



دانشگاه اصفهان

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



# بررسی میکروبی شیره و فراورده های آن

1

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 ها 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، کلی فرم 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.

# چگونگی شرایط محیطی و انواع باکتری در شیر

3

## الف - شرایط محیطی:

شیر می تواند محیط بسیار مناسبی برای رشد باکتری ها باشد چون حاوی مواد قندی، پروتئین، ذرات چربی به صورت امولسیون و املاح در غلظت فیزیولوژیک می باشد. شیر حاوی تعداد آنزیم نیز می باشد و قند شیر به صورت لاکتوز که دی ساکارید است و تولید مقادیر مساوی از قندهای گلوکز و گالاکتوز می نماید.

شرایط مربوط به pH شیر برای اکثر باکتری ها مناسب و تقریبا برابر با ۶/۸ است. در شرایط عادی چون جابجا کردن شیر در ظروفی صورت می گیرد که اکثرا در بسته هستند، شرایط بی هوایی می تواند بر آن حکمفرما باشد.

ب- انواع باکتری های شیر:

آلوده شدن شیر اکثراً از طریق داخل شدن ذرات و غبار آلوده صورت می گیرد، بدین علت تقریباً همه ی گونه باکتری می تواند در شیر داخل شود. شیر تشابه زیادی با محیط کشت غنی کننده باکتری ها دارد به همین دلیل باکتری هایی که بهتر با شرایط آن وفق داشته باشند، سریعتر تکثیر شده و از نظر تعداد بیشتر از سایر باکتری ها مشاهده می شوند.

باکتری که از سایر باکتری ها بیشتر می تواند در شیر تکثیر و ازدیاد یابد استرپتوکوکوس لاکتیس می باشد. این باکتری قادر است قند لاکتوز را تخمیر نموده و به اسید لاکتیک مبدل نمایند، به علت پیدایش اسید لاکتیک و تولید pH پایین شرایط اسیدی پدید می آید و انواع دیگری از باکتری ها در این هنگام می توانند به سرعت تکثیر یابند از جمله این باکتری ها می توان از لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نام برد که جانشین استرپتوکوکوس لاکتیس می گردند.

اگر درجه حرارت نگهداری شیر در حدود درجه حرارت بدن باشد ممکن است باکتری هائی مانند انتروباکترائروژنس و اشرشیاکلی بیشتر مشاهده شود.

▶ اگر شرایط خاص پدید آید باکتری های دیگری نیز می توانند در شیر تکثیر یابند.

▶ از جمله باکتری هایی که در شرایط خاص در شیر تکثیر می یابند، می توان از باکتری های بی هوازی مولد اسپور مانند کلستریدیومها و باکتری هایی مانند استرپتوکوکوس فکالیس و کوکسی های دیگر در رابطه با آنتروکوکها و پseudomonas آئروژینوزا (که موجب آبی شدن رنگ شیر می شود) و مخمرهایی که قادر به تخمیر قند لاکتوز می باشند می توان نام برد.





## **Microbiology of Ice-cream and Frozen**



## بستنی:

➤ جهت اطلاع از کیفیت بهداشتی بستنی، کشت این فراورد منجمد شده شیر بر اساس وزن آن در محیط های کشت مناسب انجام می گیرد.

# Microbiology of Ice cream

## Through ingredients

Dairy products, Gelatin, Sugar, Flavouring materials,  
Colouring materials, Eggs, Air

## Contamination at manufacture and handling

SPC, Coliform, Yeast & Moulds, Thermotolerant counts.





## الف - جمع آوری نمونه ها

۱- بستنی های سخت شده:

منظور از بستنی سخت فراورده ای است که بعد از تولید و بسته بندی مدتی در سرمای مناسب نگهداری شده باشد. این فراورده بدون بازکردن بسته بندی آن ها برداشت شده و در شرایط انجماد به آزمایشگاه فرستاده می شود.

۲- بستنی نرم:

منظور از بستنی نرم فراورده ای است که مستقیماً از دستگاه ها یا فریزر های تولید بستنی برداشت می گردد. در این صورت نمونه ی برداشت شده مستقیماً به ظروف مخصوص نمونه برداری که سترون شده است منتقل می گردد. مقدار برداشت نمونه نباید کمتر از ۶۰ گرم باشد در هر دو مورد بستنی باید در ظروف مناسب که آن را تازمان آزمایش در آزمایشگاه به حالت انجماد نگه می دارد حمل و نقل شود، پروت باید در این ظروف کمتر از ۱۸- سانتی گراد باشد. نمونه ها باید حداکثر در مدت ۶ ساعت بعد از برداشت به آزمایشگاه تحویل گردند.

► ب- آماده کردن نمونه:

1. اگر نمونه در بسته بندی اولیه ی خود می باشد ، به طور سترون تمام و یا قسمتی مناسب یا نماینده ای از کل آن را به ظرف سترون منتقل کنید.
2. نمونه های منجمد باید در حرارت آزمایشگاه قرار گیرند (حداکثر یک ساعت) تا نرم شوند. در صورتی که نمونه ها هنگام عصر یا شب به آزمایشگاه رسیده باشد می توان نمونه ها را در یخچال تا زمانی که درجه حرارت آن به چهار درجه ی سانتیگراد برسد نگهداری نمود.
3. اگر نمونه غیر منجمد است ، باید آزمایش ها را بلافاصله شروع کرد.
4. در صورتی که بستنی از نوع میوه ای باشد ابتدا باید با مخلوط کن یکنواخت گردد و در ضمن دقت نمود که درجه حرارت آن از حد معین افزایش پیدا نکند.

► ج-آزمایش میکروبی :

- آزمایش بر اساس وزن بستنی انجام می گیرد زیرا وزن ۱۰ میلی لیتر بستنی ممکن است از ۴/۵ تا ۱۰/۵ گرم متغیر باشد.

## مواد و وسایل مورد نیاز:

1. نمونه مورد آزمایش (بستنی)
2. ارلن حاوی ۹۰ میلی لیتر محلول  $\frac{1}{4}$  غلظت رینگر
3. پی پت استریل
4. لوله ی آزمایش حاوی ۹CC محلول  $\frac{1}{4}$  غلظت رینگر
5. پتری دیش استریل
6. محیط کشت پلیت کانت آگار حاوی بروموکرزول ارغوانی

# روش آزمایش:

12

➤ در این آزمایش به یک ارلن که حاوی ۹۰ میلی لیتر محلول رینگر است به کمک پی پت استریل مقدار ۱۰ گرم از نمونه مورد آزمایش (بستنی) را اضافه کرده و آن را به خوبی تکان دهید تا بستنی به طور یکنواخت با محلول رینگر مخلوط گردد و رقت ۰/۱ حاصل گردد.

➤ بعد از تهیه ی رقت فوق با اضافه کردن ۱ میلی لیتر از رقت تهیه شده به لوله ی آزمایش حاوی ۹CC محلول رینگر رقت ۰/۰۱ را تهیه کنید و آن گاه رقت ها را تا رقت مورد نظر ادامه دهید.

➤ سپس مقدار ۱ میلی لیتر از دو رقت مورد آزمایش را به کمک پی پت استریل به داخل پتری دیش استریل اضافه کرده و مقدار ۱۰ الی ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت پلیت کانت آگار را که دارای حرارتی بین ۴۵ الی ۵۰ درجه سانتی گراد است را به آهستگی در کنار شعله و رعایت شرایط آسپتیک به پتری دیش اضافه کرده و سپس پتری دیش را در خلاف جهت عقربه های ساعت تکان دهید تا محیط کشت اضافه شده با نمونه مورد آزمایش به خوبی مخلوط گردد. سپس صبر کنید تا محیط کشت سفت شده و قوام خود را بگیرد و بعد از نوشتن مشخصات که عبارتند از:

1. نوع آزمایش

2. تایخ انجام آزمایش

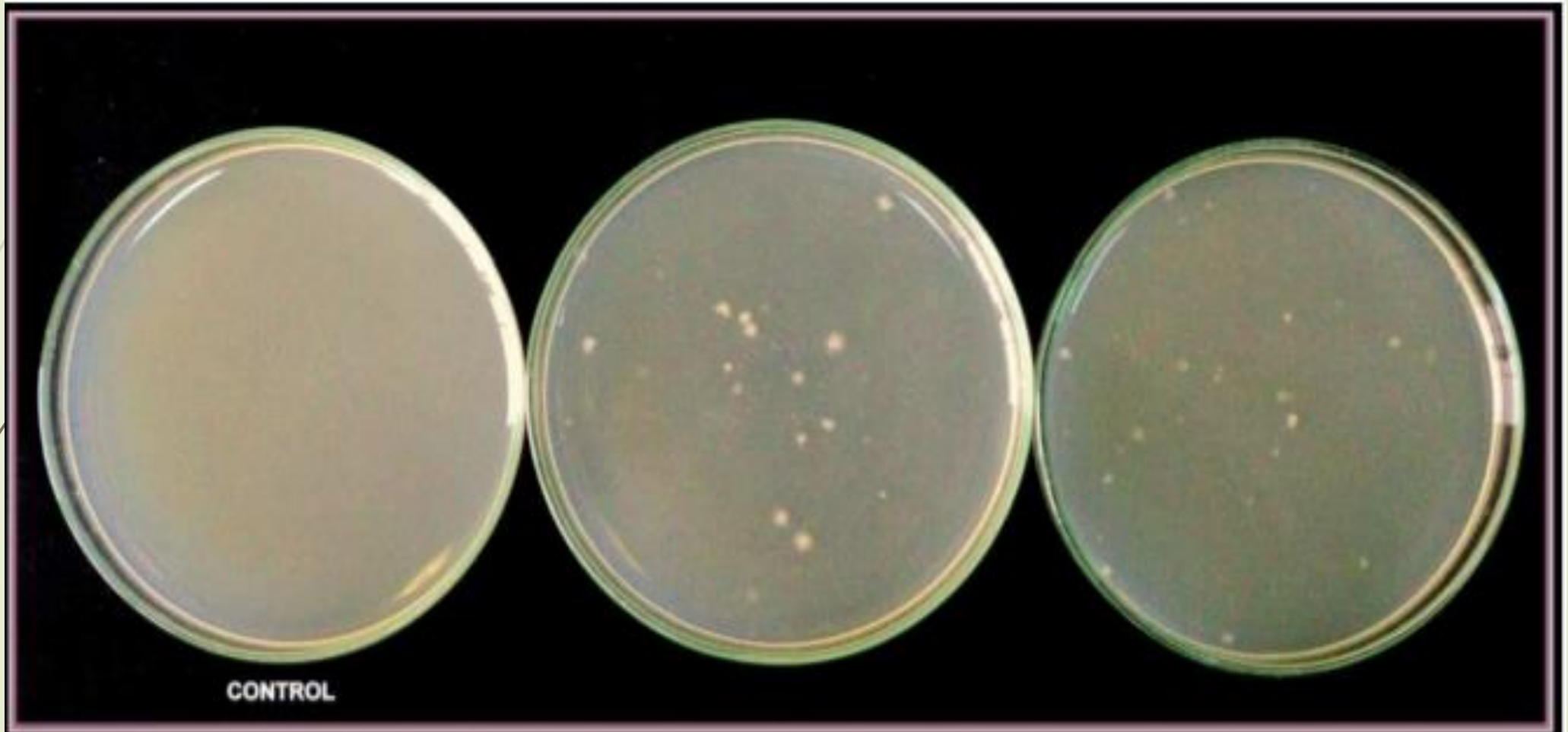
3. نوع رقت مورد آزمایش



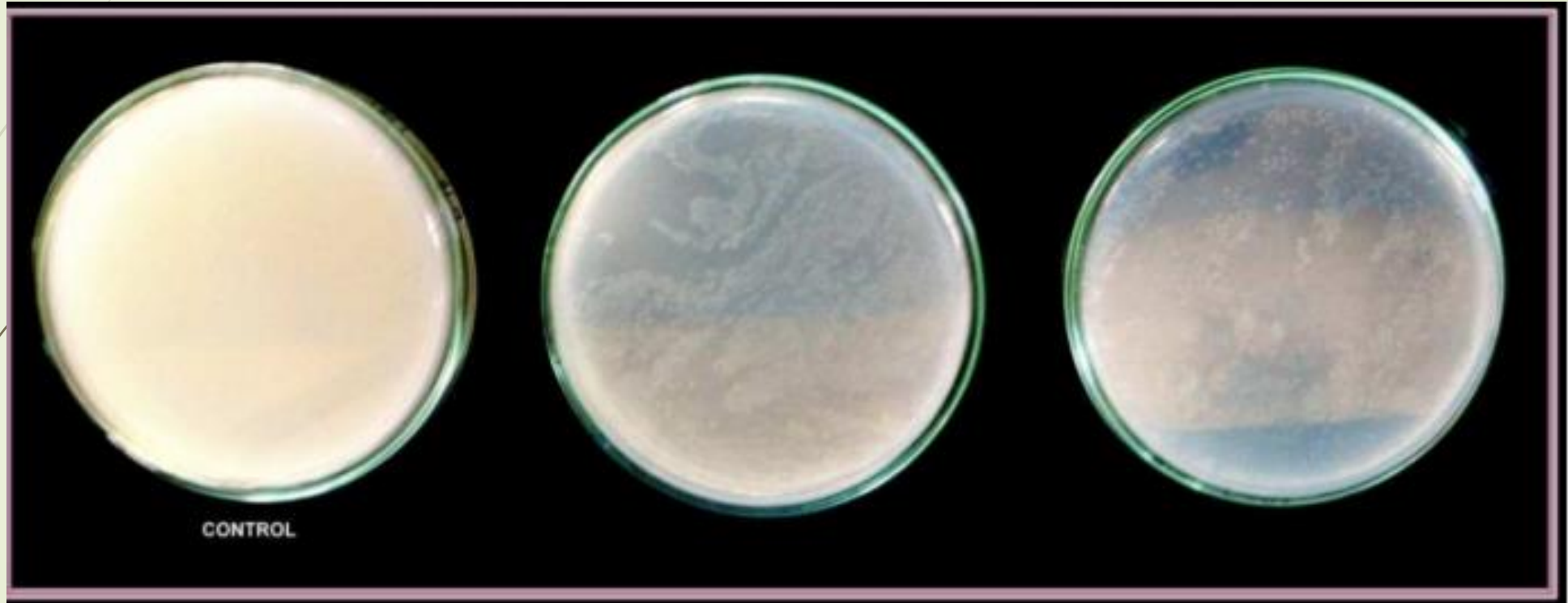
► از تعداد ۳ عدد پتری دیش تهیه شده هر یک را به صورت جداگانه به ترتیب زیر اتو گذاری کنید:

1. جهت جداسازی و شمارش باکتری های سرما دوست به مدت ۷ روز در یخچال با حرارت ۵ درجه سانتی گراد.
2. جهت جداسازی و شمارش باکتری های مزوفیل به مدت ۳ روز در انکوباتور با حرارت ۳۰ درجه سانتی گراد.
3. جهت جداسازی و شمارش باکتری های گرما دوست به مدت دو روز در انکوباتور با حرارت ۵۵ درجه سانتی گراد

► بعد از سپری شدن مدت زمان لازم اقدام به شمارش کلنی باکتری های رشد کرده روی محیط کشت نموده و با توجه به تعداد کلنی ها و میزان رقت مورد آزمایش ، تعداد باکتری های موجود در یک گرم از بستنی مورد آزمایش را حساب کنید. مطابق استاندارد صنعتی ایران ، تعداد میکروارگانیزم های زنده نباید از ۱۰۰۰۰۰ در بستنی تجاوز کند و در صورت موجود بودن بیشتر میکروارگانیزم ها در هر گرم از بستنی، نمونه فوق فاقد کیفیت لازم جهت مصرف خواهد بود.



تهیه کننده : سهیلا عباسی



تهیه کننده : سهیلا عباسی

<b>Yeasts</b>	<b>Pathogenic bacteria</b>	<b>Spoilage bacteria</b>
<i>Candida sake</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Candida curvata</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. faecalis</i>
<i>Sacccharomyces</i>	<i>Brucella sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

## **Factors Affecting Microbiological Quality of Ice-cream.....**

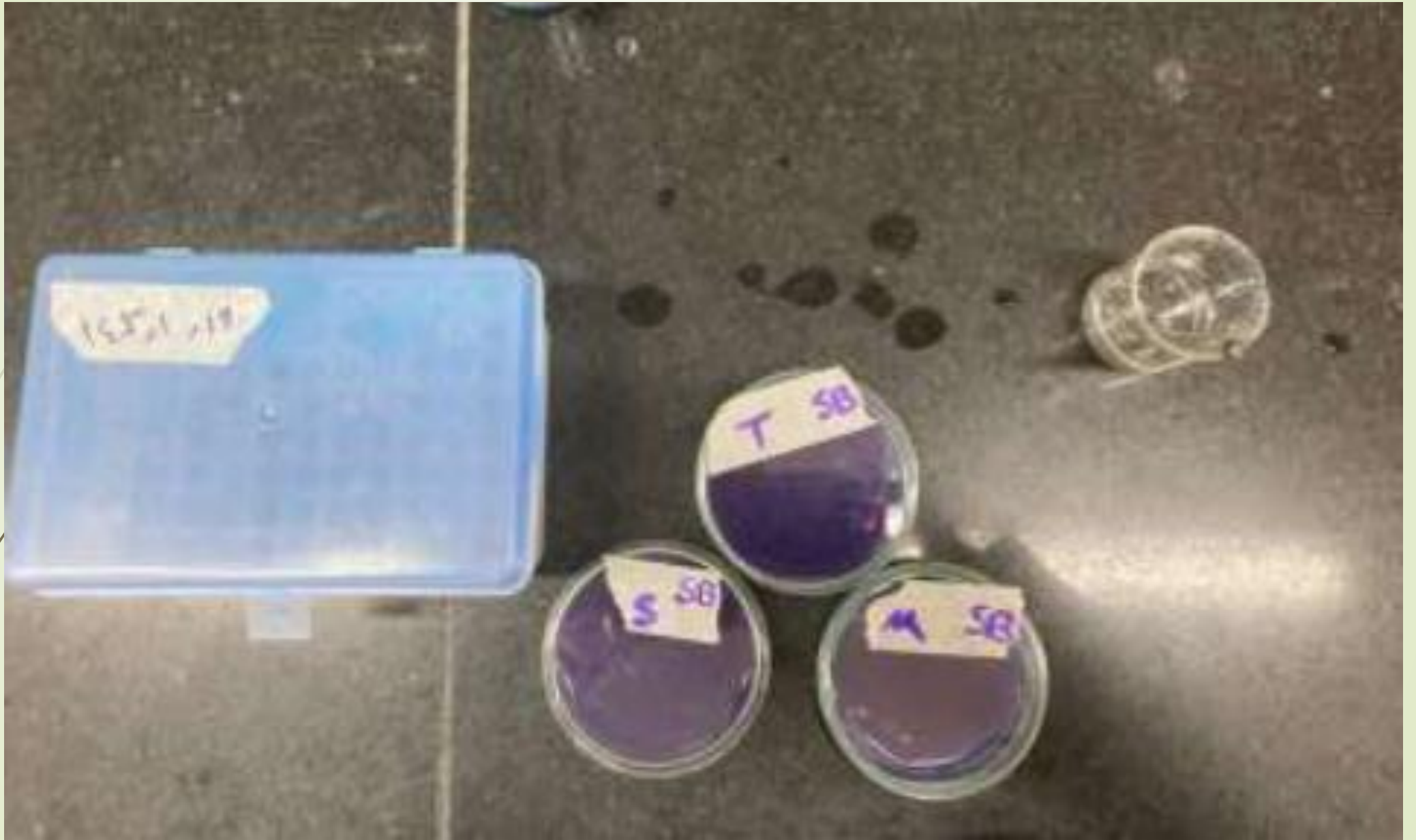


## میکروبیولوژی بستنی برحسب (CFU/g):

روش آزمون	بستنی	فرآورده آزمون های لازم
استاندارد شماره ۳۵۶ ایران	$5 \times 10^5$	شمارش کلی میکروبی
استاندارد شماره ۲۴۶۱ ایران	$10^2$	باکتری های خانواده ی آنتروباکتریاسه
استاندارد شماره ۴۳۷ ایران	نباید وجود داشته باشد	اشرشیاکلی
استاندارد شماره ۱۱۹۴ ایران	در یک صدم میلی لیتر نباید وجود داشته باشد	استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز (+)
استاندارد شماره ۱۸۱۰ ایران	در ۲۵ نباید وجود داشته باشد	سالمونلاها

دامنه ی میکروبی که توسط IFST (Institute of food science and technology) برای محصولات لبنی از جمله بستنی، پیشنهاد شده است:

معیارهای میکروبیولوژی که توسط IFST برای محصولات لبنی از جمله بستنی پیشنهاد شده است		
Organisms	GMP	Maximum
پاتوژن ها		
Salmonella spp.	ND in 25 ml/g	ND in 25 ml/g
Listeria monocytogenes	ND in 25 ml/g	10 <sup>3</sup> cfu/g
Staphylococcus aureus	<20 cfu/g	10 <sup>3</sup> cfu/g
شاخص و ارگانیزم های ایجاد کننده ی فساد		
Coliforms/Enterobacteriaceae	<10 cfu/g	10 <sup>4</sup> cfu/g
Escherichia coli	<10 cfu/g	10 <sup>3</sup> cfu/g
ND: تشخیص داده نشد (Good Manufacture Practice) GMP : دستورالعمل های تولید بهداشتی		

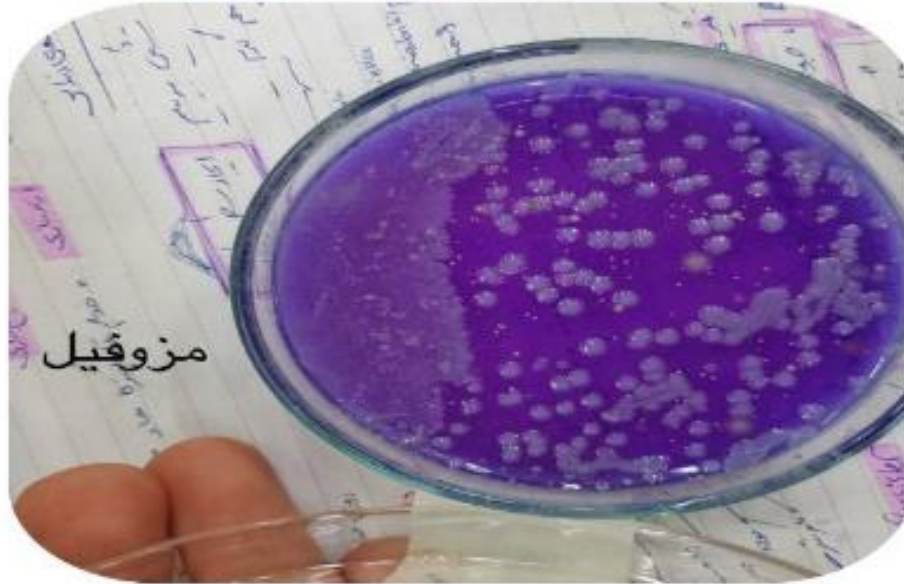


تهیه کننده : سهیلا عباسی

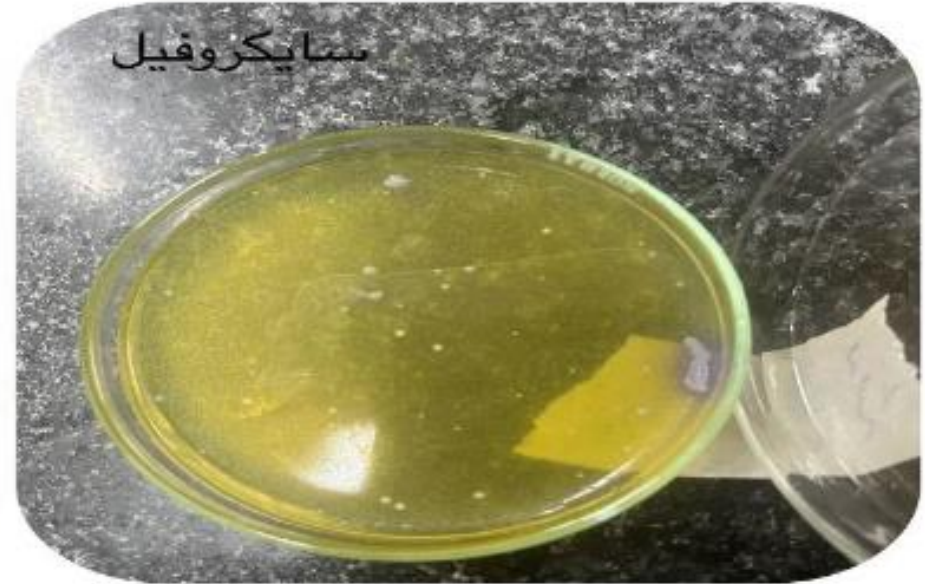


تهیه کننده : سهیلا عباسی





رقت ۰/۰۱





تهیه کننده : سهیلا عباسی





تهیه کننده : سهیلا عباسی

Thank  
You