

بررسی شمارش کلی میکروبی و میزان آلودگی به باکتری‌های کلی‌فرم، اشرشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، کپک و مخمر پنی‌های سنتی عرضه شده در شهر بیرجند در سال ۱۳۹۴
بیژن بنی‌اسدی^۱، عطاالله اژدری^{۲*}

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد بیرجند، دانشگاه آزاد اسلامی، بیرجند، ایران.

* نویسنده مسئول: Ataazhdari@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۲۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۲۶

چکیده

پنیر یک فراورده تخمیری شیر با ارزش تغذیه‌ای بالا می‌باشد. در ایران و به ویژه در استان خراسان جنوبی، پنیر سنتی بخش مهمی از سبد غذایی خانوارها را به خود اختصاص داده است. با توجه به شرایط و روند تولید، احتمال آلودگی میکروبی این فراورده بسیار بالا بوده و در صورت عدم رعایت موازین بهداشتی در حین تولید، نگهداری و عرضه، می‌تواند باعث بروز انواع بیماری‌ها و مسمومیت‌ها در مصرف‌کنندگان شود. هدف از این تحقیق تعیین میزان آلودگی میکروبی پنی‌های سنتی عرضه شده در شهر بیرجند بود. بدین منظور شهر بیرجند به ۴ منطقه (شمال، جنوب، شرق و غرب) تقسیم شد و از هر منطقه تعداد ۱۵ نمونه پنیر سنتی (در مجموع ۶۰ نمونه) به صورت کاملاً تصادفی از مراکز عرضه این فراورده تهیه شده و طبق روش‌های استاندارد و مرجع تحت آزمایشات میکروبیولوژیک قرار گرفتند. نتایج آنالیز آماری نشان داد شمارش کلی میکروبی و میزان آلودگی به باکتری‌های کلی‌فرم، استافیلوکوکوس اورئوس و کپک و مخمر در تمام نمونه‌ها بیش از حد مجاز استاندارد ایران بوده و ۹۳/۳۳ درصد نمونه‌ها از نظر اشریشیا کلی دارای آلودگی بودند. در نتیجه پنی‌های سنتی عرضه شده در شهر بیرجند از نظر میکروبی در وضعیت مطلوبی قرار نداشته و در شرایط کنونی مصرف آنها توصیه نمی‌شود.

واژگان کلیدی: پنیر سنتی، آلودگی میکروبی، بیرجند.

مقدمه

پنیر سنتی از مهمترین منابع عفونت‌ها و مسمومیت‌های غذازاد است که می‌تواند موجب بروز انواع بیماری‌ها در مصرف‌کنندگان شود (سالک مقدم و همکاران، ۱۳۸۰). ابتلا به بسیاری از بیماری‌های خطرناک مانند بروسلوز، تیفوئید، پاراتیفوئید، مننژیت، منگوانسفالیت، عفونت‌های دوران حاملگی (مثل عفونت ناشی از لیستریا مونوسی‌توزنز) و مرگ و میر کودکان ممکن است ناشی از مصرف پنی‌های سنتی آلوده باشند زیرا در ساخت این گونه پنی‌ها از شیر پاستوریزه استفاده نمی‌شود، بنابراین احتمال دارد شیر مورد استفاده حاوی باکتری‌های خطرناکی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا، اشریشیا کلی، کامپیلوباکتر، یرسینیا انتروکولیتیکا، باسیلوس سرئوس، کلستریدیوم پرفرینجنس، کلستریدیوم بوتولینوم، لیستریا مونوسی‌توزنز، بروسلا، مایکوباکتریوم توبرکولوزیس و ... باشد، ضمن آنکه فرایند تولید پنی‌های سنتی به گونه‌ای است که احتمال ایجاد آلودگی ثانویه در روند تولید، نگهداری و عرضه این فراورده را افزایش می‌دهد (وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰). از طرفی آلودگی پنیر سنتی به انواع

پنیر نوعی شیر تغلیظ شده است که بخش عمده مواد جامد آن را پروتئین (عمدتاً کازئین) و چربی تشکیل می‌دهد که بعد از انعقاد و خروج آب پنیر بدست می‌آید (دانشمند و همکاران، ۱۳۸۶). تبدیل شیر به پنیر مهمترین کوشش در نگهداری و ذخیره‌سازی شیر در یک فرم خوش طعم و دلپذیر می‌باشد که می‌تواند قسمت وسیعی از احتیاجات غذایی انسان را تامین کند (خاکپور و همکاران، ۱۳۹۱).

بخش عمده پنیر تولیدی در کشور مربوط به پنیر سنتی (حدود ۸۰ درصد) می‌باشد (نجفی و همکاران، ۱۳۹۰) که به علت ویژگی‌های ارگانولپتیک مطلوب از پرفرطدارترین محصولات لبنی در سطح جامعه محسوب می‌شود. پنی‌های تولید شده از شیر خام به روش سنتی پروفیل طعمی گسترده‌تر و محسوس‌تری را از خود نشان می‌دهند (حسامی راد و نژادرمجوی اخگر، ۱۳۸۰). علی‌رغم برتری‌های حسی پنی‌های سنتی نسبت به پنی‌های صنعتی مسئله مهم در تولید این محصول بالا بودن میزان آلودگی میکروبی آن می‌باشد (نجفی و همکاران، ۱۳۹۰).

ویولت رد بایل آگار^۲ (VRBA) به روش مخلوط کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید، برای تایید و شمارش کلی فرم‌های قطعی، کلنی‌های مشکوک به کلی فرم که در محیط کشت VRBA رشد کرده بودند به لوله‌های آزمایش حاوی لوله دورهام و محیط کشت آبگوشت سبز درخشان‌لاکتوزدار^۴ (BGBL) منتقل شده و پس از گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، در مورد هر یک از لوله‌های آزمایش که در لوله دورهام آن گاز تجمع کرده بود، وجود کلی فرم تایید شده و در نهایت تعداد کلی فرم‌ها در هر گرم از نمونه پنیر محاسبه گردید.

جهت شناسایی باکتری / شریشیا کلی، کلی فرم‌های شناسایی شده در مرحله قبل به محیط کشت BGBL حاوی لوله دورهام و محیط پپتون واتر منتقل و در دمای ۴۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند، در این شرایط باکتری / شریشیا کلی تولید گاز کرده و تست اندول آن مثبت می‌گردد، بر این اساس تعداد / شریشیا کلی در هر گرم از نمونه پنیر محاسبه شد (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۷۹).

جداسازی و شمارش باکتری / استافیلوکوکوس / اورئوس به روش کشت سطحی^۵ و با استفاده از محیط کشت بردپارکر آگار^۶ انجام گردید. جهت تایید کلنی‌های / استافیلوکوکوس / اورئوس که بر روی محیط کشت بردپارکر آگار رشد کرده بودند، تست کواگولاز انجام شد (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۸۴).

بررسی میزان آلودگی هر یک از نمونه‌ها به کپک و مخمر به روش کشت مخلوط و با استفاده از محیط کشت عصاره مخمر دکستروز کلرامفنیکل آگار^۷ (YGCagar) و انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳-۵ روز انجام گرفت (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۸۶).

تجزیه و تحلیل آماری

جهت تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایشگاهی از نرم افزار spss استفاده شد، به منظور مقایسه میانگین آلودگی

میکروارگانیسم‌های پاتوژن ضمن آنکه سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازد، می‌تواند موجب ضررهای اقتصادی قابل توجهی نیز شود (میرزایی و همکاران، ۱۳۹۱).

بررسی نتایج مطالعات سایر محققین در نقاط مختلف کشور اغلب بیان‌کننده وضعیت میکروبی نگران‌کننده این فراورده می‌باشد، لذا با توجه به میزان تولید و مصرف بالای پنیر سنتی در شهر بیرجند و این که تاکنون مطالعات کاربردی و عملی در مورد وضعیت آلودگی میکروبی پنیر سنتی عرضه شده در این شهر انجام نشده در این تحقیق وضعیت میکروبی این فراورده لبنی پرمصرف از لحاظ شمارش کلی میکروبی و میزان آلودگی به باکتری‌های کلی فرم، / شریشیا کلی، / استافیلوکوکوس / اورئوس و کپک و مخمر مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

جامعه آماری این پژوهش پنیرهای سنتی عرضه شده در سطح شهر بیرجند بود. تعداد ۶۰ نمونه پنیر سنتی در سال ۱۳۹۴ از فروشگاه‌های عرضه این فراورده جمع‌آوری گردید، بدین منظور شهر بیرجند به ۴ منطقه تقسیم و از هر منطقه ۱۵ نمونه طبق استاندارد ملی شماره ۳۲۶ به صورت کاملاً تصادفی اخذ گردید. سپس به هر نمونه کد مخصوص اختصاص داده شد و در جدول ثبت مشخصات، تاریخ اخذ نمونه، آدرس محل نمونه برداری و شرایط نگهداری آن ثبت گردید. نمونه‌ها با رعایت زنجیره سرد در کوتاه‌ترین زمان ممکن به آزمایشگاه منتقل شده و مورد آزمون‌های میکروبی قرار گرفتند، بدین منظور پس از تهیه رقت‌های اعشاری طبق استاندارد ملی شماره ۵-۸۹۲۳ (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۹۰)، جهت شمارش کلی میکروبی طبق استاندارد ملی شماره ۵۷۸۴ از روش کشت مخلوط^۸ در محیط کشت پلیت‌کانت آگار^۹ و انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۸۱).

جهت شناسایی و شمارش باکتری‌های کلی فرم طبق استاندارد ملی شماره ۹۲۶۳ (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۸۶) از هر یک از رقت‌های مورد نظر در محیط کشت

5. Surface plate count
6. Baird parker agar
- Yeast extract dextrose chloramphenicol agar

1. pour plate
2. Plate count agar
3. Violet red bile agar
4. Brilliant green bile lactose broth

کلی میکروبی و همچنین میزان آلودگی به باکتری‌های کلی‌فرم، *استافیلوکوکوس اورئوس* و نیز کپک و مخمر در تمام نمونه‌های مورد آزمون بیش از حد مجاز استاندارد بود و در ۹۳/۳۳ درصد نمونه‌های مورد آزمون *اشریشیا کلی* مشاهده شد.

نتایج آزمون آماری، نشان دهنده اختلاف معنادار آلودگی میکروبی نمونه‌های مورد آزمایش با حد مجاز استاندارد می‌باشد ($p < 0/05$) در نتیجه با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان بیان کرد که میزان آلودگی پنیرهای سنتی عرضه شده در شهر بیرجند بیش از حد مجاز است.

پنیرهای سنتی با مقادیر استاندارد از آزمون t-test تک نمونه‌ای و برای مقایسه میانگین آلودگی میکروبی پنیرهایی که در خارج از یخچال نگهداری می‌شدند با نمونه‌هایی که داخل یخچال نگهداری می‌شدند از آزمون t-test دو نمونه‌ای مستقل استفاده شد، سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

نتایج

در جدول شماره ۱ میزان آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی مورد آزمون و نیز حد مجاز استاندارد هر یک از میکروب‌ها بیان گردیده است، همانگونه که ملاحظه می‌شود شمارش

جدول ۱- میزان آلودگی های میکروبی مورد آزمون در نمونه های مورد بررسی (cfu/g)

آزمون	حداقل	حداکثر	میانگین	حدمجاز	درصد آلودگی بیش از حد مجاز
شمارش کلی میکروبی	۱۰ ^۴	۲۸×۱۰ ^۶	۲۰×۱۰ ^۵	۱۰ ^۳	٪۱۰۰
کلی فرم	۱۰ ^۳	۱۱×۱۰ ^۶	۱۶×۱۰ ^۵	۱۰	٪۱۰۰
<i>اشریشیا کلی</i>	۰	۹۳×۱۰ ^۵	۱۲×۱۰ ^۵	۰	٪۹۳،۳۳
<i>استافیلوکوکوس اورئوس</i>	۱۰ ^۳	۲۹×۱۰ ^۶	۵۶×۱۰ ^۵	۰	٪۱۰۰
کپک و مخمر	۶×۱۰ ^۲	۲۶×۱۰ ^۵	۲۶×۱۰ ^۴	۱۰ ^۲	٪۱۰۰

میانگین‌ها بسیار به هم نزدیک بودند، لذا با استفاده از آزمون آماری معنی‌دار بودن فاصله میانگین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون آماری با سطح معناداری ۰/۰۵ نشان داد که در مورد شمارش کلی میکروبی و میزان آلودگی به کلی‌فرم‌ها اختلاف معناداری بین میزان آلودگی نمونه‌های داخل و خارج یخچال وجود داشت ولی در مورد میزان آلودگی به باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین میزان آلودگی به کپک و مخمر اختلاف معناداری در نمونه‌های داخل و خارج یخچال وجود نداشت.

بحث

در فرایند تهیه پنیر سنتی به علت رعایت نشدن شرایط مناسب و استاندارد در مراحل مختلف تولید، نگهداری و عرضه باعث انتقال میکروارگانیسم‌ها به این فرآورده می‌شود (وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰) و به‌خاطر دارا بودن اکثر عناصر و ترکیبات غذایی محیط مناسبی جهت رشد و

به منظور بررسی میزان آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی مورد آزمون بسته به نحوه نگهداری آنها در فروشگاه‌های عرضه مواد غذایی، میانگین آلودگی میکروبی دو دسته نمونه با هم مقایسه گردید. با توجه به بزرگ بودن داده‌های مربوط به نتایج آزمون‌های میکروبی، برای اینکه مقایسه بهتر انجام شود، ابتدا در مورد نتایج هر یک از آزمون‌های میکروبی تبدیل خطی لگاریتم طبیعی ($\ln x$) اعمال شده و سپس میانگین‌ها با استفاده از آزمون t دو نمونه‌ای مستقل مورد مقایسه قرار گرفتند، همانگونه که در داده‌های جدول شماره ۲ ملاحظه می‌شود میزان آلودگی میکروبی در تمام موارد در نمونه‌های اخذ شده از فروشگاه‌هایی که فرآورده را خارج از یخچال نگهداری می‌کردند بیشتر از نمونه‌های داخل یخچال بوده است. در مورد شمارش کلی میکروبی و میزان آلودگی به باکتری‌های کلی‌فرم اختلاف میانگین‌ها قابل ملاحظه بوده ولی در مورد باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین کپک و مخمر

لازم برای بهبود کیفیت و سلامت این فراوده ضروری می‌باشد. در راستای تحقق این هدف در این پژوهش اقدام به تعیین میزان آلودگی پنیرهای سنتی و مقایسه آن با حد مجاز آلودگی (استاندارد ملی ۲۴۰۶) نمودیم.

بقای میکروارگانیسم‌ها و تولید توکسین توسط آن‌ها فراهم می‌باشد (رضایی و همکاران، ۱۳۹۰) در نتیجه سبب ایجاد انواع بیماری و مسمومیت در مصرف کنندگان و بروز مشکلات اقتصادی و اجتماعی می‌گردد، لذا با توجه به مصرف بالای پنیر سنتی بررسی آلودگی‌های میکروبی آن جهت استفاده نتایج آزمایشات به منظور انجام اقدامات

جدول ۲- میزان میانگین آلودگی‌های میکروبی (در هر گرم نمونه) با توجه به نحوه نگهداری آن‌ها در فروشگاه‌های عرضه مواد غذایی (براساس تبدیل خطی لگاریتم طبیعی (lnx) داده‌ها)

آلودگی	خارج یخچال	داخل یخچال
شمارش کلی میکروبی	۱۴/۵	۱۲/۵
کلی فرم	۱۴/۲۲	۱۱/۷۴
اشریشیاکلی	۱۱/۰۷	۱۰/۸۸
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۴/۹	۱۴/۰۲
کپک و مخمر	۱۱/۳۳	۱۱/۱۶

در تحقیقی که درمورد وضعیت آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی تازه با گونه استافیلوکوکوس اورئوس بر روی ۲۰۰ نمونه پنیر سنتی در شهرستان جهرم استان فارس انجام شده، بیش از ۵۰ درصد نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوکوس اورئوس بوده‌اند و از این نظر وضعیت پنیرهای سنتی را نامطلوب گزارش کرده‌اند (دانشمند و همکاران، ۱۳۸۶).

در مطالعاتی میانگین شمارش استافیلوکوکوس اورئوس در پنیرهای سنتی لبقوان $10^3 \times 4/53$ و استان مرکزی $10^3 \times 4/3$ گزارش شده است، که با مقایسه آن با نتایج تحقیق حاضر مشخص می‌شود که آلودگی پنیرهای سنتی عرضه شده در شهر بیرجند به استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر بوده و از این نظر در وضعیت نامطلوب‌تری قرار دارد که علت این موضوع می‌تواند به دلیل تفاوت شرایط بهداشتی در مراحل تولید و عرضه این نوع پنیر باشد (وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰؛ رضایی و همکاران، ۱۳۹۰).

در مجموع با توجه به آنکه روش تولید، نگهداری و عرضه پنیر سنتی در مناطق مختلف کشور متفاوت است. میزان آلودگی به استافیلوکوکوس اورئوس نیز در مناطق مختلف متفاوت می‌باشد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که از لحاظ آلودگی به باکتری‌های کلی فرم پنیرهای سنتی عرضه شده در بیرجند همانند بسیاری از مناطق کشور در وضعیت نامطلوبی قرار دارند (کازمی‌وند، ۱۳۸۷؛ یوسفی و مشعوف،

نتایج اغلب تحقیق‌ها نشان می‌دهد که پنیرهای سنتی تولید شده در نقاط مختلف کشور از نظر میزان آلودگی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در وضعیت نامطلوبی قرار دارند (سالک‌مقدم و همکاران، ۱۳۸۰؛ شادان و خوشایی، ۱۳۸۱؛ مرحمتی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۵؛ دانشمند و همکاران، ۱۳۸۶؛ رضایی و همکاران، ۱۳۹۰؛ میرزایی و همکاران، ۱۳۹۱؛ علی‌محمدی‌اصل و همکاران، ۲۰۰۳). از مهمترین عوامل موثر در این امر می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد: از طریق دام مبتلا به بیماری ورم پستان استافیلوکوکوس، میکروب استافیلوکوکوس اورئوس به شیر منتقل شده و عدم اعمال فرایند حرارتی مناسب در فرایند تهیه پنیر سنتی باعث بقای آن در شیر و انتقال میکروب به پنیر می‌شود. میکروب استافیلوکوکوس اورئوس یک گونه فرصت طلب در سطح بدن جانداران خونگرم (از جمله انسان) بوده که از طریق محیط و طی روند تولید و عرضه این فراورده که با دستکاری‌های زیادی همراه است آن را آلوده می‌کند.

در مطالعه‌ای که در مورد میزان آلودگی به باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در انواع فراورده‌های لبنی در کشور انگلستان انجام شد. نتایج تاکید بر این دارد که با ایجاد شرایط بهداشتی مناسب می‌توان از رشد این باکتری جلوگیری کرد و پنیرهایی که از شیر خام به دست می‌آیند میزان استافیلوکوکوس اورئوس بیشتری نسبت به پنیرهای حاصل از شیر پاستوریزه دارند (Little et al, 2008).

محققان می‌باشد (سالک مقدم و همکاران، ۱۳۸۰؛ Albezio et al., 2006؛ Papageorgious et al., 2007).

به طور طبیعی فعالیت کلی فرم‌ها در $PH < 5.2$ متوقف می‌شود لذا فعالیت این باکتری‌ها در مراحل آغازی تخمیر و قبل از اسیدی شدن محیط امکان پذیر است، کاهش PH و افزایش نمک از عوامل موثر در نزول تعداد این باکتری‌ها می‌باشد، با این حال اشریشیاکلی جزء مقاوم‌ترین گونه‌های کلی فرم است و می‌تواند در این شرایط زنده بماند (وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰)، لذا یکی از عوامل موثر حضور کلی فرم‌ها در نمونه‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر می‌تواند ناشی از درصد کم نمک در نمونه‌ها باشد و علاوه بر آن PH بالای نمونه‌ها می‌تواند به تشدید آلودگی کمک کند.

لذا با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق به نظر می‌رسد که استفاده از حرارت پاستوریزاسیون و یا حداقل ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای شیر مورد استفاده در تهیه پنیر سنتی، استفاده مناسب از مایه لاکتیکی، به کار بردن نسبت مناسب نمک در تهیه آب نمک، رعایت زمان دقیق رسیدگی پنیر و رعایت ضوابط بهداشتی در کارگاه‌های تهیه پنیر سنتی می‌تواند تا حدود زیادی از آلودگی باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه بکاهد.

وجود کپک‌ها و مخمرها در پنیر سنتی باعث کاهش مدت زمان نگهداری، ایجاد بو و طعم نامطبوع و تغییر رنگ در سطح آن شده و به علت تولید متابولیت‌های سمی (مایکوتوکسین‌ها) می‌توانند باعث بروز مسمومیت‌های قارچی در انسان شود، لذا به علت اهمیت آنها در کیفیت مواد غذایی میزان مجاز (100cfu/g) در استاندارد ملی ایران تعیین شده است (سازمان ملی استاندارد، ۱۳۸۷).

در مطالعه‌ای که بر روی پنیرهای سنتی استان مرکزی انجام شده، میانگین آلودگی به کپک‌ها و مخمرها را 6×10^5 گزارش کرده‌اند (رضایی و همکاران، ۱۳۹۰)، در مقایسه با میانگین آلودگی پنیر سنتی بیرجند که برابر با 26×10^4 می‌باشد، مشخص می‌شود آلودگی پنیرهای سنتی شهر بیرجند به کپک و مخمر کمتر از استان مرکزی بوده ولی همانند استان مرکزی میزان آلودگی قارچی به طور معناداری بیش از حد مجاز می‌باشد، که می‌تواند به علت عدم رعایت اصول بهداشتی در مراحل تهیه پنیر سنتی باشد، با توجه به اینکه اسپور قارچ‌ها در

۱۳۸۶؛ وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰؛ Aygun et al., 2005؛ Albezio et al., Tahiriet al., 2005؛ Papageorgious et al., 2007؛ 2006).

در دو مطالعه جداگانه که بر روی پنیرهای سنتی در تبریز و ترکیه انجام شده، میانگین شمارش کلی فرم‌ها در هر گرم از نمونه‌ها را به ترتیب $4/14 \times 10^2$ و $1/02 \times 10^4$ گزارش کردند (Aygun، ۲۰۰۵؛ میرزایی، ۲۰۰۸)، که در مقایسه با میانگین آلودگی کلی فرمی در پنیر سنتی بیرجند که برابر با 16×10^5 می‌باشد، مشخص می‌شود که از این لحاظ پنیر سنتی بیرجند در وضعیت نامطلوب‌تری قرار دارد. جداسازی/اشریشیاکلی از پنیر سنتی نشان دهنده آلودگی آن با مواد مدفوعی، هم از طریق منبع تهیه (شیر غیر پاستوریزه) و هم از طریق آلودگی ثانویه مانند نحوه توزیع، نگهداری و عرضه آن به مصرف کننده می‌باشد (سالک مقدم و همکاران، ۱۳۸۰). رعایت اصول بهداشت در کاهش میزان این آلودگی می‌تواند نقش بسزایی داشته باشد (وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰).

با توجه به اینکه باکتری/اشریشیاکلی با مکانیسم‌های متعددی از قبیل تولید انتروتوکسین، سیتوتوکسین و خصوصیات چسبیدن به سلول‌های اپی تلیال روده قادر به ایجاد اسهال می‌باشد، لذا نقش پنیرهای سنتی آلوده به این باکتری به عنوان عامل ایجاد کننده اسهال حائز اهمیت می‌باشد، وجود این باکتری در پنیر سنتی نشانگر خطرات بهداشت عمومی ناشی از وجود و انتقال باکتری‌های بیماری‌زای دیگر از جمله سالمونلا، شیگلا و نیز انواعی از اشریشیاکلی بیماری‌زا از جمله *E. coli* O157:H7 هم می‌باشد (سالک مقدم و همکاران، ۱۳۸۰؛ Vernozoy, 1997).

در مطالعه‌ای که بر روی پنیرهای محلی ليقوان تبریز در شهر مراغه انجام شده است نتایج نشان داده که ۹۸٪ نمونه‌ها به کلی فرم و ۵۰٪ موارد آلوده به اشریشیاکلی بودند (وزیری و نوروزی، ۱۳۹۰)، اما در بررسی حاضر درصد قابل توجهی از نمونه‌ها واجد این باکتری و قطعا غیر قابل مصرف بوده‌اند (بر اساس استاندارد ایران آلودگی فراورده‌های لبنی به باکتری‌های کلی فرم مدفوعی که شاخص آن اشریشیاکلی است باید صفر باشد). نتایج بدست آمده در این تحقیق موافق با یافته‌های برخی

نگهداری مواد غذایی در یخچال برای جلوگیری از رشد بسیاری از میکروبیوم‌های پاتوژن و مولد فاسد بسیار مناسب است، البته باید توجه داشت که نگهداری در شرایط نامناسب و غیر استاندارد در یخچال نمی‌تواند عمر ماندگاری فرآورده را افزایش دهد، در این رابطه نگهداری پنیرهای سنتی در یخچال کنار سایر مواد غذایی بدون پوشش محافظ باعث انتقال آلودگی به پنیر شده، از طرفی دست زدن‌های مداوم توسط خریداران نیز آلودگی ثانویه پنیر را افزایش می‌دهد، در ضمن عدم رعایت دمای مناسب نگهداری پنیر در یخچال (۲-۵ درجه سانتی‌گراد) که می‌تواند مربوط به مشکلات فنی یخچال، باز و بسته شدن های مداوم در یخچال و... باشد، رشد و تکثیر میکروبیوم‌ها را به همراه خواهد داشت (حسامی‌راد و نژادرزمجوی اخگر ۱۳۸۰).

از آنجا که تاریخ تولید پنیرهای سنتی مشخص نیست و معمولاً فاصله زمانی طولانی از تولید تا مصرف وجود دارد از طرفی پنیرهای سنتی قبل از انتقال به یخچال معمولاً از آلودگی میکروبی بالایی برخوردارند که حتی در صورت نگهداری در شرایط مناسب در یخچال نیز فقط روند رشد میکروبی و فساد پنیر کند می‌شود ولی با این حال میزان بار میکروبی کل اغلب بالاتر از حد مجاز می‌باشد.

نتیجه گیری

در مجموع نتیجه تحقیق حاضر نشان داد که وضعیت آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی بیرجند در حد قابل قبولی نبوده و مصرف آنها برای مصرف کنندگان مخاطره‌آمیز می‌باشند و نگهداری در شرایط نامناسب در یخچال نمی‌تواند تاثیر چشمگیری در کنترل آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی داشته باشد، لذا لازم است برای بهبود کیفیت بهداشتی در تولید این فرآورده، بجای شیرخام از شیر پاستوریزه و یا شیری که به اندازه کافی حرارت دیده استفاده شود، همچنین مراحل تولید، عمل آوردن و نگهداری اینگونه پنیرها تحت شرایط بهداشتی انجام شود، و پنیرهای سنتی در ظروف یک بارمصرف مناسب با درج مشخصات کامل مخصوصاً تاریخ تولید و انقضاء و شرایط نگهداری بسته بندی شوند، تولیدکنندگان پنیرسنتی نسبت به اخذ پروانه بهداشتی جهت نظام‌مند شدن نظارت بر رعایت بهداشت در کارگاه‌های تولید پنیر و پروسه نگهداری و انتقال پنیر سنتی به فروشگاه‌های

هوا پراکنده می‌باشد، در صورت عدم رعایت موازین بهداشتی به سهولت می‌توانند باعث آلودگی پنیرسنتی شوند، علاوه بر آن آلودگی ظروف تهیه پنیر، آلودگی افراد توزیع‌کننده و... نیز می‌توانند منجر به آلودگی پنیرهای سنتی به کپک‌ها و مخمرها شوند (رضایی و همکاران، ۱۳۹۰).

آلودگی پنیرهای سنتی به کپک‌ها و مخمرها علاوه بر احتمال ایجاد عوارض بهداشتی و کاهش کیفیت محصول از نظر اقتصادی نیز بسیار با اهمیت است (ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۹۱).

نتایج این تحقیق مشخص کرد که متأسفانه توتال کانت پنیرهای سنتی عرضه‌شده در فروشگاه‌های سطح شهر بیرجند همانند بسیاری از شهرهای دیگر ایران بالاتر از حد مجاز است (سالک مقدم و همکاران، ۱۳۸۰؛ ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۹۱؛ رضایی و همکاران، ۱۳۹۰).

در تحقیق صورت گرفته در مورد وضعیت آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی توزیع شده در استان مرکزی نشان داده تمامی نمونه‌های مورد آزمون بیش از حد استاندارد ایران به باکتری‌های کلی‌فرم، استافیلوکوکوس/رئوس، کپک و مخمر آلوده بودند و از نظر آلودگی میکروبی در وضعیت نامطلوبی قرار داشتند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد و علت آن را عدم رعایت اصول بهداشتی در روند تولید، نگهداری و عرضه پنیرهای سنتی عنوان کرده‌اند (رضایی و همکاران، ۱۳۹۰).

از عوامل موثر در بالا بودن توتال کانت در پنیرهای سنتی می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: بالا بودن بار میکروبی شیر محلی که در تولید پنیرهای سنتی استفاده می‌شوند. روند تولید پنیرهای سنتی که احتمال ایجاد آلودگی ثانویه را افزایش می‌دهد.

ویژگی‌های پنیرهای سنتی (محتوی رطوبت بالای آن با توجه به اینکه جزء پنیرهای نرم می‌باشد، PH آن نزدیک به خنثی بوده، منبع غنی از انواع مواد مغذی می‌باشد، معمولاً در فاصله زمانی بین تولید تا مصرف در دمای مناسب نگهداری نمی‌شود، معمولاً در معرض تماس مستقیم با هوای محیط بوده) که محیط مناسبی برای رشد انواع میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه افزایش میزان بار میکروبی کل فراهم می‌آورند (سالک مقدم و همکاران، ۱۳۸۰؛ ذوالفقاری و همکاران، ۱۳۹۱).

می‌باشد و با توجه به بالا بودن آلودگی این فراورده به کپک و مخمر توصیه می‌شود میزان آفلاتوکسین و سایر مایکوتوکسین‌های خطرناک در این فراورده مورد آزمون قرار گیرد. همچنین لازم است نظارت دوره‌ای توسط دستگاه‌های مربوطه (دانشگاه علوم پزشکی و اداره دامپزشکی) بر فروشگاه‌های عرضه پنیر سنتی جهت تعیین میزان آلودگی میکروبی و نیز کنترل رعایت شرایط بهداشتی نگهداری و عرضه پنیر سنتی انجام گیرد.

۶. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). میکروبیولوژی مواد غذایی روش جامع برای شمارش کلیفرم‌ها به روش شمارش کلنی. چاپ اول، استاندارد شماره ۹۲۶۳.
۷. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). شیر و فراورده‌های آن، شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلنی کپک و یا مخمر - شمارش کلنی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد. چاپ اول، استاندارد شماره ۱۰۱۵۴.
۸. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۴). میکروبیولوژی مواد غذایی شمارش استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت (استافیلوکوکوس /رئوس و سایر گونه‌ها به روش استفاده از محیط کشت برد-پارکراگار. تجدید نظر اول، چاپ اول، استاندارد شماره ۱۰۶۸۰۶-۱.
۹. سالک‌مقدم، علیرضا، انصاری، حسن، روادگر، بهران و نورانی وطنی، اعظم. (۱۳۸۰). بررسی آلودگی میکروبی در نمونه‌های پنیر غیر پاستوریزه در مقایسه با پنیرهای پاستوریزه و تاثیر مقادیر مختلف نمک اضافه شده به پنیر بر روی باکتری‌هایی بیماری‌زادی آلوده کننده. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران، سال هشتم، شماره بیست و پنجم، صفحه ۱۷۵-۸۱.
۱۰. کاظمی‌وند، ا. (۱۳۸۷). بررسی میزان آلودگی پنیرهای محلی تبریز به باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه. پایان‌نامه ارشد رشته علوم تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز.
۱۱. ملاعباس‌زاده، حامد و شیخ‌زاده، بهنود. (۱۳۹۲). بررسی میزان آلودگی و تعیین الگوی حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از پنیرهای سنتی مصرفی در بخش قطور شهرستان خوی. مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا، سال چهارم، شماره دوم، صفحه ۲۱۷-۲۰۹.

عرضه مواد غذایی ملزم شوند، با توجه به اینکه طبق ضوابط وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی و سازمان دامپزشکی کشور عرضه پنیر سنتی به صورت فله غیر مجاز است لذا توصیه می‌شود تا برطرف شدن مشکلات بهداشتی (از دوشش دام تا عرضه فراورده) از تهیه، توزیع و مصرف پنیرهای سنتی در شهر بیرجند جلوگیری شود. فرهنگسازی در سطح جامعه و اطلاع رسانی مناسب به مردم در مورد خطرات استفاده از اینگونه پنیرها ضروری

منابع

۱. خاکپور، منصور، عزتی، محمدسعید، محمودی، کاوان، خلجی پیربلوطی، مرجان و خاکسار، رامین. (۱۳۹۱). مطالعه فراوانی /استافیلوکوکوس/ورئوس کوآگولاز مثبت در پنیرهای محلی آذربایجان غربی به روش کشت و PCR. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال هفتم، شماره پنجم، صفحه ۳۸-۴۲.
۲. دانشمند، عبدالرضا، رسولی، منوچهر، کارگر، محمد و کیانی، سیمین. (۱۳۸۶). بررسی میزان آلودگی پنیرهای سنتی تازه با گونه‌های سالمونلا و استافیلوکوکوس /رئوس در شهرستان جهرم. دوفصلنامه طب جنوب، سال دهم، شماره اول، صفحه ۱۹-۲۶.
۳. ذوالفقاری، محمد، گائینی، ریحانه، کلهر، ناصر، خلیلیان، محدثه، رضویان، محمدحسین و سلیمانی، ساسان. (۱۳۹۱). بررسی آلودگی میکروبی انواع شیر و فراورده‌های لبنی پاستوریزه در استان قم. مجله دنیای میکروب‌ها، سال پنجم، شماره دوم، صفحه ۵۷-۴۷.
۴. رضایی، محمد، یحیایی، محمد، پرویز، مهدی و خدایی‌مطلق، مهدی. (۱۳۹۳). بررسی وضعیت آلودگی میکروبی پنیرهای سنتی توزیع شده در استان مرکزی در سال ۱۳۹۰. مجله سلامت و محیط، فصلنامه علمی و پژوهشی انجمن علمی بهداشت محیط ایران، سال هفتم، شماره اول، صفحه ۱۱۵-۱۲۲.
۵. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۴). شیر و فراورده‌های آن شمارش اشیریشیاکلی به روش محتمل ترین تعداد (MPN). تجدید نظر اول، چاپ اول، استاندارد شماره ۵۲۳۴.

- staphylococci in ripend Franch raw milk cheese and thire in virto ability to production entrotxcin. *Revue Med Vet.* 155: 92-96.
18. Jorgensen, H., Mork, T. and Hogasen, H. (2005). Extrrotoxicogenic staphylococcus aureus in bulk milk in Norway. *J Applmicrobial.* 99: 18-66.
 19. Normanno, G., Lasalandra, G., Dambrsio, A. (2007). Occurrence, Characterization and Antimicrobial resistance of Entrotoxicogenic staphylococcus aureus isolated formmeat and dairy products. *Int J Food Microbial.* 115: 290-296.
 20. Papageorgious, DK., Abraham, A., Bori, M. (2007). Chemical and bacteriological characteristics of pichtogalochanion cheese and mesophilic starter cultures for its production. *J food port* 61: 688-700.
 21. Rodriguez, E., Calzada, J., Arquez, J. (2005). Antimicrobial activity of pediocin – producing lactococcus lactis listeria monocytogenes, staphylococcus aureus and Escherichiacoli in cheese. *Int Dairy J*; 15: 51-57.
 22. Tahiri, R. (2005). A Comparison on Microbial Conditions between Traditional Dairy Products Sold in karka and same products produced by modern dairies. *P J N.4*: 345-400.
 23. Vernozyrozand, C. (1997). Detection of Esherichia coli O157:H7 and other verocytotoxin producing ecoli in food. *J Applmicrobiol.* 82: 537-551
 ۱۲. میرزایی، حمید، جوادی، افشین، فرجلی، مهدی، محمدی، امیررضاشاه؛ منادی، علیرضا و برزگر، ابوالفضل. (۱۳۹۱). شیوع استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین در پنیر و کره محلی: یک مطالعه میدانی در تبریز. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، سال شست و هفتم، شماره اول، صفحه ۶۵-۷۰.
 ۱۳. نجفی، علی، ضیابخش دیلمی، مهسا، کریمیان، حمیده؛ عابدی‌نیا، احمدرضا و حسینی‌نژاد، مرجان. (۱۳۹۰). بررسی تغییرات میکروبی پنیر پوستی طی دوره رسیدن. *مجله علوم تغذیه*، سال هشتم، شماره دوم، صفحه ۸۵-۹۱.
 ۱۴. وزیری، سمیرا و نوروزی، مرضیه. (۱۳۹۰). بررسی میزان آلودگی پنیرهای محلی ليقوان تبریز به کلی‌فرم‌ها و اشرفی‌کلی در شهر مراغه. *مجله میکروپ‌شناسی پزشکی ایران*، سال پنجم، شماره هفتم، صفحه ۲۳-۲۸.
 15. Alimohamadiasl, H., Etehad, G. and Nemati, A. 2002. Organoleptic properties and microbial contamination of traditional and pasteurized cheeses in Ardebill Township. *SJM.* 33: 33-38.
 16. Aygun, O., Aslantas, O. and Oner, S. 2005. A survey on the microbiological quality of Carra, a traditional Turkish cheese. *Journal of Food Engineering.* 66: 401-404.
 17. Little, CL., Rhoades, JR., Sagoo, SK., Harris, j., Greenwood, M., Mithani, V., et al. (2006). Idification and biotyping of coagulase positive

Survey of the total microbial count and the rate of contamination to coliform, *Staphylococcus aureus*, mold and yeast in traditional cheese in Birjand during 2015

Baniassadi B¹, Azhdari A^{2*}

1. Graduated M.Sc. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Birjand Branch, Islamic Azad University, Birjand, Iran

*Corresponding author: Ataazhdari@yahoo.com

Received: 04 April 2016

Accepted: 15 April 2017

Abstract

Cheese is a fermented milk product with high nutritional value. Traditional cheese has an important role in family meals in Iran and especially in South Khorasan. According to the conditions of production, storage and sale, the possibility of microbial contamination in this product is very high and so it can cause a variety of food borne diseases in consumers. The aim of This Survey was measurement and determination of microbial contamination in traditional cheeses which were marketed in Brijand. For this propose, Brijand city was divided into four regions (North, South, East and West) and 15 samples of traditional cheese were collected from each region (totally 60 samples) under sterile conditions and were studied with standard methods of Iranian national standards organization. Data were analyzed with SPSS software. The statistical analysis of the data showed that the total microbial count (TC) and the rate of contamination with coliforms, *staphylococcus aureus* and mold and yeast were greater than Iranian standard limits in all samples and also in 93.33% of samples *Escherichia coli* was isolated. The results obtained in this study concluded that traditional cheese in Brijand has a high microbial contamination and more strict preventive measures are necessary.

Keywords: Traditional cheese, Microbial Contamination, Birjand.