



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری های زیستی، گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی،
آزمایشگاه میکروبیولوژی



بررسی میکروبی شیر

::

تهیه کننده : سهیلا عباسی

مقدمه :

شیر مایع: شیر امولسیون پیچیده ای از پروتئین ، چربی ، قند و مواد معدنی است. شیرگاو تقریباً ۸۷٪ آب، ۳/۵٪ پروتئین، ۳/۵٪ چربی و ۵٪ لاکتوز دارد. درصد آب و چربی شیرگاو های مختلف متفاوت است.

روش های آزمایش شیر به طور معمول شامل آزمایشاتی است که اطلاعات کلی را از نظر تعداد فعالیت میکروارگانیسم های موجود فراهم می سازد. واضح است که شمارش میکروبی مورد انتظار یا مطلوب نمونه های شیر بستگی به میزان و نوع فرایند دارد.

بعد از پاستوریزاسیون شیر، کلیفرم ها باید کمتر از ۱۰ عدد در هر میلی لیتر باشد. شمارش کلی میکروبی شیر UHT بلافاصله بعد از فرایند حرارتی نباید از یک عدد در هر میلی لیتر تجاوز کند.

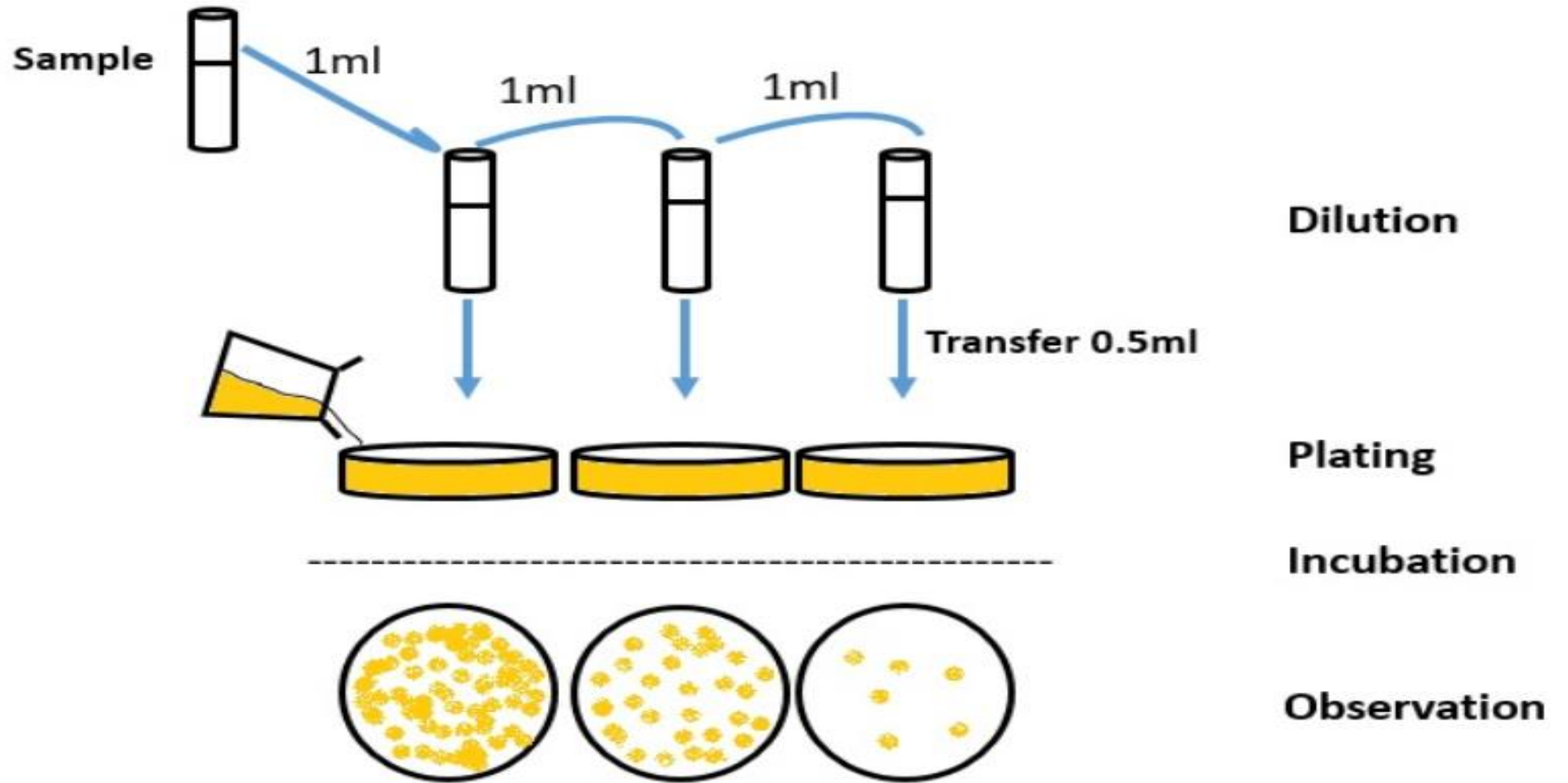
الف - مطالعه ی کمی:

شمارش باکتری های موجود در شیر مستقیما به وسیله ی میکروسکپ صورت می گیرد و یا از طریق شمارش باکتری های زنده با کشت بر روی محیط جامد انجام می شود.

روش شمارش مستقیم دقیقا استاندارد شده است. در روش کشت بر سطح محیط جامد ، باید به محیط کشت علاوه بر مواد عادی مورد نیاز برای رشد، شیر چربی گرفته نیز اضافه شود تا تکثیر باکتری های شیر که به این محیط خو کرده اند بخوبی میسر باشد.

اکثر روش های باکتریولوژی آزمایش شیر چنان تنظیم و استاندارد شده اند تا شیر مورد تغذیه انسان سالم عاری از آلودگی باشد.

Interpretation of result: More than 300 colonies indicates the milk is unpotable.



علاوه بر روش هایی که بر اساس آن باکتری های شیر مورد آزمایش و شمارش قرار می گیرند، یک روش دیگر اندازه گیری آلودگی میکروبی شیر وجود دارد که دقیق نیست ولی خیلی ساده می باشد. در این روش قدرت احیا کنندگی شیر مورد آزمایش قرار می گیرد.

چون باکتری های موجود در شیر دارای آنزیم های احیا کننده ی مختلفی می باشند. اندازه گیری قدرت احیا کننده شیر معیار غیر مستقیمی از تعداد باکتری های موجود در شیر است.

مواد رنگی مختلفی در دسترس می باشد که توسط آنزیم های میکروبی احیا شده و بیرنگ می گردند. بدین ترتیب مقادیر استاندارد شده یک ماده ی رنگی مانند متیلن بلو را به حجم ثابتی از شیر اضافه می کنند. و زمان لازم برای بیرنگ شدن متیلن بلو را اندازه گیری می نمایند.

➤ آزمایش احیای رنگ:

➤ این آزمایش به منظور تعیین کیفیت بهداشتی شیر انجام می گیرد ، مقادیر استاندارد رنگ و شیر (معمولا یک میلی لیتر محلول رنگ و ۱۰ میلی لیتر شیر) را در یک لوله آزمایش سترون که دارای درب پیچی است مخلوط کرده و در حمام آب ۳۷ درجه ی سانتی گراد نگهداری کنید. رنگ هایی که برای این منظور استفاده می شوند بیشتر آبی متیلن ورزازورین هستند.

➤ هر چه تعداد باکتری ها در شیر بیشتر باشد احیا رنگ ها سریع تر انجام می گیرد و محلول حاصل زودتر بی رنگ می شود.

مواد و وسایل مورد نیاز:

1. نمونه ی ماده ی غذایی (شیر)
2. لوله ی آزمایش درب دار استریل
3. محلول رنگی بلود و متیلن ۰.۰۱٪
4. پی پت استریل
5. بن ماری

روش آزمایش:

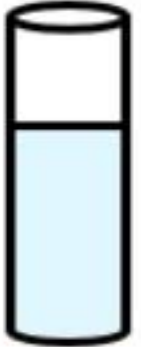
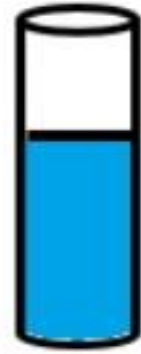
➤ برای انجام آزمایش نمونه ی مورد نظر (شیر) را کاملاً یکنواخت کرده و سپس مقدار ۱۰ میلی لیتر از آن را به کمک پی پت استریل یه داخل یک لوله آزمایش سترون درب دار منتقل کنید.

➤ سپس مقدار یک میلی لیتر از محلول آبی متیلن ۰/۰۰۱٪ را به لوله ی آزمایش فوق اضافه کرده و درب لوله را بسته به آرامی آن را برگردانید تا رنگ اضافه شده به خوبی با نمونه ی مورد آزمایش مخلوط گردد.

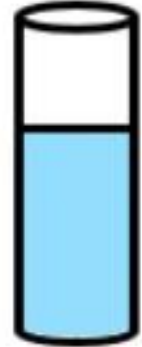
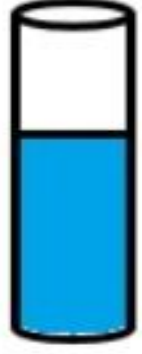
➤ لوله ی مورد آزمایش را در حمام آب 37 ± 0.5 درجه ی سانتیگراد قرار داده، زمان گذاردن لوله در حمام آب را یادداشت کنید. سطح آب داخل حمام باید بالاتر از سطح محتویات لوله ی آزمایش باشد و در ضمن حمام آب باید درب داشته باشد که از ورود نور جلوگیری کند.

➤ یک لوله شاهد را نیز با ریختن ۱۰ میلی لیتر از نمونه شیر مورد آزمایش در یک لوله آزمایش و اضافه کردن یک میلی لیتر آب معمولی تهیه کرده و به مدت ۳ دقیقه آن را در یک حمام آب جوش قرار داده و سپس خنک کرده و در حمام آب ۳۷ درجه سانتی گراد قرار دهید. این لوله در تشخیص بیرنگ شدن کامل آبی متیلن کمک مفیدی خواهد بود.

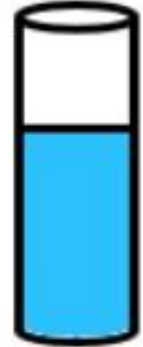
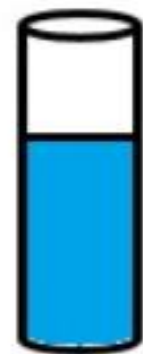
➤ هر نیم ساعت یک بار لوله ها را کنترل کنید. زمانی که تمام ستون شیر در لوله بیرنگ شده است آن را از حمام آب خارج کرده، زمان بیرنگ شدن کامل را یادداشت نمایید. نمونه هایی که بعد از نیم ساعت قرار گرفتن در حمام آب بی رنگ نمی شود از نظر کیفیت بهداشتی رضایت بخش محسوب می گردند.



Rapid
discolouration

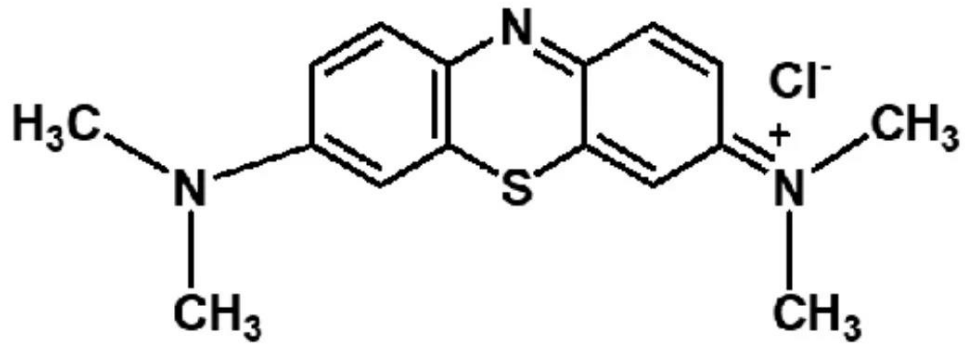


Slow
discolouration

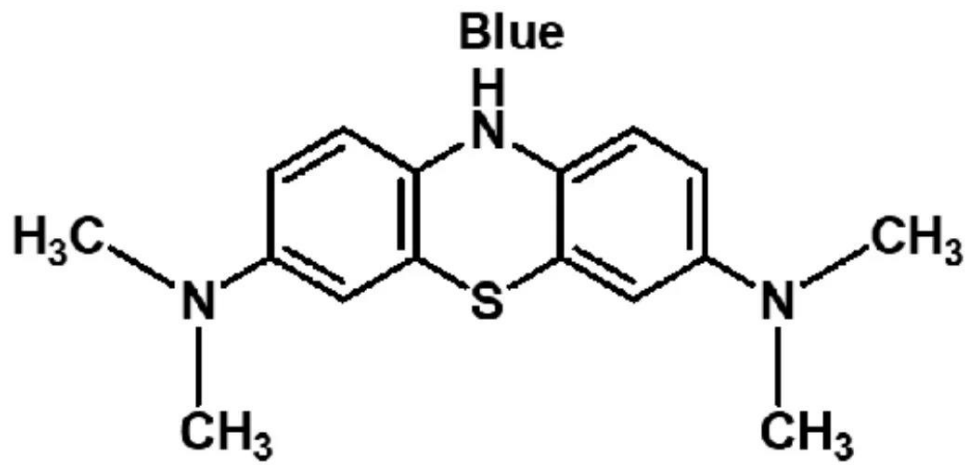


Very slow
discolouration

Addition of
methylene blue in
raw milk



Methylene Blue (MB)



Leucomethylene Blue (LMB)

Colorless



Interpretation of result:

Decolouration time — Result

30min-2hrs — poor quality

2-6hrs — Fair quality

6-8hrs — Good quality

Over 8 hours — Best quality

Shorter the decolouration time, higher is the volume of the bacterial flora present in the milk and poor is the quality of milk and vice versa.



Addition of
methylene blue in
raw milk

برای مثال شیر خام درجه یک که باید پاستوریزه شود در شرایط استاندارد شده نیاز به شش ساعت و یا بیشتر وقت دارد تا متیلن بلو را بی رنگ کند. باید توجه داشت که هر چه شیر سریع تر بی رنگ شود، حاوی تعداد بیشتری باکتری می باشد.

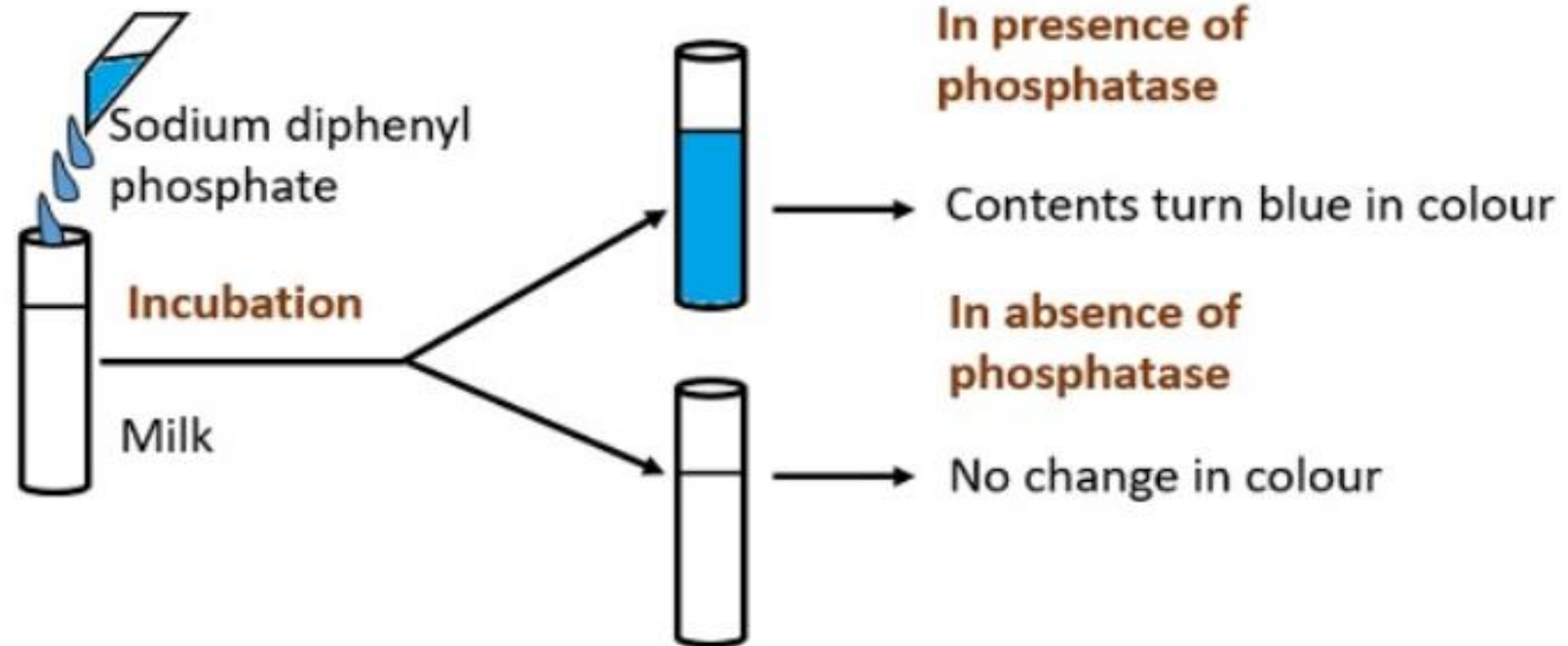


تهیه کننده : سهیلا عباسی

Interpretation of result:

Positive: Blue colour appears, which indicates the presence of a phosphatase, i.e. milk is pasteurised appropriately.

Negative: No changes in colour, indicates the absence of phosphatase, i.e. milk is not pasteurised.



ب- مطالعه ی کیفی:

انواع باکتری موجود در شیر به وسیله ی همان روش هایی که در مورد تعیین هویت باکتری ها به کار می روند شناسایی می گردند، لیکن باید توجه داشت شمارش کلی فرم ها در موارد غذایی از جمله شیر به عنوان شاخص کیفیت بهداشتی مورد استفاده قرار می گیرد.



تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی

Thank
You