسی شیر 131 گاوداری شیری در مناطق داکوتای جنوبی آمریکا، میزان کلی فرم‌ها نمونه شیر را از  $0-4/7 \log 10 cfu/ml$  شمارش نمودند و نتیجه گرفتند که  $62/3\%$  فلور میکروبی را کلی فرم تشکیل داده است. دس ماژورژ<sup>3</sup> و همکاران (19) در بررسی ترکیب میکروبیولوژیکی شیر خام مناطقی از ناحیه نورماندی فرانسه با اندازه گیری کلی فرم‌ها و اشرشیاکلی نتیجه گرفتند کلی فرم ها در اکثر نمونه‌ها مشاهده شده و  $84\%$  نمونه‌ها کمتر از  $100 cfu/ml$  کلی فرم و کمتر از  $10 cfu/ml$  اشرشیاکلی داشته‌اند.

نتایج بدست آمده توسط جایارائو و وانگ (29) و دس ماژورژ و همکاران (19) در مقایسه با مطالعه حاضر که میانگین کلی فرم در استان لرستان  $4/49 \log 10 cfu/ml$  بوده، قابل تأمل می باشد که نشان دهنده میزان آلودگی کلی فرمی بالای شیر خام استان لرستان است که احتمالاً بعلت شستشوی ظروف جمع آوری و نگهداری شیر با آب غیر بهداشتی و آلودگی دستهای کارگران شیر دوش می باشد. اومبوی و همکاران (35) برای بررسی میزان آلودگی کلی فرم و اشرشیاکلی در نمونه‌های شیر تعاونی‌های جمع آوری شیر در کشور کنیا در دو مرحله میزان کلی فرم را در ظروف دامداران و نمونه شیر مراکز جمع آوری اندازه گیری کرده و نتیجه گرفتند حدود  $89/5\%$  نمونه شیر ظروف دامداران و  $50\%$  نمونه شیر مراکز جمع آوری بیش از  $5 \times 10^4 cfu/ml$  کلی فرم داشتند. آدسیان (11) در

1. Jayarao  
2. Wang  
3. Desmaures  
4. Gogov

5. Kaloianov  
6. Lopes  
7. Stanford

نشان می‌دهد عواملی همچون بهداشت دام، نحوه دوشش، ادوات شیردوشی، دمای شیر و نحوه حمل و نقل شیر می‌تواند بر روی بار میکروبی تأثیر داشته باشد (16، 39). سیسچو<sup>1</sup> (1996) در تحقیقات خود یکی از عوامل پایداری شیر را نگهداری صحیح شیر بعد از دوشش و تا هنگام توزیع می‌داند (37). در تحقیق انجام شده توسط توماس<sup>2</sup> و همکاران (1966) مشخص شد بیشتر شیر تولیدی در دامداریهای سنتی دارای شرایط بهداشتی نبوده و شیر عمدتاً توسط ظروف (بیدون و دبه) به ماشین جمع‌آوری تحویل می‌شود. در این بررسی مشخص شد ظروف حمل شیر شسته شده به روش معمولی با آب، بار میکروبی شیر را به ازای هر میلی لیتر شیر 800 هزار باکتری اضافه می‌کند (39). در استان لرستان یکی از معضلات جمع‌آوری شیر، دوری برخی مراکز جمع‌آوری شیر و مدت زمان طولانی انتقال شیر از این مراکز تا کارخانه شیر بوده، که بعنوان یکی از علل افزایش بار میکروبی کل از مرحله دوشش تا تحویل شیر به کارخانه می‌باشد. علاوه بر این شیر تحویلی برخی از روستاها بعلت امکانات ارتباطی محدود و صعب العبور بودن بار میکروبی بالایی دارند. در رابطه با تحویل شیر به مراکز عمدتاً بصورت سرد نشده، توسط ظروف بیدون و بعضی مناطق با ظرفهای پلاستیکی انجام می‌گیرد، که بر روی کیفیت شیر خام تأثیر گذار می‌باشد. در این میان وجود گاوهای ورم پستانی و مخلوط کردن شیر آنها با شیر گاوهای سالم یکی دیگر از عوامل افزایش بار میکروبی می‌باشد. در مراکز جمع‌آوری شیر عدم رعایت اصول شستشوی صحیح در

پمپ‌های انتقال شیر به مخازن شیر سرد کن بعنوان یکی از عوامل آلودگی می‌باشد. یکی دیگر از مشکلات زمان طولانی بین دوشش شیر تا انتقال به مراکز جمع‌آوری شیر بوده، که در تکثیر باکتریها تأثیر زیادی دارد. مخازن نگهداری شیر مهمترین منابع آلودگی محسوب شده و اگر در مرحله دوشش کلیه نکات رعایت شوند و خنک کردن شیر به موقع انجام شود اما در عوض از وسایل و تجهیزات ضدعفونی شده استفاده نشود کلیه تدابیر ارزش خود را از دست می‌دهند. در مراکز جمع‌آوری شیر اگر دستگاه شیردوشی ضدعفونی نشود میکروبهای لاکتیکی جمعیت اصلی فلور میکروبی شیر را تشکیل داده و اسیدیته شیر بالا رفته و باعث ترش شدن شیر می‌گردد در مورد مخازن شیر سردکن باید به شستشو و ضد عفونی همزنه‌ها، واشرها و والوها توجه شود. در تولید شیر با کیفیت بهداشتی خوب شستشو و ضدعفونی تانکر و بیدون و در نتیجه دسترسی به یک منبع آب سالم بسیار مؤثر است.

ساختمان تانکرها باید طوری باشد که نظافت آن بسادگی مقدور بوده و قبل از ضدعفونی شدن با پاک کننده مناسبی شسته شوند. برای تانکرهای فاقد سیستم سردکننده می‌توان از بخار آب استفاده نمود ولی بایستی دقت شود بعد از استفاده از بخار آب تانکر کاملاً سرد شده و سپس برای نگهداری شیر از آن استفاده گردد سیستم تمیز کردن در محل (CIP) با استفاده از مواد پاک کننده و ضدعفونی کننده یکی از عوامل مهم در بهبود کیفیت شیر خام می‌باشد.

## References

- Ehsani A. Educational workshop of raw milk improvement methods in country. Animal affairs of construction jihad. Department of animal and poultry changing industries. 1999: 59-62
- No name. Operation program in year 2003. Animal affairs office. 2003: 47
- Rokni N. Principal of nutrition material health. Pub Ins. University of Tehran. 1999; 3: 10-11
- Rahni M. Study on feces and milk contamination of Shiraz cows to yersinia Interocolita. Veterinary collage of Shiraz University. PhD thesis. 1995: 10-11
- Animal affairs office of Lorestan province. Performance report of animal affairs office of Lorestan province. 2003: 8-26
- Animal affairs office of country. Summery of milk comprehensive plan. Payam monthly of Agriculture jihad (Animal affairs) . 2004. , 15-17.
- Vahmni, P. Comparison on quality factors of distrubtive raw milk to method rural and milk delivery to pasteurized milk industry in Kerman city. Proceeding of the first congress on animal and aquatic sciences. 2003: 554-547
- Harding F. Milk and its quality. Pub. University of Tehran. 2001: 65-76
- Yasini A. Survey of microbiological quality of raw milk in Yard province, Iran. Thesis of PhD. 1997
- Yarahmadi B, Mahdavi HR, MoaydiNezhad A. Study on raw milk contamination in Lorestan province. Proceeding of food safety and health congress, Yazd, Iran. 2004: 131
- Aleksieva V, Krushev B. Quality of raw cow's milk. Vet Med Nauki. 1981; 18(3): 65-71
- Adesiyun A. Bacteriological quality and associated public health risk of pre-processed bovine milk in Trinidad. Int J Food Microbiol. 1994; 21(3): 253-261
- Barot MS. Loetion of campylobacter jejuni in infected chicken livers. Journal of clinical microbiology. 1983; 17: 291-295
- Bokkenheuser VD, Mosenthal AC. Campylobacteriosis : food borne disease. food safety. 1981; 3: 127
- Bramley AJ. Sources of Streptococcus uberis in the dairy herd. I. Isolation from bovine faces and from straw bedding of cattle. J. Dairy Res. 1982; 49: 369-373
- Bramley AJ, McKinnon CH. The microbiology of raw milk. In Dairy Microbiology. The Microbiology of Milk. 2nd ed. R. K. Robinson, ed. Elsevier Science Publishers, London, United Kingdom. 1990; 1: 163-208
- Daust SY, Pivniek H. Small infectious doses of salmonella. Lancet. I. 1976: 866
- Desai P, Natarajan A. Bacteriological quality of raw milk collected from societies for transportaion to chilling centres. Cheiron. 1981; 10(4): 149-150
- Desmaures N, Bazin F, Gueguen M. Microbiological composition of raw milk from selected farms in the Camembert region of Normandy. J Appl Microbiol. 1997; 83(1): 53-58

20. FAO. 2004. <http://app.fao.org/page/form?Collection=Production.Livestock.stocks&Domain=Production>.
21. Godefay B, Molla B. Bacteriological quality of raw cow's milk from four dairy farms and a milk collection centre in and around Addis Ababa. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* Jul-Aug, 2000; 113(7-8): 276-278
22. Gogov I, Kaloianov I. Presence of *E. coli* bacteria in raw and pasteurized cow's milk. *Vet Med Nauki*. 1978; 15(8): 82-86
23. Hayes MC, Ralyea RD, Murphy SC, Carey NR, Scarlett JM, Boor KJ. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. *J Dairy Sci*. 2001; 84(1): 292-298
24. Hogan JS, Smith KL, Hoblet KH. Bacterial counts in bedding used on nine commercial dairies. *J Dairy Sci*. 1989; 72: 250-258
25. Holm C, Mathiasen T, Jespersen L. A flow cytometric technique for quantification and differentiation of bacteria in bulk tank milk. *J Appl Microbiol*. 2004; 97(5): 935-941
26. Houghtby GA, Maturin LJ, Koenig EK. Microbiological count methods. In *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*. 16th ed. Pub Health Assoc. Inc, Washington DC. 1992: 213-246
27. Hun SW, Kim YJ. Effect of milk process on microbial quality of raw milk. *Korean Journal of Dairy Sci*. 1996; 18: 65-70
28. Jayarao BM, Pillai SR, Sawant AA, Wolfgang DR, Hegde NV. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *J Dairy Sci*. 2004; 87(10): 3561-3573
29. Jayarao BM, Wang L. A study on the prevalence of gram-negative bacteria in bulk tank milk. *J Dairy Sci*. 1999; 82(12): 2620-2624
30. Johnson KM. *Bacillus cereus* foodborne illness: an update. *J Food protection*. 1984; 4: 145-153
31. Lopes AC, Stamford TL. Critical control points in the pasteurized milk processing fluxogram. *Arch Latinoam Nutr*. 1997; 47(4): 367-371
32. Mahari T, Gashe BA. A survey of the microflora of raw and pasteurized milk and the sources of contamination in a milk processing plant in Addis Ababa, Ethiopia. *J Dairy Res*. 1997; 57(2): 233-238
33. Murphy S. Raw milk bacteria tests: standard plate count, lab pasteurization count, preliminary incubation count and coliform count what do they mean for your farm? *Mastitis Council Reg. Mtg. Proc*, Syracuse, NY. *Natl. Mastitis Council. Inc*, Arlington, VA. 1997: 34-42
34. Ombui JN. Quality of raw milk collected and marketed by dairy cooperative societies in Kiambu district Kenya. *Bulletin of Animal Health and production in Africa*. 1995; 43(4): 277-284
35. Ombui JN, Kaburia HF, Macharia JK, Nduhiu G. Coliform counts and *Escherichia coli* in raw commercial milk from dairy farmers in Kiambu District, Kenya. *East Afr Med J*. 1994; 71(10): 635-639
36. Pasteurized Milk Ordinance (PMO). The Food and Drug Administration of the US

- Dept. of Health and Human Serv, Washington, DC. 1995
37. Sicho WM. Quality of milk and tests for antibiotic residues. *J. Dairy Sci.* 1996; 76: 1065-1066
38. Revelli GR, Sbodio OA, Tercero EJ. Total bacterial count in raw milk from the dairy farms that characterize the zone northwest of Santa Fe and south of Santiago del Estero. *Rev Argent Microbiol*, 2004; 36(3): 145-149
39. Thomas SB, Druce RG, King KP. The micro flora of poorly cleansed farm dairy equipment. *J. Apply. Bact.* 1996; 29: 409-422
40. Van Schaik G, Green LE, Guzman D, Esparza H, Tadich N. 2004. Risk factors for bulk milk somatic cell counts and total bacterial counts in smallholder dairy farms in the 10th region of Chile. *Prev Vet Med.* 2005; 67(1): 1-17
41. Zehner MM, Farnsworth RJ, Appleman RD, Larntz K, Springer JA. Growth of environmental mastitis pathogens in various bedding materials. *J. Dairy Sci.* 1986; 69: 1932-1941