استریلیزاسیون شیر با استفاده از فرآیندهای غشایی

دکتر سید سیاوش مدائنی*، مهناز یاسمی
بخش مهندسی شیمی، دانشگاه رازی،کرمانشاه
پست الکترونیکی: smadaeni@yahoo.com

چکیده

انسان از دیر باز ارزش غذایی شیر و نقش آن را در تغذیه شناخته است، شیر با داشتن ویژگی ها و صفات ممتاز غذایی، به سرعت در معرض آلودگی های گوناگون قرارمی گیرد و می تواند بیماریها و عوارض مختلفی را از حیوان به انسان و یا از انسان به انسان منتقل کند. استفاده از روشهای مختلف پاکسازی شیر مانند: روشهای حرارتی (پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون، ترمیزاسیون)، اشعهٔ *UV*، سیال فوق بحرانی، انرژی الکتریکی لازم و ضروری است، هرکدام از روش های بالا مزایا و معایبی دارند، از یک طرف باعث کاهش بار میکروبی و پاکسازی شیر می شوند و از طرف دیگر بر روی خواص ارگانولپتیکی و تغذیهای شیر اثر نامطلوب می گذارند. از جمله روش های جدید استریلیزاسیون در صنعت لبنیات، فرآیندهای غشایی است که سابقه کمی نسبت به روش های گفته شده در بالا دارند. رفع غیر حرارتی میکرو ارگانیسم ها شامل سلول های رویشی و اسپورها و رفع فیزیکی سلول های سوماتیک از شیر خام به وسیلهٔ تکنولوژی جداسازی غشاء، پتانسیل مهمی در بهبود کیفیت، طعم، ایمنی و سلامت و طول عمر شیر و محصولات لبنی ایجاد کرده است.

واژگان کلیدی: شیر، استریلیزاسیون، غشاء، میکروفیلتراسیون

مقدمه

بررسی های انجام شده در سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و دارو حاکی از آن است که ٪۵۰ کل مصرف روزانه یک فرد را باید پروتئین های حیوانی تشکیل دهند. با توجه به مقایسه قیمت محصولات گوشتی با شیر، بهترین و ارزان ترین منبع پروتئین های حیوانی، شیر و فرآورده های آن است. اهمیت مصرف مواد لبنی وقتی آشکار می شود که بدانیم در ایران کلسیم، پس از آهن دومین ماده ای است که کمبود آن در رژیم غذایی افراد مشاهده شده است. از آن جا که شیر غذای کاملی است و حاوی ترکیباتی چون گلبول-های چربی، پروتئین ها، آنزیم ها، ویتامین ها و نمک ها و املاح مختلفی است، بنابراین تمام عناصر لازم برای پرورش موجودات را دار است و نمی تواند از گزند میکروب ها مصون باشد. وجود میکرو ارگانیسم های بیماری زا در شیر آن را به جای یک مادهٔ مغذی به عاملی برای انتقال بیماری ها تبدیل می کند. کیفیت محصولاتی که از شیر ساخته می شوند تا اندازه زیادی به کیفیت باکتریایی شیر خام بستگی دارد. زمانی که شیر از پستان حیوان سالم ترشح می شود بالقوه سترون است، اما در هنگام خروج به وسیلهٔ میکرو ارگانیسم هایی که در محیط وجود دارند آلوده شده و شیر فاسد می گردد. در یک دامداری بهداشتی تعداد باکتری های شیر از چند هزار در هر میلیلیتر تجاوز نمی کند، اگر موازین بهداشتی و سردکردن کافی شیر صورت نگیرد تعداد باکتری ها از چند میلیون در هر میلیلیتر تجاوز خواهد کرد. یک دسته بندی برای باکتریهایی که در شیر وجود دارد عبارت است از: باکتری های مولد اسید لاکتیک، مولد اسید پروپیونیک، مولد اسید بوتیریک، کلیفرم، باکتری های مولد فساد و گندیدگی. باسیلوس سرئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، یرسینیا، اشرشیاکولی، کامپیلوباکتر و بروسلا نمونه هایی از باکتری های پاتوژن در شیر هستند که ممکن است مولد بیماری هایی چون سل، تب مالت و تب تیفوئید... باشند. کپک، مخمر و باکتریوفاژ نیز ممکن

است در شیر و محصولات لبنی ایجاد مشکل نمایند. بنابراین پیداکردن روشی که علاوه بر حفظ ترکیبات ذکر شده در شیر و خواص ارگانولپتیکی آن بتواند میکرو ارگانیسم‌های مضر را از بین ببرد، مهم و ضروری است [۲].

روش‌های سالم‌سازی شیر

برای تهیه شیر و محصولات لبنی استانداردهایی وجود دارد مانند استاندارد ملی ایران به شمار ۲۴۰۶ که برای شیر استریلیزه منطبق بر استانداردهای بین‌المللی است. در این استاندارد حداکثر تعداد کلی باکتری‌ها نباید از CFU/ml[1] $۱۲^{۲}$ تجاوز کند و فرآورده نهایی باید دارای کیفیت بهداشتی بالایی باشد و تمام میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای آن از بین بروند.

۱. شیر ایمن شده

شیر ایمن شده عبارت است از شیر مربوط به گاوهایی که به صورت منظم توسط یک واکسن مخصوص ایمن شده‌اند. این واکسن حاوی باکتری‌های عامل آلودگی دستگاه گوارش انسان است که توسط حرارت استریل شده است. تلقیح این واکسن باعث می‌شود که بدن گاو پادتن‌هایی بر علیه باکتری‌ها تولید کند و این پادتنها وارد شیر گاو می‌شوند. مصرف این شیر توسط انسان به او مصونیت اکتسابی می‌دهد که مشابه مصونیت منتقل شده توسط شیر مادر به نوزاد است.

۲. فرآیندهای حرارتی

۲-۱- پاستوریزاسیون

اگر شیر را در معرض درجات حرارتی بالا قرار داده و سپس خنک کرد، به مدت بیشتری قابل نگهداری است. بنا به تعریف فدراسیون بین المللی شیر[2] پاستوریزاسیون به منظور به حداقل رساندن خطرات ایمنی ناشی از فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا است. فرآیند حرارتی باید کمترین تغییرات شیمیایی و فیزیکی و ارگانولپتیکی را روی محصولات لبنی به دنبال داشته باشد. انواع پاستوریزاسیون عبارتند از:

- **درجه حرارت پایین زمان طولانی**[3]: با این روش شیر در دیگ دو جدارهٔ بزرگ مجهز به همزن، در حرارت $۶۵^{o}C$ به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه می‌شود.
- **پاستوریزاسیون درجه حرارت بالا زمان کوتاه**[4]: این روش جایگزین روش درجه حرارت پایین زمان طولانی شده، شیر داخل تبادل‌کنندهٔ حرارتی فرستاده می‌شود و در $۷۲^{o}C$ به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه نگهداری شده و سپس سریع خنک می‌شود.
- **پاستوریزاسیون سریع**[5]: با این روش شیر در دمای $۹۰^{o}C$-۸۰ و به مدت ۱۵-۴ ثانیه پاستوریزه می‌شود. [۳].

۲-۲- ترمیزاسیون[6]

در بسیاری از کارخانجات بزرگ که امکان پاستوریزاسیون سریع شیر بعد از تحویل آن وجود ندارد و در نتیجه باید مقداری از شیر را برای ساعت‌ها و روزها در سیلوها نگهداری کرد، از این روش استفاده می‌شود. در این روش شیر به مدت ۱۵ ثانیه حرارت $۶۵^{o}C$-۶۳ را متحمل می‌شود. در بسیاری از کشورها پاستوریزاسیون دوباره شیر ممنوع است، بنابراین ترمیزاسیون نباید به حرارت پاستوریزاسیون برسد و آزمایش فسفاتاز شیر باید مثبت باشد. این روش باعث کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها شده و از تکثیر هوازی‌ها جلوگیری می‌کند. شیر بعد از حرارت دادن در $۴^{o}C$ خنک می‌شود. بعضی از کارشناسان بر این باورند که ترمیزاسیون دارای اثر مطلوب بر روی باکتری‌های ایجادکنندهٔ هاگ بوده و باعث تبدیل آن‌ها به شکل نباتی باکتری می‌شود که در نتیجهٔ پاستوریزاسیون بعدی از بین خواهند رفت. این روش باید فقط در موارد خاصی صورت گیرد و هدف بر این اصل باشد که شیر در ظرف ۲۴ ساعت بعد از ورود به کارخانه، پاستوریزه شود[۴].

۲-۳- استریلیزاسیون

در استریلیزاسیون، شیر را به مدت کوتاه در معرض حرارت بالا قرار داده و کلیهٔ میکروارگانیسم‌های آن را از بین می‌برند. استریل‌کردن شیر جهت نگهداری آن بسیار مطلوب بوده (۶ ماه یا بیشتر در دمای محیط) و این خود مزیتی برای شیر استریلیزه محسوب می‌شود. برای استریلیزاسیون شیر از دو روش عمده استفاده می‌شود:

۱. **استریلیزاسیون**[7]: شیر صاف و هموژنیزه در بطری‌های تمیز، پر شده سپس دربندی و به تونل بخار منتقل می‌شود. بطریها در درجه حرارت $۱۲۰^{o}C$-۱۱۵ به مدت ۴۰-۱۵ دقیقه قرار گرفته، بعد بلافاصله سرد می‌شوند. استریلیزاسیون شیر در اتوکلاو یا برج‌های هیدرواستاتیک انجام می‌گیرد.

۲. **استریلیزاسیون فرادما**[8]: در روش فرادما شیر در یک مدار بسته وارد و ابتدا در سر راه خودگرم شده سپس استریلیزه، هموژنیزه و خنک شده و به طور آسپتیک (سترون) بسته‌بندی می‌شود. حرارت در این روش $۱۵۰^{o}C$-۱۳۵ به مدت ۵-۲ ثانیه است که ممکن است به صورت مستقیم یا غیر مستقیم به شیر وارد شود.

۳. استفاده از انرژی الکتریکی[9]

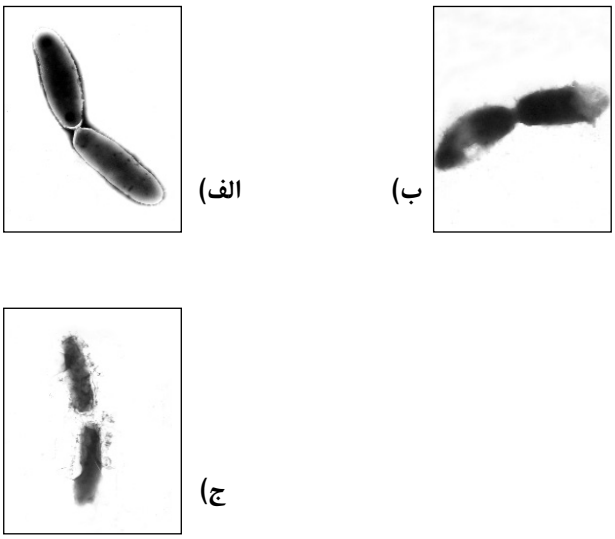
روش PEF به راحتی قابل کنترل است، در زمان خیلی کوتاه در حد میکرو ثانیه و با انرژی حداقل که تنها ۰/۰۰۱ کل انرژی استفاده شده در روش‌های حرارتی، امواج فراصوت و ماکروویو... است، انجام می‌گیرد. افزایش دما کمتر از $۵^{o}C$ است و برای مواد غذایی حساس به حرارت

1.CFU=Colony Forming Unit
2.IDF= International Dairy Federation
3.LTHT= Low Temperature Holder pasteurization
4.HTST= High Temperature Short-Time pasteurization
5.Flash pasteurization
6.Thermizatin
7. Batch
8. UHT= Ultra High Temperature
9.PEF= Pulsed Electric Fields

مناسب است. این یکی از پیشرفت های جدید و جالب توجه بر اساس تبدیل مستقیم انرژی الکتریکی به گرما است که در آن سیال به عنوان مقاومت الکتریکی و محیط رسانا عمل می‌کند (حرارت اهمی)، سیال در یک لوله نارسانا قرار می‌گیرد که در دو سر آن دو الکترود قرار گرفته است.

اگر یک جریان متناوب از سیال عبورداده شود گرما تولید می‌شود و غشاء سلول میکروارگانیسم در محیط PEF با ولتاژ بالا و شدت انتخابی مناسب تخریب شده و به واسطهٔ نشت سیتوپلاسم و بیرون ریختن محتوای سلول، میکروارگانیسم می‌میرد(شکل ۱) [۵].

کارآیی تبدیل بالاتر از ۹۰٪ است. از محاسن اصلی این روش حرارت دادن یکسان است، هیچ اختلاف درجه حرارتی مشاهده نمی‌شود و هیچ کدام از محدودیت‌های مربوط به انتقال حرارت در مایع و رسانا وجود ندارد. علاوه بر اینها این نوع فرآیند برای روش پیوسته مناسب‌تر است و احتیاجی به سطوح انتقال حرارت داغ ندارد و تشکیل رسوب را کاهش می‌دهد. مزیت دیگر این است که مایعات محتوی دانه‌های ریز همچنین می‌توانند با این روش فرآیند شوند. در اصل این تکنیک مشابه حرارت‌دادن با میکروویو است ولی ادعا شده که این تکنیک نسبت به میکروویو دارای هزینه ثابت کمتر و کارایی تبدیل انرژی بالاتر است [۶].



ب) الف) ج)

شکل۱- الف)سلول باکتری قبل ازعملیات ب)سلول باکتری بعدازتأثیر میدان الکتریکی ج)تخریب دیواره سلول باکتری

۴- استریلیزاسیون با سیال فوق بحرانی[1]

در روش سیال فوق بحرانی، دیاکسیدکربن به ماده هدف در فشارهایی در محدوده ۳۰۰psi -۲۰۰۰ و دماهایی در محدوده $30^{o}C$ -۴۵ در زمان بین ۲۰ دقیقه تا ۶ ساعت تزریق می‌شود. هم زدن، تغییرات فشار و حضور آب، اجازه نفوذ سیال فوق بحرانی به درون سلول میکروارگانیسم‌ها را می‌دهد که در نهایت pH درون سلول‌ها تغییر می‌کند و سلول‌ها نابود می‌شوند. اندازه و سرعت تغییرات فشار همانند زمان و دمای عملیات مطابق با نوع و شکل ماده و نوع میکروارگانیسم یعنی طبیعت دیواره سلولی و شکل سلولی که باید نابود شود تغییر می‌کند برای مثال، دیواره سلولی میکروارگانیسم‌های گرم منفی شکنندگی بیشتر و مقاومت کمتر در برابر افزایش فشار داخلی نسبت به میکروارگانیسم‌های گرم مثبت دارند. آزمایش‌ها با استفاده از سیال فوق بحرانی تترا فلوئورو اتان که خصوصیات بحرانی شبیه به دی‌اکسیدکربن دارد، ولی از نظر خصوصیات شیمیایی و اندازه مولکولی متفاوت است، منجر به هیچ کاهش قابل توجهی درسلول‌های موجود نشده است. به طور مشابه، آزمایش‌هایی با استفاده ازگاز نیتروژن در همان شرایط عملیاتی سیال فوق بحرانی دی‌اکسیدکربن انجام شده است که نتایج مطلوبی به دنبال نداشته است. فعالیت ضد میکروبی دی‌اکسیدکربن فشار بالا، به نفوذپذیری آن به درون میکروب‌ها بستگی دارد. دی‌اکسیدکربن، pH داخلی سلول میکروارگانیسم را به یک سطح کشنده در مقابل اسیدهایی مانند اسید فسفریک یا اسید هیدروکلریک پایین می‌آورد؛ زیرا این اسیدها نمی‌توانند به آسانی وارد سلول‌های میکروبی شوند، به این ترتیب سلول متلاشی می‌شود. این روش می‌تواند برای استریلیزاسیون گونه‌های وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، شامل باکتری‌های گرم منفی وگرم مثبت استفاده شود [۷].

۵- جداسازی مواد ناخالص خارجی با روش گریز از مرکز

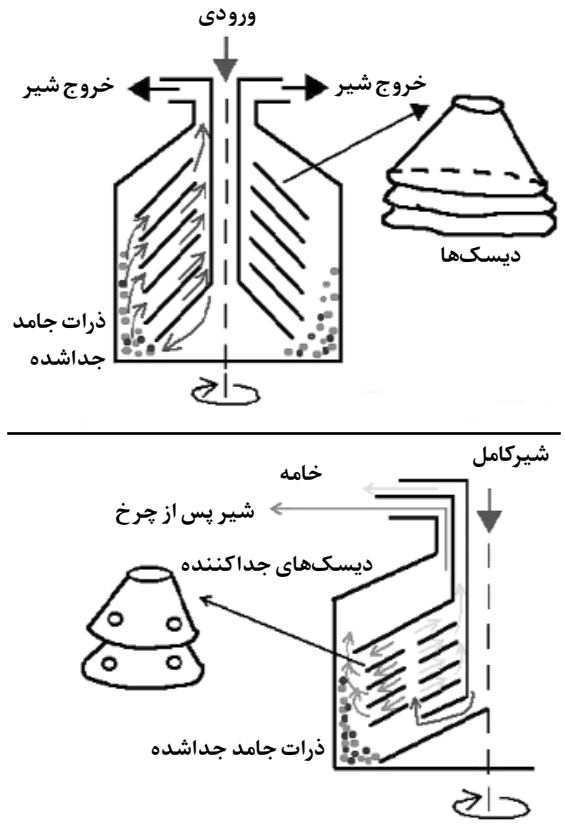
در این روش برای جداسازی از یک دستگاه جداکننده[2] استفاده می‌شود که دارای یک کاسه است که به طور عمودی روی پایه‌ای قرارگرفته و حول محوری می‌چرخد. در داخل کاسه صفحات مخروطی شکل در فواصل کمی(تقریباً ۲ mm از یکدیگر قرار گرفته‌اند. هر صفحه دارای منافذی جهت جریان شیر است که مسافت عبور فاز سنگین‌تر را کاهش داده و قدرت جداسازی و سرعت عمل را افزایش می‌دهد. شیر از طریق دریچه ورود، وارد مجرای جداکننده می‌شود و از طریق دریچه دیگری خارج می‌شود(شکل۲). در طی عبور و چرخش درون جداکننده، ذرات (ناخالصی‌ها) سنگین‌تر به طرف دیواره خارجی جداکننده رفته و از شیر جدا می‌شوند. نیروی گریز از مرکز روی تمام ذرات اثرکرده و آن‌ها را به طرف دیواره خارجی دستگاه می‌راند. این مواد ناخالص و خارجی از ذرات گرد و غبار، سلول‌های پستانی، گلبول‌های سفید(لوکوسیت‌ها)، گلبول‌های قرمز، باکتری‌ها و غیره تشکیل شده‌اند. شیر ترش و لخته شده دارای رسوب بیشتری است، در صورتی که وارد دستگاه جداسازی شود، به سرعت فضای مخصوص جمع‌آوری رسوب را پر می‌کند، با توجه به این‌که

1. Super Critical Fluid

2. Separator

دستگاه مجهز به رسوب‌زدای خودکار است بنابراین در تناوب‌های مشخصی رسوب را از دستگاه جدا می‌کند.

در این روش میکروارگانیسم‌های نامطلوب موجود در شیر به طور مکانیکی جدا می‌شوند. این جداکننده باکتوفیوژ[1] نام دارد. از این روش به منظور تکمیل عمل سالم‌سازی شیر به وسیلهٔ حرارت و بالا بردن کیفیت نگهداری شیرهایی که تعداد باکتری‌های آن‌ها زیاد است استفاده می‌کنند. خوشبختانه میکروارگانیسم‌های مقاوم در مقابل حرارت به طور معمول از بقیه سنگین‌تر بوده و به آسانی از شیر جدا می‌شوند. باکتری‌ها در نتیجه تراکم به دور هم و تحت تأثیر نیروی گریز از مرکز به طور مداوم در فاز سنگین‌تر، از شیر خارج می‌گردند. شیری که به این ترتیب سالم سازی شده است چون تحت تأثیر نیروی زیاد سانتریفوژ قرار می‌گیرد دارای پروتئین بیشتری است که جهت تولید پنیر مطلوب است [۸].



شکل۲ -دستگاه جداکننده با نیروی گریز از مرکز

۶- استریلیزاسیون با غشاء

اکثر روش‌های اشاره شده برای استریلیزاسیون شیر، میکروارگانیسم‌های موجود در آن را از بین برده و متلاشی می‌کنند. لاشه میکروارگانیسم‌ها داخل شیر باقی مانده و باعث بروز مشکلات فراوانی می‌شود. روش غشایی بر اساس جداسازی میکروارگانیسم‌ها از شیر بدون رها ساختن لاشهٔ آن‌ها در درون شیر صورت می‌گیرد. جداسازی میکروارگانیسم‌ها شامل باکتری‌ها و اسپورها و سلول‌های سوماتیک از شیر به وسیلهٔ تکنولوژی جداسازی غشاء، پتانسیل مهمی در بهبود ایمنی و سلامت و طول عمر شیر و فرآورده‌های لبنی است.

انواع فرآیندهای غشایی در صنعت لبنیات به کار می‌رود (شکل۳). غشاهایی که در صنعت شیر بکار می‌روند، باید دارای ویژگی‌های زیر باشند:

۱. نسبت به مواد پاک‌کننده و ضدعفونی‌کننده مقاوم باشند.
۲. دارای مقاوت شیمیایی و باکتریولوژیکی خوب باشند.
۳. قابلیت عبور مقادیر زیاد شیر را داشته باشند.
۴. هزینه تهیه آن‌ها ارزان و مقرون به صرفه باشد.
۵. دارای قدرت انتخاب بالایی باشند.

غشاءهای سرامیکی برای این امر مناسب هستند. مقاومت فیزیکی، شیمیایی و حرارتی بالا، توانایی استریلیزاسیون با بخار، امکان شست‌وشو سریع با جریان معکوس[2]، مقاومت باکتریایی بالا، فلاکس زیاد از دیگر مشخصات غشاء های سرامیکی است [۹].

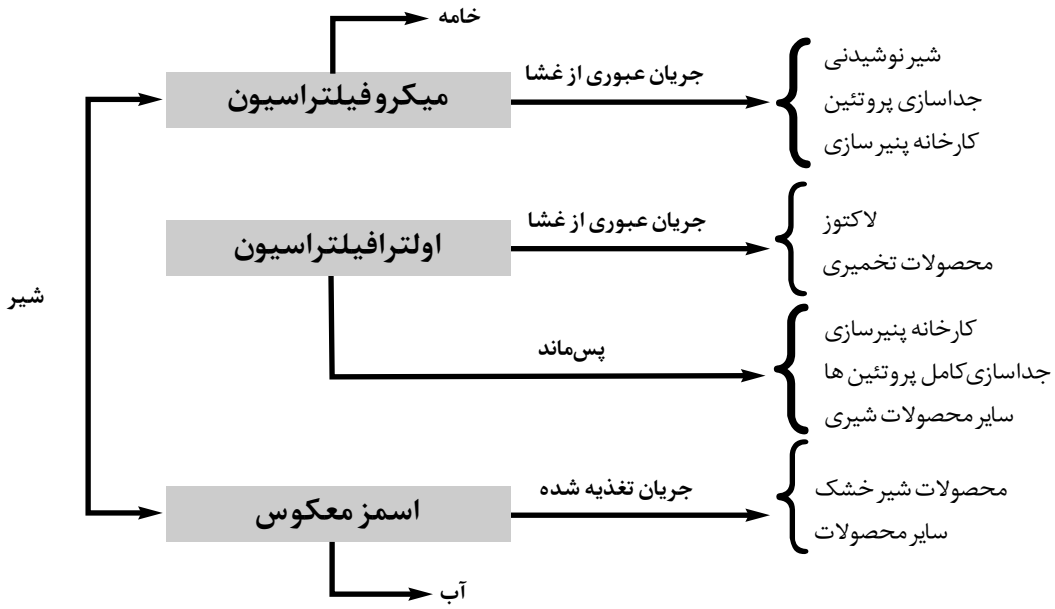
۶-۱- میکروفیلتراسیون[3]

فرآیند جداسازی به وسیلهٔ غشاء بر اساس اندازه مواد انجام می شود. میکروفیلتراسیون برای جداسازی ذرات بسیار کوچک، الترافیلتراسیون برای جداسازی ماکرو مولکول‌ها، نانو فیلتراسیون برای جداسازی مولکول‌ها و اسمز معکوس برای جداسازی یون‌ها به کار می‌رود. در سیستم میکروفیلتراسیون اندازه منافذ بزرگ‌تر از اولترافیلتراسیون بوده و بیشتر برای پاک سازی و استریلیزاسیون مایعات به کار می‌رود. میکروفیلتراسیون به دو صورت انجام می‌پذیرد جریان عمودی یا انتها بسته[4] و جریان متقاطع[5].

در حالت اول جریان سیال عمود بر سطح غشاء است و در صورت دوم این جریان موازی سطح غشاء است. باگذشت زمان حفره‌های غشاء و سطح آن با ذرات موجود در خوراک مسدود و منجر به گرفتگی غشاء[6] می‌شود، بنابراین باید غشاء را شست‌وشو و یا تعویض کرد. این روش به طور موفقیت آمیز در مورد عصاره میوه‌ها، نوشابه‌ها، شیر و آب به‌کار برده می‌شود [۱۰].

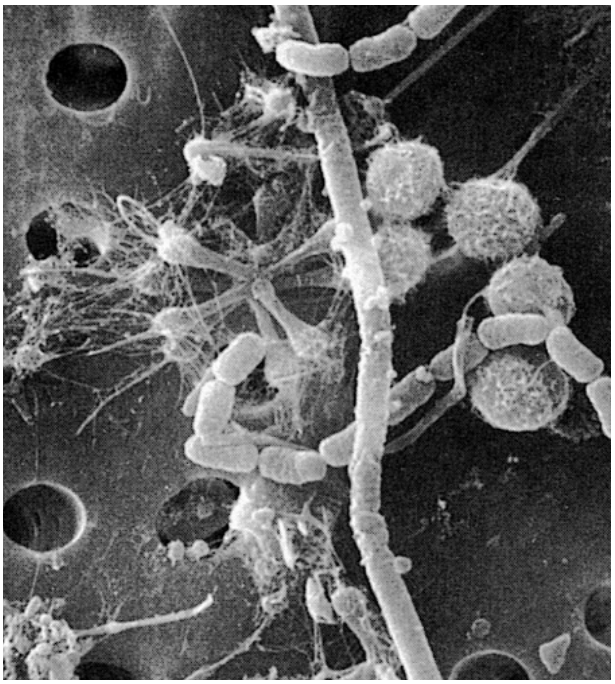
1. Bactofuge

2. back flushing
3. Microfiltration
4. Dead End
5. Cross flow
6. Fouling



شکل ۳-فرآیندهای غشائی در صنایع لبنی

با توجه به اندازهٔ اجزای شیر استفاده از میکروفیلتر برای کاهش بار میکروبی شیر مؤثر است. گلبول‌های چربی که بزرگ‌ترند همراه میکروارگانیسم‌هایی مانند: باکتری‌ها، کپک و مخمر بر سطح غشاء باقی می‌مانند (شکل ۴) [۱۱].



شکل ۴- تجمع انواع میکروارگانیسم‌ها بر سطح غشاء در فرآیند میکروفیلتراسیون

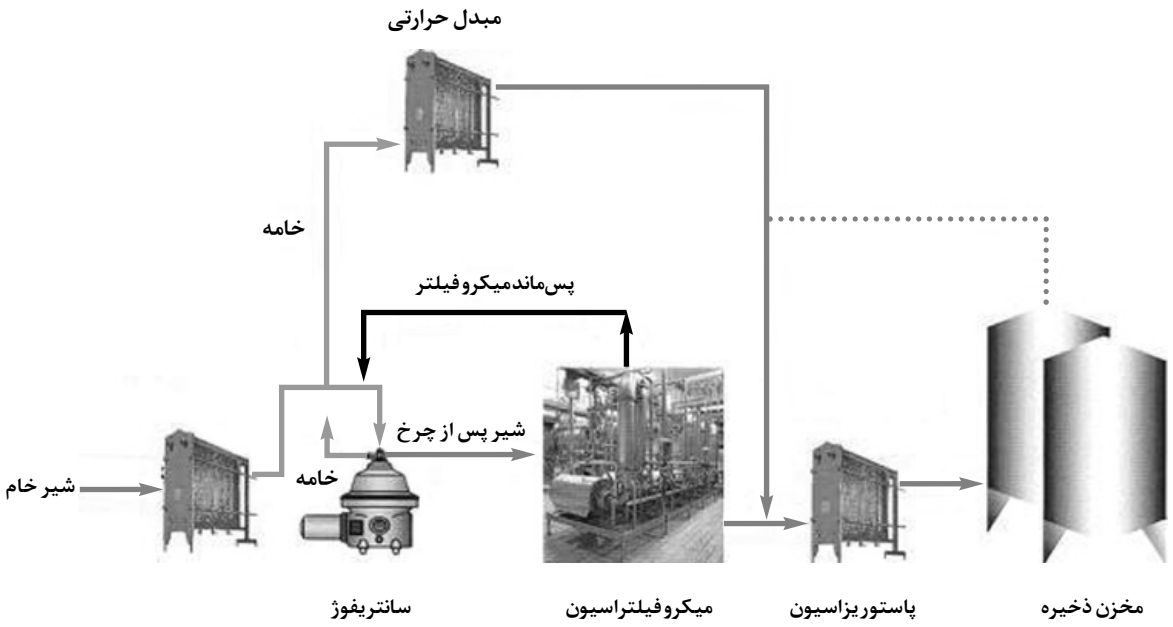
در صورت جداکردن باکتری‌های مقاوم به گرما و اسپورهای آن‌ها به کمک میکروفیلتراسیون، قبل از فرآیند پاستوریزاسیون، زمان نگهداری شیر پاستوریزه افزایش می‌یابد. استفاده از این روش باعث بهتر شدن محصول به دست آمده وکیفیت آن خواهد شد، به طوری‌که شیر به دست آمده علاوه بر افزایش زمان ماندگاری، دارای طعم و مزه و رنگی مشابه شیر خام است. نگهداری شیر پاستوریزهٔ معمولی در دمای ۸ به مدت ۶ تا ۸ روز امکان‌پذیر است و در صورت استفاده از میکروفیلتراسیون به مدت ۲۱-۱۶ روز قابل نگهداری است (شکل ۵)[۱۲].

شماتیکی از میکروفیلتراسیون در صنعت لبنیات در شکل ۶ نشان داده شده است. خوراک، شیر خام با ۴/۱٪ چربی است که ابتدا از دستگاه جداکننده با نیروی گریز از مرکز استفاده شده تا جداسازی اولیه صورت گیرد و شیر پس‌چرخ (شیری که چربی آن گرفته شده است) و خامه به دست آید. استفاده از شیر کامل باعث گرفتگی سریع غشاء می‌شود، بنابراین شیر پس چرخ از میکروفیلتر عبور داده می‌شود. جریان عبورکرده از غشاء[1]، جریانی عاری از میکروارگانیسم و ناخالصی است اما جریان پس‌ماند[2] که حاوی میکروارگانیسم‌ها، چربی و ذرات بزرگ‌تر از اندازهٔ حفره‌های غشاء هستند، دوباره به خوراک برگردانده می‌شود [۱۳].

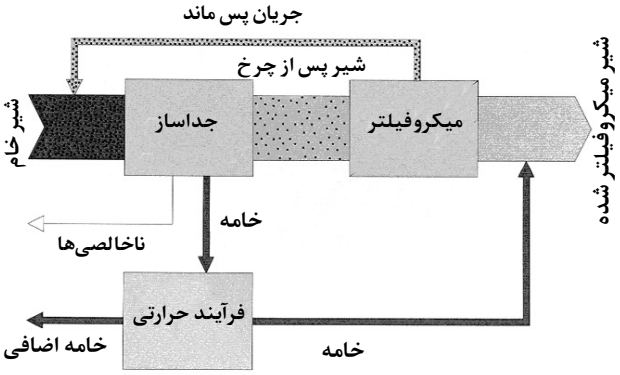
۶-۱- بررسی پارامترهای مؤثر بر میکروفیلتراسیون

آزمایشات و تحقیقات زیادی توسط محققین به منظور استفاده از غشاءها برای کمک به سالم سازی بهتر شیر انجام شده است. طول عمر نگهداری شیر پس چرخ پاستوریزه شده که تحت فرآیند

1. Permeate
2. Retentate



شکل۵- شماتیکی از میکروفیلتراسیون همراه پاستوریزاسیون شیر



شکل۶- میکروفیلتراسیون در جداسازی میکروارگانیسم‌ها

میکروفیلتراسیون قرارگرفته تابعی از دمای نگهداری آن است.

شیر در دماهای۰/۱، ۴/۲، ۲و$6/1^{o}C$ نگهداشته شده، شمارش کلی باکتری‌ها در ابتدا بیشتر از ۲۰۰۰ ml/cfu بوده است. نتیجه نشان داده‌که رنج زمان نگهداری شیر از ۱۶روز در$6/1^{o}C$ به ۶۶ روز در$0/1\ ^{o}C$رسیده است. کاهش دما، زمان نگهداری را افزایش می‌دهد و سرعت رشد لگاریتمی جمعیت میکروب‌ها را کاهش می‌دهد. به وسیلهٔ یک ست آزمایشگاهی مجهز شده با غشاء سرامیکی که حفره‌های آن $1/4\ \mu m$ است، شیر خام در دمای$50^{o}C$ میکروفیلتر شده و جریان عبوری از غشاء در دمای$72^{o}C$ به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه و در دمای $6\ ^{o}C$ سرد شده است. شمارش باکتری‌ها به روش صفحه‌ای استاندارد انجام شده،که اساس این روش شمارش کلنی‌های رشدکرده در محیط‌کشت‌های اختصاصی است. برای هر سه نمونه، تعداد باکتری‌ها cfu/ml ۰/۰۰۵ و ۰/۰۰۸ و۰/۰۰۵ بوده است. از ادغام میکروفیلتراسیون و پاستوریزاسیون ۵/۶ درجه کاهش لگاریتمی باکتری‌ها، از شیر خام به دست آمده است. شیرهای پس چرخ فیلتر شده و پاستوریزه شده را در چهار دما نگهداری کرده‌اند. پروتئولیز شیر بعد از ۳۲ روز در دمای۶/۱، بعد از ۴۶ روز در دمای ۴/۲، بعد از ۷۸ روز در دمای۲ و بیشتر از۹۲روز بعد در دمای۰/۱ اتفاق افتاده است [۱۴].

میکروفیلتراسیون در جداسازی اسپور باکتری‌ها از شیرکارایی بسیار خوبی دارد. از میکروفیلتراسیون به عنوان یک پیش مرحله قبل از پاستوریزاسیون HTST استفاده شده تا اسپورهای "باسیلوس آنتراسیس" در شیر خام رفع شود. از ۲۰۰ml شیر خام آغشته شده با این میکروارگانیسم که حاوی شش سیکل لگاریتمی اسپور باسیلوس آنتراسیس بوده، به عنوان مادهٔ اولیه استفاده شده است [۱۵]. شیر را از میکروفیلترهایی با اندازه حفره‌ای مختلف مثل $0/5\ \mu m$، ۰/۸، ۱/۴و با سرعت‌های مختلف m/s ۲۴و ۶ از غشاء عبور داده‌اند. سپس اجزای شیر یعنی لاکتوز،کلسیم و پروتئین های شیر اندازه‌گیری شده‌اند. این آزمایش در دو حالت متفاوت با و بدون جریان معکوس انجام شده‌که جریان معکوس از گرفتگی غشاء و اثرات پلاریزاسیون غلظتی ممانعت کرده است. نمونه های جریان عبوری از غشاء را جمع‌آوری، و در طول یک دوره ۴/۵ ساعته، به طور مستقیم در صفحات BHI آگارکشت داده‌اند، تا اسپورهای زنده شمارش شوند. نتایج نشان داده‌که غشاء ۰/۵ میکرونی برای میکروفیلتر شیر زیاد مناسب نیست، زیرا شار جریان نفوذی‌کم بوده و حفره‌های غشاء خیلی سریع گرفته شده‌اند. گرفتگی حفره های غشاء بعد از ۵ دقیقه مشاهده شده است. غشاء ۰/۸ میکرونی در هر سه سرعت بالا مطالعه و نتایج نشان داده‌که به طور تقریبی ۶/۲ سیکل لگاریتمی

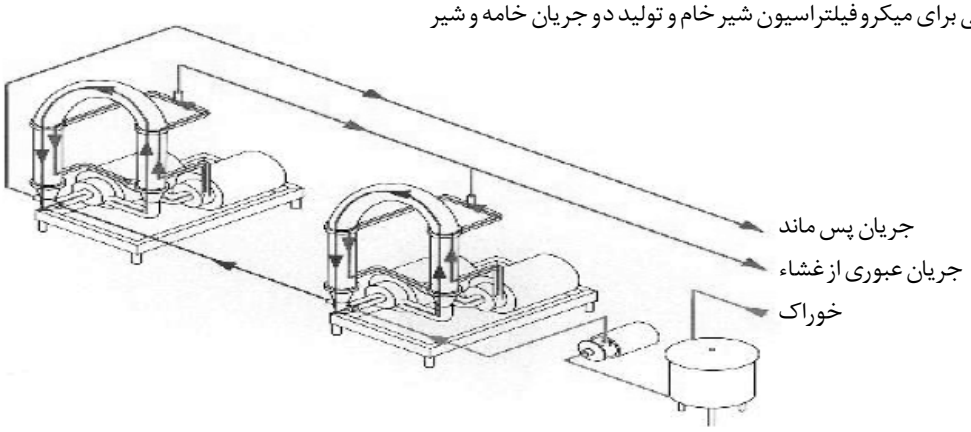
اسپور باسیلوس آنتراسیس به ازاء یک میلیلیتر شیر، رفع شده است. برای غشاء ۱/۴ میکرونی حداکثر پس ماند اسپورها، حدود۳ سیکل لگاریتمی اسپور باسیلوس آنتراسیس به ازاء یک میلیلیتر شیر بوده است. در سرعت ۶m/s لاکتوز، کلسیم و پروتئین‌های شیر ۱۰۰٪ از غشاء عبور کردند[۵].

Turgoen و همکاران اثرات دما و pH را روی میکروفیلتراسیون شیر بررسی کردند. از غشاء سرامیکی با اندازه حفره ای ۰/۱ میکرومتر استفاده کرده و نتیجه را با دیافیلتراسیون و اولترافیلتراسیون مقایسه کردند. دیافیلتراسیون در ۶ =pH خاکستر را کاهش و محتوای پروتئین را افزایش داده، در مقابل، میکروفیلتراسیون در ۶/۶ =pH نتیجه مطلوبی داده است. استفاده از دیافیلتراسیون مزایایی به خصوص در تصفیه میسل‌های کازئین دارد، اما حجم زیادی محصول رقیق به دست آمده که احتیاج به فرآیندهای اضافی داشته و در نتیجه هزینه‌های مصرفی افزایش یافته است [۱۶].

Glimenius و همکاران در سال ۱۹۷۹ یک ثبت اختراع ارائه دادند که در آن روشی برای میکروفیلتراسیون شیر خام و تولید دو جریان خامه و شیر پس چرخ شرح داده شده است. جداسازی به وسیلهٔ جریان عبوری شیر در سرعت‌های بالا با یک غشاء مناسب با اندازه حفره‌ای ۰/۲ تا ۱۰ میکرومتر انجام شده است [۱۷].

در سال ۱۹۸۹ Olesen و Jensen از انستیتو تحقیقات لبنی دانمارک، ۹۹/۹ ٪ کاهش در کل باکتری‌های شیر خام و به طور متوسط ۹۹/۹۸ ٪ کاهش در اسپورهای باسیلوس سرئوس به کمک فرآیند میکروفیلتراسیون راگزارش کرده اند [۱۸].

روش میکروفیلتراسیون با جریان متقاطع[1] برای رفع فیزیکی باکتری‌ها، اسپورها و سلول‌های سوماتیک از شیر، می‌تواند کیفیت و زمان نگهداری شیر و محصولات لبنی را بهبود ببخشد (شکل ۷). بیشترین بازدهی وقتی به دست می‌آید که این فرآیند به عنوان یک پیش مرحله مقدماتی روی شیر خام انجام گیرد. مزیت این تکنیک ناشی از این حقیقت است که فرآیند در دمای کمتر از $7^{o}C$ یا ۴F به منظور حفظ خواص فیزیکی و شیمیایی و بیولوژیکی شیر خام انجام می‌گیرید[۱۹]



الف

ب

شکل۷) الف و ب - نمایی از فرآیند میکروفیلتراسیون در صنعت لبنیات

1.Cross Flow Microfiltration

۶-۲- گرفتگی غشاء

مشکلی که در استفاده از روش های غشایی وجود دارد مسألهٔ گرفتگی غشاء است که باید راهکارهایی برای رفع آن پیدا کرد. در درجه اول باید عواملی که باعث گرفتگی غشاء می‌شوند، کنترل کرد که عبارتند از:

۱. اگر آب پنیر آنزیمی حدود۱ الی۲ ساعت قبل از فرآیند در دمای۵۵ نگهداری شود سرعت عبور جریان در سیستم افزایش می‌یابد، زیرا حلالیت کریستال های فسفات کلسیم آب پنیر با افزایش دماکم می‌شود و کریستال‌ها شروع به رشد کرده، با این کار می‌توان فسفات کلسیم را از آن جدا کرد. دما نباید از۶۰ درجه سانتیگراد بالاتر باشد چون در این دما پروتئین‌های موجود در آب پنیر شروع به دناتوره شدن می‌کنند و ساختار آن‌ها به هم می‌ریزد.

۲. تأثیر چربی یکی از عوامل مهم در گرفتگی غشاء است که با افزودن کلسیم خنثی می‌شود.

۳. استفاده از شیر پس چرخ برای فرآیندهای غشایی کارایی فرآیند را بالا می‌برد.

۴.اگر pH آب پنیر تنظیم شود رسوب در غشاء قابل کنترل است.

۵.انواع مختلفی از روش‌های ایجاد آشفتگی برای کاهش پلاریزاسیون غلظتی و گرفتگی غشاء پیشنهاد شده است. همزن به عنوان ایجادکننده آشفتگی معرفی شده که باعث کاهش مصرف انرژی می‌شود.

۶.املاح موجود در آب پنیر باید جدا شود تا از رسوب در غشاء جلوگیری شود. کلسیم را می‌توان به وسیلهٔ سدیم جایگزین کرد.

۷. می‌توان رسوب تشکیل شده را با شست‌وشوی روزانه غشاها به وسیلهٔ مواد اسیدی و قلیایی رسوب‌زدایی کرد. با افزودن آنزیم پروتئولیتیکی به فرمولاسیون محلول قلیایی، رسوب‌زدایی به نحو مطلوب انجام می‌گیرد. از ۵ mg پروتئاز در هر mlit و ۰/۵- ۰/۲۵ درصد محلول قلیایی(سدیم دودسیل سولفات) به طور مخلوط استفاده شده است.

۸. چنانچه جهت بهبود غشاء از یک لایه نازک پلیمرهای آب‌دوست (ازگروه پلی وینیل اتر) در سطح غشاء استفاده شود، رسوب‌زدایی لازم نیست.

۹. رسوب و گرفتگی منافذ غشاء به عوامل متعددی از جمله پروتئین‌های آب پنیر، املاح(کلسیم) و لیپیدها مربوط می‌شود. ٪۵ از رسوب ایجاد شده مربوط به میسل‌های کازئین می‌شود. بیش از٪۹۰ رسوب تشکیل شده را پروتئین‌های محلول درآب (به خصوص پروتئین‌های آلفا- لاکتوآلبومین، بتا- لاکتوگلبومین) تشکیل می‌دهد. آلفا-لاکتوآلبومین در آب پنیر ٪۳/۸ از کل پروتئین را تشکیل‌می‌دهد ولی٪۸۰ رسوب جذب شده در سطح غشاء را شامل می‌شود. میزان رسوب پروتئین‌های محلول در آب بستگی به pH آب پنیر دارد. اگر pH کم باشد، رسوب افزایش می‌یابد. بتا- لاکتوگلبومین دارای ۴/۵ =pH است، که میزان جذب رسوب در سطح غشاء به حداکثر می‌رسد. املاح، به خصوص نمک‌های فسفات‌کلسیم آب پنیر نقش اساسی در ایجاد رسوب در سطح و داخل منافذ غشاء دارند. یون کلسیم کریستالیزه شده و تمایل زیادی به رسوب‌کردن در غشاء دارد[۲۰].

نتیجه گیری

در پاستوریزاسیون سنتی، مواد غذایی تا یک دمای مشخص حرارت بالایی می‌بینند، همین امر باعث می‌شود پروتئین‌های داخل سلول دلمه بسته و دناتوره شوند و سپس سلول بمیرد. در فرآیند حرارتی با وجود این که میکروارگانیسم‌های پاتوژن کشته می‌شوند، اما رنگ، بو، مزه و خاصیت تغذیه‌ای مواد غذایی تنزل می‌یابد.

به علاوه این روش برای مواد غذایی حساس به حرارت مناسب نیست. برای تکمیل نقص‌ها وکاستی‌های روش‌های سنتی استریلیزاسیون، لازم است تکنیک‌های جدید که می‌توانند به نحو سریع و مؤثر میکروارگانیسم‌های مضر در مواد غذایی را از بین ببرند و محصولی با کیفیت بالا به دست آورند، معرفی شوند. این تکنیک‌ها عبارتند از: استریلیزاسیون PEF ولتاژ بالا، امواج فرا صوتی، اشعهٔ مادون قرمز و پالس قوی از نور.

اشعهٔ فرابنفش تنها در استریلیزاسیون روی سطوح مؤثر است، دما در این روش خیلی افزایش می یابد، بنابراین مناسب نیست. در سایر روش‌های گفته شده هر چند دمای استفاده شده پایین است اما به دلیل بر جای ماندن لاشهٔ میکروارگانیسم‌ها مناسب نیستند. یکی از بهترین و جدیدترین روش‌ها، استفاده از فرآیندهای غشایی است که اجازهٔ ورود میکروارگانیسم‌ها و اسپورها را به درون شیر نداده و باعث افزایش زمان ماندگاری شیر می‌شود. از طرف دیگر استفاده از فرآیندهای غشایی درکنار فرآیند حرارتی پاستوریزاسیون نیاز به استفاده از درجه حرارت‌های بالا مثل روش فرادما را منتفی می‌کند. لاشهٔ میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌های مقاوم به حرارت و اسپورها) گرفته شده و از ورود آن‌ها به داخل شیر ممانعت می‌شود. استفاده از میکروفیلتراسیون به افزایش زمان ماندگاری، بهبود خواص ارگانولپتیکی و حفظ خواص تغذیه‌ای شیر و فرآورده‌های لبنی کمک می‌کند.

مراجع

[1] Mirnezami Ziabary, S. H., Saneey, M. and Ordobody, F. (1996), Milk Chemistry and Milk Technology (in Persian), Dept. of Food Science and Technology, College of Agriculture, University of Tehran, Iran.

[2] Mortazavi, A. and Joyandeh, H. (2001), Technology of Milk & Dairy Products, Vol 1, Ferdowsi University Press, Mashhad, Iran.

[3] http://food Science. Aps. U. Guelph.

[4] Karim, G. (1999), Milk & Products, Jahad Daneshgahi, Tehran University, Iran.

[5] Barbosa, G. V., Gongora, M. M., Pothakamury, U. R. and Swanson, B. G. (1999), Preservation of Foods with Pulsed Electric Fields, Academic Press Ltd. London.
[6] Fany, J. and Piac, Z. (2006), "Study on high voltage pulsed electric fields sterilization mechanism experiment", Journal of American Science, 2(2), 39-43.
[7] Anjela, K., Farbia, D. and Jeffrey, S. (1999), Bacterial inactivation by using near and super critical, Department of Chemical Engineering and Material Science, University of Minnesota, Vol. 96, Issue 18, 10344-10348.
[8] Parker, M. (2002), Microbial growth control, 399-431.
[9]www.extraordinarydairy.com/archive/innov_008_jan_00.pdf
[10] Madaeni, S. S. (2001), Membranes and membrane processes (in Persian), Razi University Publications, Kermanshah, Iran.
[11] Fritsch, J. and Moraru, C. I. (2005), Process optimization for physical removal of microorganisms from raw milk by low temperature cross flow microfiltration (CMF), Dept. of Food Science, Cornell Univ., Stocking Hall, Ithaca, NY 14853.
[12] Fritsch, A., Belici,c. and Moraru, I. Microbial retention and
membrane fouling during Low temperature microfiltration of skim milk using ceramic membrane , Food Science, Cornell University, Stocking Hall, Ithaca.
[13] Freemantle, M. (2003), Membrane separations, membrane filtration systems can be customized for a variety of applications, C&EN, 81 (24), 33-35
[14] Mirnezami Ziabary, S.H. and Shariat Panahy, M. (1996), Milk & Milk Technology, University Tehran, Food Science and Technology College of Agriculture, Iran.
[15] Ewell, M. and Barbano, D. (2006), "Use of microfilteration to improve fluid milk quality" , Journal Dairy Science, 89, 20-30.
[16] Turgeon, S. and St-Gelais, D. (1995), "Combined effects of microfiltration and ultrafiltration on the composition of skim milk retentate", Journal of Dairy science 78, 128-135.
[17] Glimenius, A. and Jansson, R. K., (1979), "Filtering methods for separating from milk productions", US Patent 4, 40, 806
[18] Olesen, N. and Jensm, F. (1989), "Microfiltration the influence of operation of the process", 44.
[19] Anjela, K. and Farbia, D. and Jeffrey, S. (1999), Bacterial Inactivation by using near and super critical, Department of Chemical Engineering and Material Science, University of Minnesota, 96 (18) 10344-10348.
[20] http://www.lenntech.com/feedback2.htm