

میزان حضور باسیلوس سرئوس در شیرخام دریافتی کارخانجات تولیدکننده پنیر فراپالایش

ژیلا مرادی خاتون آبادی^۱، یحیی مقصدولو^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 می تواند 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:** نمونه گیری 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.

یافته ها: 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 دامداری های 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. **نتیجه گیری:** به منظور درجه بندی 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 صنایع غذایی، دانشکده علوم صنایع 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

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 غالباً بی ضرر 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 زا می است که فرآیند پاستوریزاسیون را تحمل میکند و میتواند در دمای یخچال نیز رشد کند [۴]. گزارشات، نشان می دهند طی سال های ۱۹۸۵ تا ۱۹۹۲ در ایسلند و بین سال های 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 °C ۲۸-۳۵ و حداقل دمای رشد °C ۴-۵ است. مدت زمان یکبار تکثیر آن ۱۸-۲۷ min بوده و می تواند در pH= ۴/۹-۹/۳ و غلظت بالای نمک حتی حدود ۷/۵ درصد رشد کند. D_{100} اسپور آن ۲/۲-۵/۴ min بوده که این شاخص نشان دهنده 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].

انترتوکسین 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 می شود [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 °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 $CFU/mL < 10$ تا $CFU/mL > 10^5$ 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 ویژگی های 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.

رشد میکروارگانیسم‌ها پلیت‌هایی با ۲۵ تا ۲۵۰ کلنی در آزمون‌های 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]:

$$1 \times n_2 / N = \Sigma C / [(1 \times n_1) + (0)]d$$

-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 دامنه‌ای دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

در هرکجا که داده‌ها 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.

یافته‌ها

کلیه ویژگی‌های میکروبی شیرخام دریافتی کارخانه ۱ در مقایسه با نمونه‌های سایر کارخانجات بطور معنی‌داری ($p < 0/05$) 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 کارخانه‌ها به ترتیب ۴۲، ۶۷ و ۳۶ km بود.

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

مواد و روش‌ها

-مواد و تجهیزات

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

-روش‌ها

با توجه به اهداف تحقیق ابتدا فهرستی از کارخانجات تولیدکننده شیر و فرآورده‌های آن در سطح استان گلستان تهیه شد. پس از بررسی‌های 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 شماره‌های ۱، ۲ و ۳ در این گزارش مشخص شدند.

نمونه برداری در هر کارخانه به مدت حداقل ۱۰ روز در طی ۳ ماه در ماه‌های 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 و وسایل حمل‌کننده پس از هم زدن و تحت شرایط استریل و از سطوح داخلی مخازن تخلیه شده شیرخام مراکز جمع‌آوری و دامداری‌های صنعتی فوق نیز در شرایط استریل و به روش آزمون سواب پس از علیات شستشو و پاکیزه‌سازی در محل (Cleaning In Place) بر اساس استاندارد ۱۹۹۷-ISO ۷۰۷۱ [۱۴] و AOAC ۹۶۸ سال ۲۰۰۵ [۱۵] انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله و بر اساس استاندارد ۱۹۹۷-ISO جهت آزمون‌های میکروبی به آزمایشگاه منتقل گردید.

-آزمون‌ها

شمارش بار میکروبی کل، اسپورهای هوازی و باسیلوس سرئوس

جهت شمارش کل میکروارگانیسم‌ها پس از رقیق نمودن نمونه‌های شیرخام، آنها بر روی محیط پلیت کانت آگار (Plate Count Agar) در دمای $30^\circ C$ به مدت ۷۲ h کشت داده شدند. جهت شمارش اسپورهای هوازی و باسیلوس سرئوس ابتدا نمونه‌های شیرخام در دمای $80^\circ C$ به مدت ۱۰ min حرارت داده شده و سپس به ترتیب در محیط کشت پلیت کانت آگار (Plate Count Agar) در دمای $30^\circ C$ به مدت ۴۸ h و در محیط کشت اختصاصی MYP آگار (Monnitol egg Yolk Polymyxin B agar) در دمای $30^\circ C$ به مدت ۱۸ تا ۲۴ h کشت داده شدند. پس از

جدول ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار برخی ویژگی های میکروبی شیرخام ورودی به کارخانجات مورد مطالعه

آزمون	منبع تأمین کننده 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 جمع آوری	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
اسپوره های 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 جمع آوری	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 جمع آوری	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 نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار است (p < ۰/۰۵).

ولی مطابق جدول ۴ اکثر آنها دارای ۱۰۰۰۰-۱۰۰۰۰ اسپوره‌های در میلی لیتر 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 دیپارتمان 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).

از سوی دیگر درجه بندی شیرخام براساس استانداردهای موجود (مطابق جدول ۲) که در جدول ۳ آمده است، نیز نشان می دهد 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،

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

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

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

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

کارخانه	منبع شیرخام	تعداد نمونه های شیرخام	ممتاز	یک	دو	سه	خارج از درجه بندی استاندارد
کارخانه ۱	مراکز جمع آوری	۵۰	-	٪۱۰/۵	٪۶/۷	٪۶/۸	٪۷/۶
	دامداری صنعتی	۴۶	٪۱۰/۲	٪۲۳/۰۲	٪۳۴/۵	٪۳۲/۲۸	-
	کل	۹۶	٪۵/۱	٪۱۶/۵	٪۲۰	٪۱۹	٪۳۹/۴
کارخانه ۲	مراکز جمع آوری	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 جمع آوری	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

سرئوس به اسپوره های هوازی در کارخانه ۲، در دامداری صنعتی همواره بیشتر از مراکز جمع آوری و دامداری سنتی (در کارخانه ۳) 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 بیوفیلیم باسیلوس سرئوس تشکیل شده است.

از سوی دیگر با محاسبه نسبت اسپوره های هوازی به تعداد کل میکروارگانیسم ها و نسبت باسیلوس سرئوس به اسپوره های هوازی و همچنین نسبت باسیلوس سرئوس به تعداد کل 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

جدول ۴- درجه بندی شیرخام ورودی به کارخانجات مورد مطالعه از نظر میزان اسپوره های هوازی و باسیلوس سرئوس (عدد در میلی لیتر)

کارخانه	منبع شیرخام	تعداد نمونه های شیرخام	اسپور هوازی			باسیلوس سرئوس		
			بیش از ۱۰۰۰۰	کمتر از ۱۰۰۰	بیش از ۱۰۰۰۰۰	کمتر از ۱۰۰	۱-۱۰	۱۰-۱۰۰
کارخانه ۱	مراکز جمع آوری	۵۰	٪۷۸	٪۲۲	-	٪۶۱	٪۱۶	٪۲۲
	دامداری صنعتی	۴۶	٪۹۷	٪۳	٪۱۵/۲	٪۸۴/۸	٪۲۴	٪۱۳/۳
	کل	۹۶	٪۸۴/۸	٪۱۵/۲	٪۸۴/۸	٪۲۴	٪۹/۵	٪۱۳/۳
کارخانه ۲	مراکز جمع آوری	۵۵	-	٪۱۳	٪۸۷	٪۷۶/۴	٪۱/۸	٪۲۱/۸
	دامداری صنعتی	۳۰	-	٪۴۶/۴	٪۵۳/۶	٪۷۰	-	٪۳
	کل	۸۵	-	٪۲۴/۸	٪۷۵/۲	٪۷۴	٪۱/۲	٪۱۰/۶
کارخانه ۳	مراکز جمع آوری	۳۹	٪۷	٪۲۵/۶	٪۷۴/۴	٪۵۰/۳	٪۱۲/۸	٪۵/۱
	دامداری صنعتی	۳۰	-	٪۱۰/۵	٪۸۹/۵	٪۶۳/۲	-	٪۳۱/۶
	دامداری سنتی	۴۵	-	٪۵۷/۱	٪۴۲/۹	٪۵۱/۴	٪۲۸/۶	٪۲/۹
	کل	۱۱۴	٪۰/۳	٪۵۴/۶	٪۴۵/۱	٪۵۴/۱	٪۱۶/۱	٪۱۱/۲

جدول ۵- درصد نسبت‌های میان تعداد کل میکروارگانیسم‌ها، 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	۰/۰۰۰۴
	مراکز جمع‌آوری	۰/۰۰۰۰۲۳	۰/۰۰۰۵۴	۰/۰۰۰۰۷

بحث

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد 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 باکتری‌های بیماری‌زایی مانند باسیلوس سرئوس می‌تواند تهدیدی بر ایمنی و سلامت عموم باشد.

مقایسه نتایج جدول شماره ۱ و استانداردهای معتبر سایر کشورها و مناطق (جدول ۲) نشان می‌دهد 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 ۱۰^۵ 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 می‌دهد عدم وجود حداکثر مجاز بار میکروبی، زمینه را برای دریافت شیرهای آلوده فراهم می‌نماید و در صورت مقایسه با استانداردها به خوبی مشخص می‌شود چنین کیفیتی از شیرخام در هیچکدام از استانداردهای بین‌المللی 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 می‌گردد 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 نموده‌اند 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 سال‌های ۲۰۰۳ و ۲۰۰۲ میلادی است [۲۴-۲۵].

با بررسی زنجیره تأمین شیرخام مشاهده گردید که در میان تأمین‌کنندگان اصلی شیرخام هر سه کارخانه، تعداد مراکز جمع‌آوری شیر نسبت به دامداری‌های 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 می‌شود. در عین حال که کارخانه شماره ۳، حدود ۱۰٪ شیرخام روزانه توسط دامداری سنتی تأمین می‌شد.

بنابراین به نظر می‌رسد افزایش سهم شیر دریافتی از دامداری‌های صنعتی و کاهش سهم مراکز جمع‌آوری شیر و عدم دریافت شیرخام از دامداری‌های سنتی می‌تواند بر ویژگی‌های 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

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

علاوه بر مدفوع، بستر و غذای دام، عوامل محیطی دیگری نیز می توانند منجر به کاهش کیفیت میکروبی شیرخام گردند. استرپتوکوک ها، میکروکوک ها، کورینه فرم ها، باسیلوس، کپک و مخمر از طریق هوا، کلمستریدیوم، 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 [۲۹، ۵].

از طرفی باید ذکر نمود که فرآیند دوشش و به طور ویژه وسایل و ظروف ناپاک بکار رفته برای کار با شیرخام (جمع آوری، ذخیره سازی، حمل و نقل و مانند آن) می توانند بیشترین سهم را در ورود میکروب ها 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 باکتری های 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 [۲۹، ۵].

در برخی گزارشات تعداد اسپورهای هوازی و تعداد اسپورهای خانواده باسیلوس و در برخی دیگر تعداد کل باکتری ها و تعداد اسپورهای هوازی در شیرخام گزارش شده که نسبت میان آنها به ترتیب حدود ۰/۰۵۲ و ۰/۰۰۴۷ درصد ذکر شده است [۲۴-۲۵].

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 جمع آوری، 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 $10^6 \times (1/9 \pm 1/2)$ و آلودگی به باسیلوس سرئوس را به طور میانگین $10^6 \times 11/17$ 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 های 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 [۲۹، ۵].

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 روبه 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 [۲۹، ۵].

از سوی دیگر ورود میکروب ها از طریق بخش های بیرونی پستان

با توجه به نسبت های بدست آمده در این تحقیق (جدول ۵) و گزارشات فوق، همانطور که مشاهده می شود تعداد اسپوره های 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 اسپوره های هوازی و از آن جمله اسپور باسیلوس سرئوس ندارد.

با توجه به نتایج بدست آمده، در جستجوی علل و عوامل دخیل در حضور اسپوره های 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 اسپوره های هوازی به خصوص باسیلوس سرئوس به شیرخام این دامداری ها 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 اسپوره های هوازی و باسیلوس سرئوس در شیرخام نیز بیشتر می گردد. 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 میکروارگانیزم ها به تنهایی تعیین کننده 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، نشان دهنده پایین بودن باکتری های اسپورزا نیست. به طوری- که Evancho و همکاران در سال ۲۰۰۱ بیان کردند که حضور اسپوره های هوازی گرم مثبت، حتی ممکن است با افزایش کیفیت شیرخام بیشتر شود. بنابراین بهتر است شیرخام بر اساس تعداد اسپور درجه بندی شود نه بر اساس شمارش کل میکروارگانیزم ها زیرا تعداد بالای اسپوره های هوازی صرف نظر از ایجاد فساد و تولید طعم نامطلوب، می تواند از طریق تولید سموم، باعث بروز مخاطراتی در محصولات تولید شده گردند. نتایج حاصل مطابق با نتایج سایر محققین در سال های 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 اسپوره های 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 اسپوره های 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 می دهد 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 اسپوره های 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 هایی 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، مطلوب تر 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 اسپوره های هوازی نه تنها ماندگاری شیرخام و محصولات حاصل از آن را تحت تأثیر قرار می دهد بلکه حضور باکتری های

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: Robinsso 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: Robinsso 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, ElZubeir 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

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 می گردد. به نظر می رسد، مطلوب تر 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.

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 درجه بندی 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 می رسد 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 دامداری ها، 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.

- 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 industries. *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

- 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; 1997. Report No.: 707.
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*

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

Moradi-Khatoonabadi Zh.¹, Maghsoudlou¹ 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

³Department 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