مجله سلامت و محیط، فصلنامه‌ی علمی پژوهشی
انجمن علمی بهداشت محیط ایران
دوره ششم ، شماره چهارم، زمستان ۱۳۹۲ ، صفحات۵۴۵ تا ۵۵۶

میزان حضور *باسیلوس سرئوس* در شیرخام دریافتی کارخانجات تولیدکننده پنیر فراپالایش

ژیلا مرادی خاتون آبادی[۱]، یحیی مقصودلو[۲]، حمید عزت پناه[۳]، مرتضی خمیری[۴] و مهدی امین افشار[۵]

دریافت:۱۳۹۲/۰۱/۲۱ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۱۹

چکیده:

زمینه و هدف: شیر و فرآورده های آن محیط بسیار مناسبی جهت رشد میکروارگانیسم هایی از جمله *باسیلوس سرئوس* هستند. *باسیلوس سرئوس* اسپورزا بوده و می‌تواند به راحتی طی پاستوریزاسیون زنده مانده و مشکلات متعددی را ایجاد نماید. این تحقیق به منظور بررسی میزان اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* در شیرخام دریافتی سه کارخانه تولیدکننده پنیر فراپالایش انجام گردید.

روش بررسی: نمونه‌گیری طی ۳۰ روز در فصل زمستان از ماشین حمل شیرخام انجام شد. همچنین نمونه سواب نیز از سطح داخلی تانکر حمل شیرخام به منظور تشخیص حضور *باسیلوس سرئوس* گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد اغلب نمونه های شیرخام در مقایسه با استانداردهای ملی و بین المللی دارای سطح بالایی از آلودگی به اسپورهای هوازی و به ویژه *باسیلوس سرئوس* بودند. نتایج بررسی منابع تأمین شیرخام مشخص کرد که با وجود سطح پایین آلودگی کل در دامداری صنعتی نسبت به دامداری سنتی و مراکز جمع آوری، اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* حتی از این دامداری ها نیز می توانند به کارخانجات انتقال یابند. همچنین بیشترین میزان بار میکروبی کل و *باسیلوس سرئوس* در مراکز جمع آوری و کمترین آن در دامداری صنعتی یافت شد. بررسی دامداری‌های صنعتی مشخص کرد که آلودگی پستان دام به خاک و مدفوع و آلودگی بستر گاو از منابع مهم آلودگی شیرخام هستند. نتایج آزمون سواب نیز بیانگر عدم کفایت عملیات شستشو و پاکیزه سازی در محل برای حذف کامل *باسیلوس سرئوس* بود.

نتیجه‌گیری: به منظور درجه‌بندی کیفیت شیرخام، شمار اسپورهای هوازی بسیار مؤثرتر از شمار کل میکروارگانیسم ها است. همچنین سیاست مدیریتی در برقراری تعادل بین مقدار و کیفیت شیرخام دریافتی و در نتیجه بهبود کیفیت، تأثیر به سزایی داشته و منجر به کاهش آلودگی کارخانجات شیر و محصول نهایی خواهد شد.

واژگان کلیدی: اسپور هوازی، *باسیلوس سرئوس*، پنیر فراپالایش، شیرخام

۱-کارشناسی ارشد علوم وصنایع غذایی، دانشکده علوم وصنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۲-دکتری تکنولوژی مواد غذایی، دانشیار دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۳-(نویسنده مسئول): دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشیار گروه تخصصی علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران *hamidezzatpanah@srbiau.ac.ir*
۴-دکتری میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشیار دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
۵-دکتری علوم دامی-ژنتیک و اصلاح نژاد، استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

مقدمه

شیرخام، محیط بسیار مغذی برای جلبک ها، پروتوزوآها، قارچ ها، باکتری ها و ویروس ها است. در این میان، باکتری ها به دلیل رشد سریع، توانایی استفاده از مواد مغذی، رشد در گستره دمایی وسیع و تولید اسپور در شرایط نامناسب دارای اهمیت هستند. بسیاری از کارشناسان بر این باورند که کلید دستیابی به فرآورده های شیری ایمن و با کیفیت، دنبال کردن استراتژی های طولانی مدت در زمینه بهبود کیفیت شیرخام است. به این منظور آزمایش هایی انجام می شوند که بتوانند ارزیابی رعایت اصول بهداشتی و سلامت دام را میسر سازند و در ضمن مبنای اختصاص پاداش یا جریمه هنگام خرید شیرخام نیز به حساب آیند. یکی از این آزمایشات سنجش بار میکروبی است [۱-۳].

تمامی مواد غذایی می توانند منجر به بیماری در انسان گردند و در این بین شیر و فرآورده های شیری نیز مستثنی نیستند. شیر ترشح شده از پستان دام سالم، حاوی شمار بسیار اندکی میکروب غالبا بی‌ضرر است؛ اما هر گونه آلودگی از منابع خارجی در مراحل مختلف کار با شیر (Milk Handling) ممکن است میکروارگانیسم های مختلف را به شیر منتقل نموده و آن را آلوده سازد. یکی از این موارد، آلودگی مجدد آن با میکروارگانیسم های بیماری زا است [۴-۵].

انواع مختلفی از باکتری های بیماری زا از شیرخام جداسازی شده اند. برخی از این باکتری های بیماری زا، اسپورزا هستند که می توانند شرایط پاستوریزاسیون را تحمل کرده، وارد محصول پاستوریزه گردند و ایمنی محصول و سلامت مصرف کننده را به خطر اندازند. *باسیلوس سرئوس* از جمله این میکروارگانیسم هاست و مهمترین بیماری زایی است که فرآیند پاستوریزاسیون را تحمل میکند و میتواند در دمای یخچال نیز رشد کند[۴]. گزارشات، نشان می دهند طی سال‌های ۱۹۸۵ تا ۱۹۹۲ در ایسلند و بین سال‌های ۱۹۸۸ تا ۱۹۹۳ در نروژ این باکتری بیماری زا به ترتیب ۴۷٪ و ۳۳٪ بیماری های ناشی از غذا را موجب شده است[۶].

باسیلوس سرئوس یک باکتری گرم مثبت، اسپورزا، با دمای بهینه رشد ^{o}C ۳۵-۲۸ و حداقل دمای رشد ^{o}C ۵-۴ است. مدت زمان یکبار تکثیر آن min ۲۷-۱۸ بوده و می تواند در pH= ۹/۳-۴/۹ و غلظت بالای نمک حتی حدود ۷/۵ درصد رشد کند. $D_{۱۰۰}$ اسپور آن min ۵/۴-۲/۲ بوده که این شاخص نشان‌دهنده مقاومت زیاد آن به حرارت است. اغلب در انواع مواد غذایی مانند فرآورده های شیری، محصولات گوشتی، ادویه ها و غلات یافت می شود [۷].

انتروتوکسین های این باکتری، دو نوع مسمومیت غذایی ایجاد می کنند:

۱- نوع اسهال آور (Diarrhea type): علائم آن h ۶ تا ۱۲ بعد از مصرف ماده غذایی حاوی سلول های رویشی بروز می کند. سم آن که به نام سرئولید (Cereulide) شناخته شده از سلول های در حال رشد *باسیلوس سرئوس* در روده کوچک تولید می‌شود[۸].

۲- نوع تهوع آور (Emetic type): علائم آن h ۱ تا ۵ بعد از مصرف ماده غذایی بروز می کند و سموم آن شامل همولایزین (Hemolysin) و سرولایزین (Cereolysin) هستند که به وسیله سلول های رویشی در ماده غذایی تولید می شود[۱، ۶، ۹].

این باکتری علاوه بر بیماری زا بودن، با داشتن فعالیت پروتئولیتیک، لیپولیتیک و آمیلولیتیک یکی از عوامل ایجاد فساد مواد غذایی نیز به شمار می رود [۱۰-۱۱]. همچنین به دلیل وجود برخی از انواع سرماگرای این باکتری که قادر به رشد در دمای ^{o}C ۴ تا ۶ هستند، امکان فساد محصول طی نگهداری در دمای یخچالی نیز وجود دارد [۱، ۱۲-۱۳]. معایبی نظیر ایجاد بد طعمی (Off Flavor)، لخته شیرین (Sweet Curdling) و لخته تلخ (Bitty Cream) در اثر فعالیت پروتئیناز، لیپاز و فسفولیپازهای حاصل از *باسیلوس سرئوس*، در فرآورده های شیری مشاهده شده است[۴].

شیرخام از منابع مهم آلودگی محصولات شیری به *باسیلوس سرئوس* است به طوری که طی تحقیقی که در سال ۱۹۹۴ انجام گردید، میزان باسیلوس ها در نمونه های شیرخام در اسکاتلند به طور میانگین $CFU/mL < ۱۰$ تا $CFU/mL > ۱۰^{۵}$ بود و در این بین *باسیلوس سرئوس* و *باسیلوس لیخینی فرمیس* بیشترین گونه های جدا شده بودند [۱۴].

در تحقیق دیگری که روی تفاوت باکتری های اسپورزای موجود در شیر، در ۵ دامداری و ۵ کارخانه تولید کننده فرآورده های شیری با استفاده از PCR انجام شد، ۹۷٪ اسپورها متعلق به باسیلوس ها بودند. تفاوت اصلی این گروه ها در میزان بالای *باسیلوس سرئوس* اعلام گردید[۱۵]. Ahmed و همکاران در سال [۱۶]۱۹۸۳ نیز این باکتری را از ۹٪ نمونه های شیرخام جداسازی کردند. بستر گاو، استفاده از علوفه تازه و آلودگی پستان به خاک از عوامل اصلی آلودگی شیرخام به *باسیلوس سرئوس* شناخته شده اند[۱۷].

این مطالعه با هدف ارزیابی شمار اسپورهای هوازی و تعداد *باسیلوس سرئوس* شیرخام ورودی سه کارخانه فرآوری کننده شیر و فرآورده های شیری استان گلستان صورت گرفت. همچنین ویژگی‌های میکروبی ذکر شده با برخی استانداردهای ملی و بین المللی مقایسه گردید و ضمن ارزیابی اثر نحوه مدیریت زنجیره تأمین شیرخام هر یک از واحدهای تبدیلی، تأثیر منابع تأمین شیرخام (دامداری های صنعتی، سنتی و مراکز جمع آوری) بر ویژگی های مذکور ارزیابی شد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

مواد و روش ها

-مواد و تجهیزات

در این تحقیق تمامی مواد مورد نیاز و محیط کشت های میکروبی از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. همچنین از وسایل و تجهیزات معمول در آزمایشگاه مانند انکوباتور، اتوکلاو و مانند آن استفاده شد.

-روش ها

با توجه به اهداف تحقیق ابتدا فهرستی از کارخانجات تولید کننده شیر و فرآورده های آن در سطح استان گلستان تهیه شد. پس از بررسی های لازم در مورد وضعیت محصول آنها در بازار و با توجه به نتایج آزمایشات آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی دانشگاه علوم پزشکی استان گلستان، در نهایت سه کارخانه جهت انجام طرح انتخاب گردید که با شماره های ۱، ۲ و ۳ در این گزارش مشخص شدند.

نمونه برداری در هر کارخانه به مدت حداقل ۱۰ روز در طی ۳ ماه در ماه های آذر، دی و بهمن سال ۸۸ انجام گردید. با توجه به اطلاعات موجود در کارخانه و پس از مشخص نمودن منبع تأمین شیرخام نمونه برداری از شیرخام موجود در هر یک از مخازن وسایل حمل‌کننده پس از هم زدن و تحت شرایط استریل و از سطوح داخلی مخازن تخلیه شده شیرخام مراکز جمع آوری و دامداری‌های صنعتی فوق نیز در شرایط استریل و به روش آزمون سواب پس از علیات شستشو و پاکیزه سازی در محل (Cleaning In Place) بر اساس استاندارد ۱۹۹۷– ISO۷۰۷ [۱۴] و AOAC ۹۶۸ /۱۲ سال ۲۰۰۵ [۱۵] انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله و بر اساس استاندارد ۱۹۹۷– ۷۰۷ ISO جهت آزمون های میکروبی به آزمایشگاه منتقل گردید.

-آزمون ها

شمارش بار میکروبی کل، اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس*

جهت شمارش کل میکروارگانیسم‌ها پس از رقیق نمودن نمونه های شیرخام، آنها بر روی محیط پلیت کانت آگار (Plate Count Agar) در دمای ۳۰ ºC به مدت ۷۲ h کشت داده شدند. جهت شمارش اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* ابتدا نمونه‌های شیرخام در دمای ۸۰ ºC به مدت ۱۰ min حرارت داده شده و سپس به ترتیب در محیط کشت پلیت کانت آگار (Plate Count Agar) در دمای ۳۰ ºC به مدت ۴۸ h و در محیط کشت اختصاصی MYP آگار (Monnitol egg Yolk Polymyxin B agar) در دمای ۳۰ ºC به مدت ۱۸ تا ۲۴ h کشت داده شدند. پس از رشد میکروارگانیسم‌ها پلیت هایی با ۲۵ تا ۲۵۰ کلنی در آزمون های شمارش کلی میکروبی و تعیین شمار اسپورهای هوازی و کلیه پلیت‌ها در مورد *باسیلوس سرئوس* (به دلیل تعداد اندک کلنی‌ها) در نظر گرفته شد و در انتها از فرمول زیر استفاده گردید که در آن N تعداد کلنی در هر میلی لیتر یا گرم از محصول، ΣC جمع تمام کلنی‌ها در تمامی پلیت‌ها، n_1 تعداد پلیت‌ها در کمترین رقت شمارش شده، n_2 تعداد پلیت‌ها در بیشترین رقت شمارش شده و d کمترین رقت اندازه‌گیری شده است [۱۶]:

$$N = \Sigma C / [(1 \times n1) + (0.1 \times n2)]d$$

-تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق تمامی آزمایشات در طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. برای مقایسه دو طرفه از آزمون t استفاده و سایر مقایسه‌ها به کمک آزمون تجزیه واریانس ANOVA و مقایسات چند دامنه ای دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

در هرکجا که داده ها از توزیع نرمال تابعیت نداشت و امکان نرمال کردن آنها نیز وجود نداشت، از آزمون غیرپارامتری کوروس کالوالیس (Krus Kalvalis) استفاده شد. نرم افزارهای مورد استفاده در این پژوهش MINITAB ۱۵/۲، SPSS ۱۶/۰ بودند.

یافته ها

کلیه ویژگی های میکروبی شیرخام دریافتی کارخانه ۱ در مقایسه با نمونه های سایر کارخانجات بطور معنی داری ($p < 0.05$) کمتر بود (جدول ۱).

به منظور جستجوی علل بالا بودن آلودگی شیرخام این سه کارخانه، ابتدا زنجیره تأمین و شرایط تأمین‌کنندگان شیرخام این کارخانجات مورد بررسی قرار گرفت. این بررسی نشان داد که میزان دریافت شیرخام در کارخانه‌های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب ۴۰، ۴۰ و ۵۰ *ton/day* است. همچنین تعداد دامداری‌های تأمین‌کننده شیرخام این سه کارخانه به ترتیب در کارخانه ۱، ۶ دامداری صنعتی و ۹ مرکز جمع‌آوری، در کارخانه ۲، ۴ دامداری صنعتی و ۱۲ مرکز جمع‌آوری و در کارخانه ۳، ۳۰ دامداری سنتی، ۲ دامداری صنعتی و ۱۰ مرکز جمع‌آوری بود. از سوی دیگر متوسط فاصله تأمین شیرخام توسط هر یک از کارخانه ها به ترتیب km ۴۲، ۶۷ و ۳۶ بود.

همچنین با بررسی شیرخام بر اساس منبع تأمین‌کننده همانطورکه در جدول ۱ مشاهده می‌شود میزان آلودگی در مراکز جمع‌آوری بیشتر از دامداری های صنعتی بوده و در کارخانه ۳، آلودگی شیرخام تهیه شده از این مراکز حتی از دامداری سنتی هم بیشتر است.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

جدول۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار برخی ویژگی های میکروبی شیرخام ورودی به کارخانجات مورد مطالعه

آزمون	منبع تأمین‌کننده شیرخام	کارخانه ۱	کارخانه ۲	کارخانه ۳
شمارش کلی(log cfu/mL)	دامداری سنتی	–	–	۶/۹۲ ^{a}±۰/۴۵
	دامداری صنعتی	۵/۲۲ ^{Ba}±۰/۴	۶/۲۶^{Aa} ±۰/۳۸	۶/۱^{Ab} ±۰/۶۳
	مراکز جمع‌آوری	۶/۷۶ ^{Ab}±۰/۸	۷/۰۳۴^{Bb} ± ۰/۴۳	۷/۳^{Cc} ±۰/۳۷
	کل	**۶/ ۴۹ ^{B}±۰/۶۸**	**۶/۸۲ ^{A} ± ۰/۴۲**	**۶/۷۸ ^{A} ± ۰/۵۷**
اسپورهای هوازی (log cfu/mL)	دامداری سنتی	–	–	۴/۰۵ ^{a}±۰/۴
	دامداری صنعتی	۳/۳۷^{Ba}±۰/۴۳	۳/۷۴^{Aa} ±۰/۳۲	۳/۸۱^{Ab} ±۰/۵۲
	مراکز جمع‌آوری	۳/۷۴ ^{Bb}±۰/۵۹	۴ ^{Ab}±۰/۴۴	۴/۱ ^{Aa}± ۰/۲۹
	کل	**۳/۵۴ ^{B} ± ۰/۳۱**	**۳/ ۹ ^{A} ± ۰/۷**	**۴/۰۴ ^{A} ± ۰/۷۳**
باسیلوس سرئوس (log cfu/mL)	دامداری سنتی	–	–	۱/۸۴ ^{a}±۰/۹۸
	دامداری صنعتی	۰/۹۱^{Aa}±۰/۱۹	۱/۲۵ ^{Bab}±۰/۸۲	۱/۶۷ ^{Cb}±۰/۶۵
	مراکز جمع‌آوری	۱/۳۲ ^{Ab}±۱/۸	۱/۹۵ ^{Bcd}±۲/۰۴	۲/۱۳ ^{Cc}±۲/۲
	کل	**۱/۱ ^{B} ± ۰/۵۵**	**۱/ ۷۷ ^{A} ±۰/۱۶**	**۱/ ۹ ^{A} ± ۰/۲۳**

در هر سطر (حروف بزرگ) و ستون (حروف کوچک برای هر آزمون به طور جداگانه) حروف یکسان نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).

از سوی دیگر درجه‌بندی شیرخام براساس استانداردهای موجود (مطابق جدول ۲) که در جدول ۳ آمده است، نیـز نشان می دهـد پراکندگی درجات کیفیت شیرخام دامداری های صنعتی گسترده بوده و از درجات دو و سه و بعضاً ممتاز و درجه یک حتی برخوردار است، درجات کیفیت شیرخام مراکز جمع آوری شیر متمرکز و در محدوده درجه ۳ و حتی خارج از درجه بندی استاندارد است، ولی مطابق جدول ۴ اکثر آنها دارای ۱۰۰۰۰-۱۰۰۰ اسپورهوازی در میلی‌لیتر بوده و همچنین تعداد *باسیلوس سرئوس* در شیرخام های این منابع معمولاً بین ۱۰۰-۱۰ عدد در میلی لیتر است. تنها استاندارد موجود در این زمینه استاندارد دپارتمان کشاورزی ایالات متحده آمریکا (USDA: United State Department of Agriculture) است که به ترتیب ۱۰ اسپور و ۱ *باسیلوس سرئوس* در میلی لیتر شیرخام مجاز است (جدول ۴).

جدول ۲- کیفیت مورد قبول شیرخام از نظر تعداد کل میکروارگانیسم ها مطابق استانداردهای ملی و بین المللی (در میلی لیتر)

آزمون	درجه بندی				حداکثر قابل قبول	استاندارد
	ممتاز	یک	دو	سه		
شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در میلی لیتر	حداکثر ۳×۱۰^{۴}	۳×۱۰^{۴} -$۱۰^{۵}$	$۱۰^{۵}$ -۵×۱۰^{۵}	۵×۱۰^{۵} - $۱۰^{۶}$	–	استاندارد ملی ایران (۲۴۰۶)
	حداکثر ۲×۱۰^{۴}	۲×۱۰^{۴} -$۱۰^{۵}$	بیشتر از $۱۰^{۵}$	–	$۱۰^{۵}$	استاندارد FDA ۱
	حداکثر ۲×۱۰^{۴}	۲×۱۰^{۴} -$۱۰^{۵}$	بیشتر از $۱۰^{۵}$	–	$۱۰^{۵}$	استانداردEEC ۲
	–	–	–	–	۵×۱۰^{۴}	استاندارد CFIA ۳
	حداکثر ۲×۱۰^{۴}	۲×۱۰^{۴} -$۱۰^{۵}$	بیشتر از $۱۰^{۵}$	–	$۱۰^{۵}$	استاندارد USDA

1: U S Food and Drug Administration
2: European Economic Community
3: Canadian Food Inspection System

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

جدول ۳- درجه‌بندی شیرخام ورودی کارخانجات مورد مطالعه از نظر تعداد کل میکروارگانیسم ها مطابق استاندارد ملی ایران ۲۴۰۶

کارخانه	منبع شیرخام	تعداد نمونه‌های شیرخام	ممتاز	یک	دو	سه	خارج از درجه بندی استاندارد
کارخانه ۱	مراکز جمع‌آوری	۵۰	–	٪۱۰/۵	٪۶/۷	٪۶/۸	٪۷۶
	دامداری صنعتی	۴۶	٪۱۰/۲	٪۲۳/۰۲	٪۳۴/۵	٪۳۲/۲۸	–
	کل	**۹۶**	**٪۵/۱**	**٪۱۶/۵**	**٪۲۰**	**٪۱۹**	**٪۳۹/۴**
کارخانه ۲	مراکز جمع‌آوری	۵۵	–	–	–	٪۱/۲	٪۹۸/۸
	دامداری صنعتی	۳۰	–	–	٪۱۶/۷	٪۲۱/۱	٪۶۲/۲
	کل	**۸۵**	–	–	**٪۵/۹**	**٪۸/۲**	**٪۸۵/۹**
کارخانه ۳	مراکز جمع‌آوری	۳۹	–	–	–	٪۱۹	٪۸۱
	دامداری صنعتی	۳۰	–	–	٪۳۲/۵	٪۱۶/۵	٪۵۱
	دامداری سنتی	۴۵	–	–	٪۸/۲	٪۱۰/۸	٪۷۷
	کل	**۱۱۴**	–	–	**٪۱۱/۸**	**٪۱۵/۱**	**٪۷۳/۱**

از سوی دیگر با محاسبه نسبت اسپورهای هوازی به تعداد کل میکروارگانیسم ها و نسبت *باسیلوس سرئوس* به اسپورهـای هوازی و همچنین نسبت *باسیلوس سرئوس* به تعـداد کـل میکروارگانیسم ها که در جدول ۵ نشان داده شده است، مشاهده می شود که درصد این نسبت ها در هر سه کارخانه به استثناء درصد نسبت *باسیلوس سرئوس* به اسپورهای هوازی در کارخانه ۲، در دامداری صنعتی همواره بیشتر از مراکز جمع آوری و دامداری سنتی (درکاخانه۳) است. از طرفی نتایج آزمون سواب از سطح داخلی تانکرهای حمل شیرخام (دامداری صنعتی و مراکز جمع آوری) نشان می دهد که در ٪۵۳ تانکرهای مراکز جمع آوری و ٪۴۲ تانکرهای دامداری های صنعتی احتمالاً بیوفیلم *باسیلوس سرئوس* تشکیل شده است.

جدول ٤- درجه‌بندی شیرخام ورودی به کارخانجات مورد مطالعه از نظر میزان اسپورهای هوازی و باسیلوس سرئوس (عدد در میلی لیتر)

کارخانه	منبع شیرخام	تعداد نمونه‌های شیرخام	اسپور هوازی			*باسیلوس سرئوس*			
			کمتر از ۱۰۰۰	۱۰۰۰–۱۰۰۰۰	بیش از ۱۰۰۰۰	کمتر از ۱	۱–۱۰	۱۰–۱۰۰	بیش از ۱۰۰
کارخانه ۱	مراکز جمع‌آوری	۵۰	–	٪۷۸	٪۲۲	٪۲۲	٪۱۶	٪۶۱	–
	دامداری صنعتی	۴۶	–	٪۹۷	٪۳	٪۳۳	٪۲۴	٪۴۳	–
	کل	**۹۶**	–	**٪۸۴/۸**	**٪۱۵/۲**	**٪۱۳/۳**	**٪۹/۵**	**٪۲۷/۲**	–
کارخانه ۲	مراکز جمع‌آوری	۵۵	–	٪۸۷	٪۱۳	–	٪۱/۸	٪۷۶/۴	٪۲۱/۸
	دامداری صنعتی	۳۰	–	٪۵۳/۶	٪۴۶/۴	٪۳	–	٪۷۰	–
	کل	**۸۵**	–	**٪۷۵/۲**	**٪۲۴/۸**	**٪۱۰/۶**	**٪۱/۲**	**٪۷۴**	**٪۱۴/۱**
کارخانه ۳	مراکز جمع‌آوری	۳۹	٪۷	٪۷۴/۴	٪۲۵/۶	٪۵/۱	٪۱۲/۸	٪۵۰/۳	٪۳۱/۱
	دامداری صنعتی	۳۰	–	٪۸۹/۵	٪۱۰/۵	٪۳۱/۶	–	٪۶۳/۲	٪۵/۲
	دامداری سنتی	۴۵	–	٪۴۲/۹	٪۵۷/۱	٪۲/۹	٪۲۸/۶	٪۵۱/۴	٪۱۷/۱
	کل	**۱۱۴**	**٪۰/۳**	**٪۴۵/۱**	**٪۵۴/۶**	**٪۱۱/۲**	**٪۱۶/۱**	**٪۵۴/۱**	**٪۱۸/۶**

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

جدول ۵- درصد نسبت‌های میان تعداد کل میکروارگانیسم¬ها، اسپورهای هوازی و باسیلوس سرئوس در سه کارخانه مورد مطالعه به تفکیک منبع تهیه شیرخام

نسبت	منبع تهیه شیرخام	کارخانه ۱	کارخانه ۲	کارخانه ۳
تعداد اسپورهای هوازی به تعداد کل میکروارگانیسم‌ها	دامداری سنتی	–	–	۰/۱۳۴
	دامداری صنعتی	۱/۴	۰/۳۲	۰/۶۴
	مراکز جمع‌آوری	۰/۰۹۶	۰/۰۶۷	۰/۶۳
تعداد *باسیلوس سرئوس* به تعداد اسپورهای هوازی	دامداری سنتی	–	–	۰/۶۳
	دامداری صنعتی	۰/۶۶	۰/۳۳	۰/۶۶
	مراکز جمع‌آوری	۰/۰۳۸	۰/۸۱	۰/۶۳
تعداد *باسیلوس سرئوس* به تعداد کل میکروارگانیسم‌ها	دامداری سنتی	–	–	۰/۰۰۰۰۸
	دامداری صنعتی	۰/۰۰۰۵۵	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۴
	مراکز جمع‌آوری	۰/۰۰۰۰۲۳	۰/۰۰۰۵۴	۰/۰۰۰۷

بحث

نتایج این مطالعه نشان می دهد که شیرخام ورودی به کارخانه‌های مورد بررسی از کیفیت پایینی برخوردار است و میزان بالای بار میکروبی و اسپورهای هوازی نه تنها ماندگاری شیرخام و محصولات حاصل از آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد بلکه حضور باکتری های بیماری زایی مانند *باسیلوس سرئوس* می تواند تهدیدی بر ایمنی و سلامت عموم باشد.

مقایسه نتایج جدول شماره ۱ و استانداردهای معتبر سایر کشورها و مناطق (جدول ۲) نشان می دهد که شمار اسپورهای هوازی شیر ورودی به هر سه کارخانه حدود ۱۰۰۰ برابر و تعداد *باسیلوس سرئوس* ۱۰۰ برابر بیشینه تعیین شده دپارتمان کشاورزی ایالات متحده امریکا است[۱۷]. لازم به ذکر است که با وجود اعلام حد بیشینه 10^5 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر در مورد شیرخام درجه یک در استاندارد ملی ایران، شیر دریافتی کارخانجات بررسی شده ۱۰ تا ۱۰۰ برابر آلوده تر از این حد تعیین شده، بودند که خود نشان می دهد عدم وجود حداکثر مجاز بار میکروبی، زمینه را برای دریافت شیرهای آلوده فراهم می نماید و در صورت مقایسه با استانداردها به خوبی مشخص می شود چنین کیفیتی از شیرخام در هیچکدام از استانداردهای بین المللی یاد شده قابل قبول نبوده و با حداکثر مجاز اعلام شده در آنها در حدود ۲۰ و حداکثر ۱۰۰ برابر فاصله دارد[۱۸-۲۲]. با وجود آنکه در برخی گزارشات پیشین آلودگی بیش از ۱۰۰۰۰ اسپور هوازی در میلی‌لیتر در کشور یونان آمده است که در حدود آلودگی کنونی شیر ورودی کارخانجات مورد مطالعه است، تأکید می گردد این اطلاعات مربوط به ۲۷ سال پیش (سال ۱۹۸۴ میلادی) است[۲۳]. از طرفی با وجود آنکه برخی گزارشات تعداد اسپورهای هوازی را حداکثر ۱۰۰ عدد در میلی‌لیتر گزارش نموده اند که ۱۰ تا ۱۰۰ برابر از نتایج حاصل از این تحقیق کمتر است، در مواردی آلودگی بیش از ۴۰۰ اسپور هوازی و ۷۰۰۰۰ اسپور هوازی در میلی‌لیتر نیز گزارش شده است که به ترتیب مربوط به کشورهای شمال آفریقا و ایرلند در سال های ۲۰۰۳ و ۲۰۰۲ میلادی است[۲۴-۲۵].

با بررسی زنجیره تأمین شیرخام مشاهده گردید که در میان تأمین-کنندگان اصلی شیرخام هر سه کارخانه، تعداد مراکز جمع‌آوری شیر نسبت به دامداری های صنعتی بیشتر است، به طوری که روزانه حدود ۶۵٪ شیرخام مورد نیاز کارخانه ۱، ۷۰٪ شیرخام مورد نیاز کارخانه ۲ و ۶۵٪ شیرخام مورد نیاز کارخانه ۳، از طریق مراکز جمع‌آوری تأمین می شود. در عین حال که کارخانه شماره ۳، حدود ۱۰٪ شیرخام روزانه توسط دامداری سنتی تأمین می‌شد.

بنابراین به نظر می رسد افزایش سهم شیر دریافتی از دامداری های صنعتی و کاهش سهم مراکز جمع آوری شیر و عدم دریافت شیرخام از دامداری های سنتی می‌تواند بر ویژگی های شیرخام دریافتی کارخانه ۱ تأثیر مثبتی داشته باشد، هر چند که بطور اساسی کیفیت میکروبی این کارخانه نیز با معیارهای قابل قبول جهانی فاصله دارد. از سوی دیگر به دلیل کم بودن میزان تولید شیرخام در سطح استان گلستان، کارخانجات مورد مطالعه به منظور تأمین شیرخام مورد نیاز

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

روزانه خود مجبور به تهیه شیرخام از شهرهای استان های مجاور مانند مشهد، دامغان، اسفراین، سبزوار و غیره نیز بودند که این مورد نیز می تواند کیفیت شیرخام مورد استفاده در این کارخانجات را تحت تأثیر قرار دهد.

همچنین در بررسی میزان آلودگی به تفکیک منبع تأمین کننده به نظر می رسد اختلاط شیر کارتیه ها و دام ها در دامداری و مخلوط شدن شیر دامداری های مختلف در مراکز جمع‌آوری، علت پایین بودن کیفیت میکروبی شیرخام این مراکز نسبت به سایر منابع تأمین کننده شیرخام است[۲۶]. برخی محققین نیز در بررسی میزان آلودگی شیرخام در تانزانیا که میزان آلودگی کلی را به طور میانگین $۸/۲(\pm ۱/۹)\times ۱۰^{۶}$ و آلودگی به *باسیلوس سرئوس* را به طور میانگین $۱۱/۱۷\times ۱۰^{۶}$ گزارش کردند، مشاهده نمودند که آلودگی کلی در شیرهایی که مخلوط شده اند، افزایش می یابد[۲۷]. Torkar و همکاران در سال ۲۰۰۴ [۲۸] نیز افزایش میزان اسپورهای هوازی در شیرخام های مخلوط شده را مشاهده کردند.

عوامل زیادی در کیفیت میکروبی شیرخام مؤثرند که از این بین چهار منبع اصلی برای آلودگی میکروبی شیرخام در نظر گرفته شده است. این منابع شامل: ۱- درون مخزن پستان دام ۲- بخش های بیرونی پستان دام ۳- عوامل محیطی ۴- تجهیزات شیردوشی و نگهداری شیرخام. جهت تهیه شیر و فرآورده هایی ایمن و مناسب از آن، می بایستی عملیات خوب بهداشتی (Good Hygienic Practice) براساس روش های کنترلی HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) طی زنجیره تولید تا مصرف رعایت گردد که احتمالاً این پیش نیازها در زنجیره تأمین شیرخام در واحدهای مورد بررسی چندان مورد توجه قرار نگرفته اند[۵، ۲۹].

شیر ترشح شده از یک دام سالم و پاکیزه، در لحظه دوشش حاوی میکروارگانیسم های اندکی بوده و فلور میکروبی طبیعی آن معمولاً شامل استرپتوکوکوس، میکروکوکوس و کورینه باکتریوم است. اما نبود شرایط مناسب در دامداری ها می تواند منجر به ایجاد منابع آلودگی درون مخزن پستانی و در نتیجه افزایش بار میکروبی شیرخام گردد. از جمله این شرایط می توان به آلوده بودن پستان دام، بکار بردن رویه های غیربهداشتی در هنگام دوشش، استفاده از وسایل ناپاک هنگام دوشش، شستشوی نامناسب دام و شرایط نامطلوب نگهداری دام اشاره نمود. همچنین وجود دامهای بیمار در گله نیز می تواند منجر به بیمار شدن دام های سالم و افزایش بار آلودگی شیر شود[۵، ۲۹].

از سوی دیگر ورود میکروب‌ها از طریق بخش های بیرونی پستان دام، چندان بر جمعیت میکروبی شیر دوشیده شده مؤثر نبوده و اغلب این میکروارگانیسم ها نمی توانند در شیر با رقبای خود به خوبی رقابت کنند، اما در صورتی‌که آلودگی از طریق مدفوع دام (شامل *اشریشیاکلی*، استافیلوکوکوس، لیستریا، مایکوباکتریوم و سالمونلا)، غذای دام (شامل کلستریدیوم، لیستریا، باسیلوس و باکتری های اسید لاکتیک) و یا بستر دام (شامل کلستریدیوم، باسیلوس و کلبسیلا) صورت پذیرد، میکروب‌های مورد نظر نقش بسزایی در افزایش بار میکروبی شیرخام و افت کیفیت آن ایفا می کنند[۵، ۲۹].

علاوه بر مدفوع، بستر و غذای دام، عوامل محیطی دیگری نیز می‌توانند منجر به کاهش کیفیت میکروبی شیرخام گردند. استرپتوکوک‌ها، میکروکوک ها، کورینه فرم ها، باسیلوس، کپک و مخمر از طریق هوا، کلستریدیوم، باسیلوس، سودوموناس، مایکوباکتریوم، کپک و مخمر از طریق خاک و کلیفرم ها، سالمونلا، انتروکوکوس و استافیلوکوکوس از طریق افراد دست اندرکار تولید و جمع آوری شیرخام می توانند به آن راه یابند[۵، ۲۹].

از طرفی باید ذکر نمود که فرآیند دوشش و به طور ویژه وسایل و ظروف ناپاک بکار رفته برای کار با شیرخام (جمع آوری، ذخیره‌سازی، حمل و نقل و مانند آن) می توانند بیشترین سهم را در ورود میکروب‌ها به شیرخام داشته باشند. میکروارگانیسم هایی که از طریق تجهیزات شیردوشی می توانند وارد شیر گردند معمولاً میکروکوکوس، استرپتوکوکسی، باسیلوس و کلیفرم ها هستند. بنابراین باید به این نکته توجه شود که تمام وسایل و ظروف بلافاصله پس از استفاده، بوسیله مواد پاک کننده (Detergent) و ضدعفونی کننده (Disinfectant) پاک و ضدعفونی شده و سپس بوسیله آب پاکیزه و بهداشتی آبکشی گردند. از طرفی آب مورد استفاده نیز باید از کیفیت مناسبی جهت شستشوی پستان دام و تجهیزات مورد استفاده برخوردار باشد، چرا که کلیفرم ها، سودوموناس، کورینه فرم ها و آلکالیجنس نیز می توانند از طریق آب آلوده به شیرخام راه یابند. به هر حال میزان پاکیزگی تجهیزات و ظروف مورد استفاده در هنگام دوشش و پس از آن بر تعداد باکتری‌های موجود در شیرخام جمع آوری شده اثر می گذارد و شیر باقی مانده بر سطح این وسایل امکان رشد و نمو بسیاری از میکروارگانیسم ها و تشکیل بیوفیلم (Biofilm) را فراهم می کند[۵، ۲۹].

در برخی گزارشات تعداد اسپورهای هوازی و تعداد اسپورهای خانواده باسیلوس و در برخی دیگر تعداد کل باکتری‌ها و تعداد اسپورهای هوازی در شیرخام گزارش شده که نسبت میان آنها به ترتیب حدود ۰/۰۵۲ و ۰/۰۰۰۴۷ درصد ذکر شده است [۲۴-۲۵].

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

با توجه به نسبت های بدست آمده در این تحقیق (جدول ۵) و گزارشات فوق، همان‌طور که مشاهده می شود تعداد اسپورهای هوازی و اسپور *باسیلوس سرئوس* در شیرخام ورودی کارخانجات مورد بررسی بسیار بیشتر از معیارها و استانداردهای ملی و بین المللی بوده و به نظر میرسد احتمالاً برخی تقلبات و افزودن برخی مواد شیمیایی به شیر منجر به کاهش تعداد کل باکتری ها شده باشد که البته تأثیر چندانی بر تعداد اسپورهای هوازی و از آن جمله اسپور *باسیلوس سرئوس* ندارد.

با توجه به نتایج بدست آمده، در جستجوی علل و عوامل دخیل در حضور اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* در شیرخام دامداری های صنعتی، با مراجعه به چند دامداری صنعتی تأمین کننده شیرخام این کارخانجات، مشاهده گردید که اکثر عوامل ذکر شده فوق از عوامل آلودگی شیرخام بوده و آلودگی پستان به مدفوع و خاک و نامناسب بودن بستر دام از عوامل اصلی و مهم ورود اسپورهای هوازی به خصوص *باسیلوس سرئوس* به شیرخام این دامداری‌ها هستند. این نتایج مشابه نتایج سایر محققین در این زمینه نیز بود[۳۰-۳۱].

از سوی دیگر Andersson و همکاران [۳۰-۳۱] نیز عنوان کرده اند که در مناطق مرطوب به دلیل چسبیدن بیشتر خاک به پستان دام، حضور اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* در شیرخام نیز بیشتر می‌گردد. با توجه به محل و زمان انجام تحقیق، ممکن است این مورد نیز از دلایل پایین بودن کیفیت میکروبی شیرخام دامداری های صنعتی این استان باشد.

از طرفی با توجه به یافته های حاصل می توان گفت، شمارش تعداد کل میکروارگانیسم ها به تنهایی تعیین‌کننده وضعیت شیرخام به لحاظ وجود باکتری های اسپورزا و فاسد کننده نبوده و انجام این آزمون چندان کارایی ندارد زیرا پایین بودن شمارش کلی باکتری-ها، نشان‌دهنده پایین بودن باکتری های اسپورزا نیست. به طوری-که Evancho و همکاران در سال ۲۰۰۱ بیان کردند که حضور اسپورهای هوازی گرم مثبت، حتی ممکن است با افزایش کیفیت شیرخام بیشتر شود. بنابراین بهتر است شیرخام بر اساس تعداد اسپور درجه‌بندی شود نه بر اساس شمارش کل میکروارگانیسم ها زیرا تعداد بالای اسپورهای هوازی صرف نظر از ایجاد فساد و تولید طعم نامطلوب، می توانند از طریق تولید سموم، باعث بروز مخاطراتی در محصولات تولید شده گردند. نتایج حاصل مطابق با نتایج سایر محققین در سال‌های ۱۹۹۵ و ۲۰۰۱ بود [۳۲-۳۳].

همچنین نتایج این پژوهش بیان می کند که بر خلاف تصور همگان با وجود تولید شیرخامی با شمارش کلی پایین در دامداری های صنعتی، لزوماً تعداد اسپورهای هوازی و باسیلوس سرئوس در آن پایین نبوده و مسائلی مانند آلودگی پستان دام به مدفوع و خاک می تواند در تنزل کیفیت میکروبی شیرخام این دامداری ها نقش داشته باشند. در نتیجه اسپورهای هوازی میتوانند به کارخانه و از آنجا به محصول نهایی انتقال یابند. نتایج Moradi-Khatoonabadi و همکاران[۳۸] درباره تأثیر فرآیند پاستوریزاسیون بر حضور *باسیلوس سرئوس* در کارخانجات لبنی نشان می‌دهد که این فرآیند در حذف *باسیلوس سرئوس* چندان موفق نبوده و احتمال حضور آن در محصولات پاستوریزه نیز وجود دارد.

از سوی دیگر نتایج آزمون سواب نشان می دهد که عملیات شستشو و پاکیزه سازی در محل به طور کافی و مناسب انجام نمی شود و این احتمال وجود دارد که افزایش تنوع و تکثیر سطوح در تماس با شیرخام، منجر به افزایش تشکیل بیوفیلم و در نتیجه احتمال افزایش اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* گردد که این موضوع در مراکز جمع آوری بیشتر به چشم می خورد. به نظر می رسد در این میان عملیات شستشو و پاکیزه سازی در محل به عنوان تنها عامل تمیزکننده سطوح از اهمیت بالایی برخوردار بوده و با توجه به میزان بالای آلودگی این احتمال وجود دارد رویه هائی که هم اکنون در کارخانجات، دامداری ها و مراکز جمع آوری اجرا می شود، نتوانند آلودگی موجود بر سطوح در تماس با شیرخام را برطرف نمایند.

همچنین همان‌طور که جداول ۶ تا ۸ نشان می دهند شیرخام مراکز جمع آوری نیز دارای کیفیت میکروبی پایینی است. بهبود وضعیت شیرخام نه تنها نیاز به رعایت بهداشت و زیرساختارهای بهداشتی مانند استفاده از تجهیزات و وسایل نگهداری و حمل و نقل مناسب و عاری از آلودگی میکروبی، دارد بلکه اختلاط انواع شیرخام از لحاظ کیفیت میکروبی از منابع مختلف در این مراکز نیز مشکل را دوچندان کرده و منجر به افزایش آلودگی میکروبی شیرخام این مراکز و افت شدید کیفیت آن در هنگام تحویل به کارخانه می گردد. به نظر می رسد، مطلوب‌تر آن باشد که شیرخام در همان منطقه تولید شده حتی به روش های خانگی و روستایی اما بهداشتی فرآوری گردد و به مصرف عام برسد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهد که شیرخام ورودی به کارخانه های مورد بررسی از کیفیت پایینی برخوردار است و میزان بالای بار میکروبی و اسپورهای هوازی نه تنها ماندگاری شیرخام و محصولات حاصل از آن را تحت تأثیر قرار می دهد بلکه حضور باکتری های

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

بیماری زایی مانند *باسیلوس سرئوس* می تواند تهدیدی بر ایمنی و سلامت عموم باشد.

همچنین بهبود وضعیت شیرخام نه تنها نیاز به رعایت بهداشت و زیرساختارهای بهداشتی مانند استفاده از تجهیزات و وسایل نگهداری و حمل و نقل مناسب و عاری از آلودگی میکروبی دارد، بلکه اختلاط انواع شیرخام از لحاظ کیفیت میکروبی از منابع مختلف در این مراکز نیز مشکل را دوچندان کرده و منجر به افزایش آلودگی میکروبی شیرخام این مراکز و افت شدید کیفیت آن در هنگام تحویل به کارخانه می‌گردد. به نظر می رسد، مطلوب‌تر آن باشد که شیرخام در همان منطقه تولید شده حتی به روش‌های خانگی و روستایی اما بهداشتی فرآوری گردد و به مصرف عام برسد.

به هر حال بر اساس نتایج این پژوهش، نه تنها لزوم آموزش و ارائه راهنمایی های لازم به صاحبان دامداری ها و افراد دست اندرکار در امر تهیه و تأمین شیرخام امری ضروری به نظر می رسد بلکه درجه‌بندی شیرخام بر اساس شمار اسپورهای هوازی و تدوین استانداردی مبنی بر تعداد قابل قبول *باسیلوس سرئوس* در شیرخام و محصولات تولید شده از آن بسیار حائز اهمیت است. از سوی دیگر به نظر می‌رسد نیاز به تحقیقات بیشتری روی موضوعاتی از قبیل تأثیر تقلبات بر روی تعداد اسپورهای هوازی، حضور و میزان سموم تولید شده توسط *باسیلوس سرئوس* در شیر و فرآورده های شیری، بررسی دامداری های بیشتر و علل و عوامل حضور اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* در دامداری‌ها، بررسی تأثیر آلودگی پستان بر تعداد اسپورهای هوازی و *باسیلوس سرئوس* انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه با عنوان " اثر عملیات فرآیند تولید پنیر UF بر حضور *باسیلوس سرئوس*" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۰ است که با حمایت دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا شده است.

منابع

1. Ray B. Fundamental Food Microbiology. 2nd ed. USA: CRC Press; 2004.
2. Hayes M, Ralyea R, Murphy S, Carey N, Scarlett J, Boor K. Identification and characterization of elevated microbial counts in bulk tank raw milk. Journal of Dairy Science. 2001;84(1):292-98.
3. Vasavada PC, Cousin MA. Dairy microbiology and safety. In: Hui YH, editor. Dairy science and technology handbook. USA: Wiley-VCH; 1993. p. 301-358.
4. Te Giffle MC. Good Hygienic practice in milk processing. In: Smit G, editor. Dairy processing improving quality. USA: Woodhead Publishing; 2003. p. 68-80.
5. Codex Alimentarius. Code of hygienic practice for milk and milk products. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2001 [cited 2012 Jul 17]. Available from: http://www.codexalimentarius.org/standards.
6. Granum PE, Lund T. *Bacillus cereus* and its food poisoning toxins. FEMS Microbiology Letters. 1997;157(2):223-28.
7. Batt CA. *Bacillus cereus*. In: Robinsson RK, Batt CA, Patel PD, editors. Encyclopedia of food microbiology. USA: Academic Press; 2000. p. 119-121.
8. Vilas-Boas G, Peruca A, Arantes O. Biology and taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus thuringiensis*. Canadian Journal of Microbiology. 2007;53(6):673-87.
9. Dahl MK. Bacillus. In: Robinsson RK, Batt CA, Patel PD, editors. Encyclopedia of food microbiology. USA: Academic Press; 2000. p. 113-118.
10. Roy A, Moktan B, Sarkar PK. Characteristics of *Bacillus cereus* isolates from legume-based Indian fermented foods. Food Control. 2007;18(12):1555-64.
11. Sun DW. Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues. New York: CRC Press; 2006.
12. Elrahman SMA, Ahmad AS, El Zubeir IE, Owni O, Ahmed M. Microbiological and physicochemical properties of raw milk used for processing pasteurized milk in Blue Nile dairy company (Sudan). Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 2009;3(4):3433-37.
13. Hornstra L, De Leeuw P, Moezelaar R, Wolbert E, De Vries Y, De Vos W, et al. Germination of *Bacillus cereus* spores adhered to stainless steel. International Journal of Food Microbiology. 2007;116(3):367-71.
14. Crielly E, Logan N, Anderton A. Studies on

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]
[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

the Bacillus flora of milk and milk products. Journal of Applied Bacteriology. 1994;77(3):256-63.
15. oemme J, Reekmans R, Heyrman J, Messens W, et al. Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. Systematic and Applied Microbiology. 2008;31(2):126-40.
16. Ahmed AA, Moustafa MK, Marth EH. Incidence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products. Journal of Food Protection. 1983. 46; 126-28.
17. Te Giffel M, Beumer R, Slaghuis B, Rombouts F. Occurrence and characterization of (psychrotrophic) *Bacillus cereus* on farms in the Netherlands. Nederlands Melk en Zuiveltijdschrift. 1995;49(2-3):125-38.
18. International Organization for Standardization (ISO). Sampling in milk and milk products. Geneva: International Organization for Standardization; 1997. Report No.: 707.
19. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists; 2005. Report No.: 968/12.
20. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists; 2005. Report No.: 968/12.
21. Wehr HM. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. New York: American Public Health Association; 2004.
22. Jay JM. Modern Food Microbiology. 6th ed. Maryland: Aspen Publishing; 2000.
23. Public Health Service. US Food and Drug Administration (FDA). Grade "A" pasteurized milk ordinance. No. 229. 1999 revision. 1999.
24. United States Department of Health and Human Services. Milk for manufacturing purposes and its production and processing- Recommended Requirements. USA; United States Department of Health and Human Services: 2011.
25. European Economic Community (EEC). Health rules-raw milk, heat-treated milk, and milk based products. Strasbourg: European Economic Community; 1992.
26. Canadian Food Inspection System (CFIA). National dairy regulation and code: Processing sector interpretive guidelines. Canada: Canadian Food Inspection System; 2006.
27. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of milk and milk products, ISIRI No. 2406. Karaj: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2008 (in Persian).
28. Litopoulou-Tzanetaki E, Tzanetakes N, Manolkides K, Samolada M. Aerobic mesophilic and thermophilic spores in raw milk. Deltio Ethnikes Epitropes Galaktos Ellados. 1984;1:24-31.
29. Lues J, Venter P, Van Der Westhuizen H. Enumeration of potential microbiological hazards in milk from a marginal urban settlement in central South Africa. Food Microbiology. 2003;20(3):321-26.
30. McGuiggan JTM, McCleery DR, Hannan A, Gilmour A. Aerobic spore-forming bacteria in bulk raw milk: factors influencing the numbers of psychrotrophic, mesophilic and thermophilic Bacillus spores. International Journal of Dairy Technology. 2002;55(2):100-107.
31. Jeffrey D, Wilson J. Effect of mastitis-related bacteria on total bacterial count of bulk milk supplies. International Journal of Dairy Technology. 1987;40(2):23-26.
32. Kivaria F, Noordhuizen JPTM, Kapaga A. Evaluation of the hygienic quality and associated public health hazards of raw milk marketed by smallholder dairy producers in the Dar es Salaam region, Tanzania. Tropical Animal Health and Production. 2006;38(3):185-94.
33. Torkar KG, Teger SG. The microbiological quality of some critical control points in the cheese production of individual Slovenian cheese-makers. Acta Agriculturae Slovenica. 2004;84(1):43-61.
34. Christiansson A, Bertilsson J, Svensson B. *Bacillus cereus* spores in raw milk: factors affecting the contamination of milk during the grazing period. Journal of Dairy Science. 1999;82(2):305-14.
35. Herlin AH, Andersson I. Soil Ingestion in Farm Animals. Sweden: Swedish University of Agricultural Sciences; 1996.
36. Marth EH, Steele JL. Applied Dairy Microbiology. USA: Marcel Dekker; 2001.
37. Andersson A, Ronner U, Granum PE. What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and Clostridium perfringens? International Journal of Food Microbiology. 1995;28(2):145-55.
38. Evancho GM, Sveum WH, Moberg LJ, Frank JF. Microbiological monitoring of the food processing environment. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2001;4:25-35.
39. Moradi-khatoonabadi Z, Maghsoudlou Y, Ezzatpanah H , Khomeiri M, Aminafshar M. The effect of pasteurization on *Bacillus cereus* in dairy indastries. Proceeding of The 2nd National Biology Congress of Young Researchers; 2011 Mar 12-15, Tehran, Iran.
40. Roy A, Moktan B, Sarkar PK. Characteristics of *Bacillus cereus* isolates from legume-based Indian

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

fermented foods. Food Control. 2007;18(12):1555-64.
41. Sun DW. Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues. New York: CRC Press; 2006.
42. Elrahman SMA, Ahmad AS, El Zubeir IE, Owni O, Ahmed M. Microbiological and physicochemical properties of raw milk used for processing pasteurized milk in Blue Nile dairy company (Sudan). Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 2009;3(4):3433-37.
43. Hornstra L, De Leeuw P, Moezelaar R, Wolbert E, De Vries Y, De Vos W, et al. Germination of *Bacillus cereus* spores adhered to stainless steel. International Journal of Food Microbiology. 2007;116(3):367-71.
44. Crielly E, Logan N, Anderton A. Studies on the Bacillus flora of milk and milk products. Journal of Applied Bacteriology. 1994;77(3):256-63.
45. Coorevits A, De Jonghe V, Vandroemme J, Reekmans R, Heyrman J, Messens W, et al. Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. Systematic and Applied Microbiology. 2008;31(2):126-40.
46. Ahmed AA, Moustafa MK, Marth EH. Incidence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products. Journal of Food Protection. 1983. 46; 126-28.
47. Te Giffel M, Beumer R, Slaghuis B, Rombouts F. Occurrence and characterization of (psychrotrophic) *Bacillus cereus* on farms in the Netherlands. Nederlands Melk en Zuiveltijdschrift. 1995;49(2-3):125-38.
48. International Organization for Standardization (ISO). Sampling in milk and milk products. Geneva: International Organization for Standardization; ۱۹۹۷. Report No.: ۷۰۷.
49. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists; 2005. Report No.: 968/12.
50. Wehr HM. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. New York: American Public Health Association; 2004.
51. Jay JM. Modern Food Microbiology. 6th ed. Maryland: Aspen Publishing; 2000.
52. Public Health Service. US Food and Drug Administration (FDA). Grade "A" pasteurized milk ordinance. No. 229. 1999 revision. 1999.
53. United States Department of Health and Human Services. Milk for manufacturing purposes and its production and processing- Recommended Requirements. USA; United States Department of Health and Human Services: 2011.
54. European Economic Community (EEC). Health rules-raw milk, heat-treated milk, and milk based products. Strasbourg: European Economic Community; 1992.
55. Canadian Food Inspection System (CFIA). National dairy regulation and code: Processing sector interpretive guidelines. Canada: Canadian Food Inspection System; 2006.
56. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of milk and milk products, ISIRI No. 2406. Karaj: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2008 (in Persian).
57. Litopoulou-Tzanetaki E, Tzanetakes N, Manolkides K, Samolada M. Aerobic mesophilic and thermophilic spores in raw milk. Deltio Ethnikes Epitropes Galaktos Ellados. 1984;1:24-31.
58. Lues J, Venter P, Van Der Westhuizen H. Enumeration of potential microbiological hazards in milk from a marginal urban settlement in central South Africa. Food Microbiology. 2003;20(3):321-26.
59. McGuiggan JTM, McCleery DR, Hannan A, Gilmour A. Aerobic spore-forming bacteria in bulk raw milk: factors influencing the numbers of psychrotrophic, mesophilic and thermophilic Bacillus spores. International Journal of Dairy Technology. 2002;55(2):100-107.
60. Jeffrey D, Wilson J. Effect of mastitis-related bacteria on total bacterial count of bulk milk supplies. International Journal of Dairy

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]

Occurrence of *Bacillus cereus* in raw milk receiving from UF-Feta Cheese Plants

Moradi-Khatoonabadi Zh.[1], Maghsoudlou[1] Y., Ezzatpanah H.[*2], Khomeiri M.[1], Aminafshar M.[3]

[1] Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology Gorgan university of Agriculture and Natural Resources, Gorgan, Iran

[2] Associate Profesor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran Iran

[3]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received; 10April 2013 Accepted; 10 July 2013

Abstract

Background and Objective: Milk and milk products are very suitable medium for growing microorganisms (e.g. *Bacillus cereus*). *B. cereus* is spore former bacilli, which easily survives during pasteurization and makes several problems in dairy industries. The aim of this study was to investigate aerobic spore and *B. cereus* of receiving raw milk from three UF plants.

Materials and Methods: Samples were gathered from raw milk transport tankers arrived to plants during 30 days in winter. Also, the swab test was used for detection of *B.cereus* residual on milk contact surfaces.

Results: High contamination level of aerobic spores (*AeSC*) and especially *B.cereus* were found in most samples compared with the criteria established by national and international standards. Although total viable count (TVC) in samples from industrial farms (IF) was lower than those from traditional farms (TFs) and milk collection centers (MCCs), considerable *AeSC* and *B.cereus* were transmitted to the UF plants from IFs. The highest and lowest TVC and B.cereus were found in samples from IFs and MCCs, respectively. In addition, our investigation in IFs revealed that teats contamination to soil and feces, as well as contaminated bedding might were the most important sources of *B. cereus* and *AeSC* of raw milk. Moreover, the results of swab tests confirmed that the "cleaning in place" system may not remove *B.cereus* effectively.

Conclusion: It seems that for classifying raw milk quality, *AeSC* might be used as a more effective quality factor than TVC. Management commitment is effective to improve quality by balance between the amount and quality of receiving raw milk. This leads to the lower contamination in dairy plants and final products.

Keyword: Aerobic spore, *Bacillus cereus*, UF-Feta cheese, raw milk

[*]**Corresponding Author**: *hamidezzatpanah@srbiau.ac.ir*
Tel: +98 912 8236618

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-12-27]

[DOR: 20.1001.1.20082029.1392.6.4.12.4]