ارزیابی محصولات پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک لبنی در اصفهان از نظر تعداد لاکتوباسیلوس زنده و وجود لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

هاجر رضایی[۱]، حسین فاضلی[۲]، مریم میرلوحی[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعه حاضر به بررسی کنترل کیفی محصولات پروبیوتیک عرضه شده در بازار ایران از نظر تعداد گونه لاکتوباسیلوس زنده و مقایسه آن با محصولات لبنی غیر پروبیوتیک پرداخت. همچنین، سویه‌های جدا شده از نظر ادعای تولید کنندگان مبنی بر استفاده از گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه، ۱۴ محصول لبنی پروبیوتیک و ۸ فرآورده لبنی غیر پروبیوتیک از بازار تهیه گردید. رقت‌های مناسب از هر نمونه در سرم فیزیولوژی به دست آمد و ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌ها به شکل کشت سطحی بر محیط آگاردار de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) حاوی سیستئین هیدروکلراید تلقیح شد. پس از گرم‌خانه‌گذاری و شمارش کلنی‌ها، از هر نمونه کشت، شش کلنی با خصوصیات مورفولوژیک متفاوت جداسازی شد. ایزوله‌ها در محیط کشت MRS حاوی برموکرزول و سیستئین هیدروکلراید حداقل دو بار خالص‌سازی شدند. جهت تفرق سویه‌های پروبیوتیک از غیر پروبیوتیک، از آزمایش رشد در برابر X-Gal استفاده گردید.

یافته‌ها: در محصولات پروبیوتیک، جمعیت لاکتوباسیلوس زنده در ماست، کفیر و پنیر به ترتیب ۵/۷۰، ۶/۳۲ و ۶/۲۷ لگاریتم واحد کلنی در گرم بود. در مقابل، میانگین جمعیت لاکتوباسیلوس در مورد کل نمونه‌های غیر پروبیوتیک مورد بررسی شامل ماست، دوغ و پنیر به ترتیب ۵/۲۲، ۳/۶۰ و ۳/۶۲ لگاریتم واحد کلنی در گرم شمارش شد. از ۱۴ محصول پروبیوتیک، ۵ نمونه (۳۵ درصد) واجد باکتری‌هایی با قابلیت رشد در حضور صفرا بودند.

نتیجه‌گیری: اگرچه میانگین جمعیت لاکتوباسیلوس زنده در فرآورده‌های پروبیوتیک لبنی نسبت به انواع غیر لبنی بیشتر است، اما این شاخص در بخش عمده‌ای از فرآورده‌های لبنی که با عنوان پروبیوتیک در بازار ایران عرضه می‌شود، با حد استاندارد تفاوت زیادی دارد؛ به ویژه در برخی از برندهای تجاری ماست، میانگین شمارش لاکتوباسیلوس‌های دارای قدرت رشد در حضور صفرا، از حداقل تعیین شده در قوانین پایین‌تر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: لاکتوباسیلوس، پروبیوتیک، شمارش میکروبی

ارجاع: رضایی هاجر، فاضلی حسین، میرلوحی مریم. **ارزیابی محصولات پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک لبنی در اصفهان از نظر تعداد لاکتوباسیلوس زنده و وجود لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس.** مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۶؛ ۱۳ (۲): ۱۹۷-۱۸۷

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۵/۱۲ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳

مقدمه

غذای پروبیوتیک، به غذایی گفته می‌شود که حاوی حداقل یک میلیون باکتری پروبیوتیک باشد؛ به طوری که پس از مصرف، جمعیت کافی از آن‌ها به صورت زنده و فعال و به تعداد کافی به روده برسند و منشأ آثار مفیدی در سلامتی میزبان شوند. این تعداد از باکتری باید از زمان تولید تا تاریخ انقضای محصول و در کل دوره نگهداری آن حفظ گردد. جهت نیل به این هدف، میکروارگانیسم باید صلاحیت استفاده به عنوان پروبیوتیک را داشته باشد تا بتواند شرایط تولید و نگهداری را تحمل نماید (۱). از آن‌جایی که بر اساس استانداردهای بین‌المللی، جمعیت باکتری پروبیوتیک در غذا، اصلی اساسی برای مشاهده آثار مفید مصرف آن است؛ بنابراین، در کنترل کیفیت غذای تهیه شده با عنوان پروبیوتیک، بررسی جمعیت باکتری از اصول اولیه به شمار می‌رود (۲، ۱). فرآورده‌های لبنی مهم‌ترین محصولاتی هستند که تولید آن‌ها به شکل پروبیوتیک متداول است؛ به طوری که اشکال مختلف این فرآورده‌های پروبیوتیک، بخش مهمی از بازار این‌گونه محصولات را به خود اختصاص داده است (۳، ۲). نتایج مطالعات نشان داده است که فرآورده‌های لبنی حامل مناسبی از نظر حفظ تعداد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک هستند. شرایط نگهداری یخچالی و سرد که برای حفظ عمر و ماندگاری محصولات لبنی اعمال می‌گردد، به حفظ تعداد باکتری‌های زنده کمک می‌کند. علاوه بر این، مصرف فرآورده‌های لبنی به خصوص انواع تخمیری مانند شیرهای تخمیری و ماست به دلیل سابقه تاریخی مصرف و نقش آن‌ها در سلامتی، همواره با نگرش مثبتی از طرف جامعه روبه‌رو بوده‌اند و افزودن سویه‌های مفید پروبیوتیک به این دسته از محصولات، به خوبی قابل توجیه است (۵، ۴).

۱- کارشناس ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- دانشیار، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران
نویسنده مسؤول: مریم میرلوحی
Email: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

محصولات لبنی تخمیر شده همواره حامل جمعیت قابل توجهی از باکتری‌های کشت‌های آغازگر می‌باشند که از نظر جنس و یا حتی گونه، با پروبیوتیک‌های شناخته شده و تجاری مشترک هستند و برای آن‌ها نیز خصوصیات مفید و سلامتی‌بخش زیادی ذکر شده است. حتی قابلیت‌های پروبیوتیکی این دسته از میکروارگانسم‌ها در مطالعات زیادی مورد بررسی قرار گرفته و سویه‌هایی با قابلیت‌های تعریف شده پروبیوتیکی از این گروه معرفی شده است (۳، ۱). از جمله معمول‌ترین محصولات لبنی پروبیوتیک در بازار جهانی، می‌توان به ماست، دوغ، کفیر، پنیر پروبیوتیک یا انواع دیگری از شیرهای تخمیری اشاره نمود (۳).

در ایران نیز در چند سال اخیر شرکت‌های تولید فرآورده‌های لبنی، انواعی از محصولات پروبیوتیک را به بازار عرضه کرده و بر اساس برچسب‌های اطلاع‌رسانی و معرفی محصول، مصرف کنندگان خاص خود را در جامعه پیدا کرده‌اند. علاوه بر این، با توجه به فواید پروبیوتیک‌ها، توصیه جامعه پزشکی و پیراپزشکی به مراجعان جهت مصرف این محصولات امری طبیعی است. پیامد این تغییرات، روی آوردن کارخانه‌های بیشتر جهت تولید محصولات پروبیوتیک می‌باشد. استاندارد ملی این محصولات نیز توسط معاونت غذا و داروی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، به شماره استاندارد PEI/Cr V۱/۰۰۴۲ تحت عنوان حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده‌های شیری پروبیوتیک در سال ۱۳۸۷ تدوین شد. بر اساس این استاندارد، مهم‌ترین اصل کنترل کیفیت محصول پروبیوتیک، وجود جمعیت زنده‌ای حداقل برابر $۱۰^{۶}$-$۱۰^{۷}$ واحد کلنی در هر گرم از یک سویه باکتریایی مشخص جهت ایجاد فواید محصولات پروبیوتیک است. این شرایط باید در هنگام مصرف و تا آخرین روز تاریخ انقضای مصرف محصول برقرار باشد (۱). سویه‌هایی از گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و جنس بیفیدوباکتریوم، متداول‌ترین باکتری پروبیوتیک مورد استفاده در محصولات لبنی ایران هستند (۶).

میکروارگانیسم‌های متعلق به گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از نظر خصوصیات مورفولوژیک و حتی بیوشیمیایی، به میکروارگانیسم‌های گونه لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (میکروارگانیسم آغازگر در محصولات لبنی) بسیار شبیه می‌باشند و روش شناسایی آن‌ها از یکدیگر، بر اساس قدرت رشد آن‌ها در محیط صفراوی تعیین شده است (۱). گسترش روزافزون فرآورده‌های پروبیوتیک و تبلیغات وسیع آن‌ها، باعث شده است که علاوه بر کنترل رایج این محصولات که توسط سازمان‌های ناظر انجام می‌شود، بخشی از مطالعات علمی به بررسی کیفیت شاخص‌های زیستی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در مورد این محصولات منحصر گردد. در ایران نیز تاکنون چندین مطالعه به بررسی کنترل کیفیت این محصولات پرداخته‌اند. نتایج برخی از مطالعات نشان داده است که فرآورده‌های موجود در بازار از حدود استاندارد تبعیت نمی‌کنند. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی کنترل کیفی محصولات پروبیوتیک عرضه شده در بازار ایران از نظر تعداد لاکتوباسیلوس زنده و مقایسه آن با محصولات غیر پروبیوتیک بود. علاوه بر این، سویه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده‌های پروبیوتیک، از نظر ادعای تولید کنندگان مبنی بر استفاده از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

این مطالعه از نوع توصیفی- مقطعی بود که در آن کیفیت محصولات لبنی پروبیوتیک موجود در بازار ایران از نظر اولین شرط لازم برای محصولات پروبیوتیک یعنی تعداد باکتری‌های زنده مورد ارزیابی قرار گرفت. از آن‌جایی که نتایج مطالعات نشان داده‌اند که قابلیت زیستی بیفیدوباکترها نسبت به لاکتوباسیلوس‌ها کمتر است (۷)، در مطالعه حاضر فقط تعداد لاکتوباسیلوس‌های زنده مد نظر قرار گرفت.

۱۴ نمونه لبنی تخمیری با برچسب پروبیوتیک شامل ۸ نمونه ماست، ۳ نمونه کفیر و ۳ نمونه پنیر پروبیوتیک و ۸ نمونه لبنی تخمیری غیر پروبیوتیک شامل ۳ نمونه ماست، ۲ نمونه دوغ و ۳ نمونه پنیر غیر پروبیوتیک عرضه شده در بازار، مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری در فاصله زمانی بهینه برای مصرف (حداکثر یک هفته پس از تاریخ تولید) انجام شد. از هر نمونه، سری رقت در سرم فیزیولوژی تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۶}$ جدا شد. کشت میکروبی به شکل سطحی بر روی محیط آگاردار de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) (Merck، آلمان) حاوی ۰/۵ درصد سیستئین هیدروکلراید انجام گرفت. پلیت‌های کشت شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید و پس از ۷۲ ساعت، شمارش صورت گرفت. از پلیت‌های حاوی حدود ۲۵ تا ۲۵۰ کلنی باکتریایی، شش کلنی با خصوصیات مورفولوژی متفاوت نمونه‌برداری و هر یک از جدایه‌ها بر روی محیط کشت MRS حاوی ۰/۰۲۵ گرم بر لیتر برموکروزول گرین و ۰/۲۵ گرم بر لیتر سیستئین هیدروکلراید حداقل دو بار خالص‌سازی گردید. خصوصیات مورفولوژی کلنی و سلولی هر یک از کشت‌های خالص شده و آزمایش‌های گرم و کاتالاز در مورد هر جدایه انجام گرفت. جهت تفرق سویه‌های پروبیوتیک از غیر پروبیوتیک، از آزمایش رشد در برابر ۰/۳ درصد X-Gal (Sigma، آمریکا) استفاده شد.

یافته‌ها

شمارش جمعیت باکتری زنده بر محیط کشت MRS، شمارش لاکتوباسیلوس زنده و شمارش مخمر رشد کرده بر همان محیط در محصولات پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک در جدول ۱ ارایه شده است. در مورد محصولات پروبیوتیک، میانگین شمارش جمعیت باکتریایی در محیط MRS در ماست، کفیر و پنیر به ترتیب ۵/۹۲، ۶/۵۱ و ۵/۹۶ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول بود. در یک نمونه ماست پروبیوتیک (y۵)، هیچ‌گونه جمعیت زنده باکتریایی مشاهده نشد. بدون احتساب نمونه اخیر، میانگین کلی جمعیت زنده باکتریایی شمارش شده در محیط MRS در مورد نمونه‌های ماست، به ۶/۴۶ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول افزایش پیدا کرد. شمارش پلیت‌های کشت شده از محصولات غیر پروبیوتیک نشان داد که جمعیت زنده کل در این دسته از محصولات در مورد ماست، دوغ و پنیر به ترتیب ۵/۵۱، ۵/۸۸ و ۳/۷۲ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول بود. در این گروه از محصولات نیز در حدود رقت کشت داده شده، یک نمونه از هر محصول فاقد هر گونه باکتری زنده بود.

www.mui.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. شمارش کلی در محیط MRS (de Man, Rogosa and Sharpe)، شمارش لاکتوباسیلوس و مخمر در فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک عرضه شده در بازار

محصولات غیر پروبیوتیک			محصولات پروبیوتیک				
شمارش مخمر	شمارش لاکتوباسیلوس (لگاریتم واحد کلنی)	شمارش کلی بر محیط MRS (لگاریتم واحد کلنی)	نام محصول	تعداد باکتری زنده ادعا شده بر برچسب محصول (لگاریتم واحد کلنی در میلی‌لیتر)	شمارش مخمر (لگاریتم واحد کلنی)	شمارش لاکتو باسیلوس (لگاریتم واحد کلنی)	شمارش کلی بر محیط MRS (لگاریتم واحد کلنی در میلی‌لیتر)	نام محصول
ماست‌ها								
/	/	/	چوپان (y۱)	$۱۰^{۶}$	۵/۸۳	۴۸/۶۰	۴۶/۶۰	دامداران پرچرب (y۱)[۱]
۰	۶/۷۶	۶/۷۶	فالیزان (y۲)	$۱۰^{۶}$	۷/۸۰	۶/۶۵	۷/۸۴	دامداران پرچرب (y۱)[۲]
۷/۲۰	۸/۴۷	۸/۴۹	سون کاله (y۳)[۱]	$۱۰^{۶}$	۷/۱۹	۷/۱۵	۷/۲۲	دامداران کم‌چرب (y۲)[۱]
۶/۷۷	۵/۶۵	۶/۸۳	سون کاله (y۳)[۲]	$۱۰^{۶}$	۶/۴۴	۶/۳۳	۶/۷۰	دامداران کم‌چرب (y۲)[۲]
				–	۵/۴۷	۵/۸۰	۵/۹۲	رامک (y۶)
				–	۰	۵/۷۱	۵/۷۱	فالیزان (y۷)
				–	۰	۶/۳۳	۶/۳۹	پگاه (y۸)
دوغ‌ها						کفیرها		
۶/۱۳	۴/۰۲	۶/۲۴	پگاه (D۱)[۱]	–	۷/۳۴	۶/۵۷	۶/۸۱	کاله (k۱)[۱]
۷/۰۵	۶/۹۷	۷/۳۱	پگاه (D۱)[۲]	–	۶/۱۴	۶/۰۱	۶/۳۹	کاله (k۱)[۲]
۴	۰	۴/۰۰	خزرشیر (D۱)	–	۵/۴۴	۶/۳۹	۵/۹۳	پاکبان (k۲)
				–	۵/۴۴	۶/۳۳	۶/۴۲	کفیر پگاه (k۳)
پنیر غیر پروبیوتیک						پنیر پروبیوتیک		
۰	۶/۱۹	۶/۱۹	پنیر خامه‌ای کاله (CH۱)[۱]	–	۰	۶/۸۳	۶/۸۳	پنیر رامک (CH۱)
۵/۶۳	۶/۰۸	۶/۲۷	پنیر خامه‌ای کاله (CH۱)[۲]	–	۰	۶/۱۹	۶/۱۹	پنیر پاک (CH۲)
۰	۰	۰	پنیر خامه‌ای پگاه (CH۲)[۱]	–	۵/۱۱	۵/۸۰	۵/۴۷	پنیر پگاه (CH۳)
۰	۰	۰	پنیر خامه‌ای پگاه (CH۲)[۲]					
۵/۸۸	۵/۸۴	۶/۱۷	پنیر چوپان (CH۳)					

MRS: de Man, Rogosa and Sharpe

Archive of SID

www.mui.ac.ir
www.SID.ir

بدون احتساب یک نمونه ماست فاقد باکتری و یک نمونه پنیر، شمارش جمعیت زنده به ترتیب ۷/۳۶ و ۶/۲۱ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول محاسبه گردید.

با بررسی جداگانه کلنی‌های رشد کرده در محیط MRS، مشخص شد که جمعیت رشد کرده شامل دو گروه اصلی مخمر و لاکتوباسیلوس بود. از این‌رو، با بررسی کلنی‌های موجود، شمارش مخمر و لاکتوباسیلوس به طور جداگانه در جدول ۱ گزارش گردید. بدین ترتیب در محصولات پروبیوتیک، جمعیت لاکتوباسیلوس در ماست، کفیر و پنیر به ترتیب ۵/۷۰، ۶/۳۲ و ۶/۲۷ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول به دست آمد. بدون در نظر گرفتن یک برند ماست پروبیوتیک که فاقد هر گونه باکتری زنده بود، میانگین جمعیت لاکتوباسیلوس در ماست‌های پروبیوتیک، ۶/۲۱ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول مشاهده شد.

میانگین شمارش کلنی‌های مخمر در کل نمونه‌های مورد آزمایش در این محصولات در مورد ماست، کفیر و پنیر به ترتیب ۲/۷۲، ۶/۰۶ و ۱/۷۰ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول به دست آمد. نتایج حاکی از آن بود که حضور مخمر در کفیر نسبت به محصولات دیگر بسیار بالا می‌باشد و با میانگین لاکتوباسیلوس موجود در کفیر نسبت برابری داشت.

در مورد محصولات غیر پروبیوتیک نیز مشخص شد که علاوه بر لاکتوباسیلوس‌ها، جمعیت قابل توجهی از مخمر در پلیت‌های MRS رشد کردند. میانگین جمعیت لاکتوباسیلوس در کل نمونه‌های مورد بررسی ماست، دوغ و پنیر به ترتیب ۵/۲۲، ۳/۶۰ و ۳/۶۲ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول و میانگین شمارش جمعیت مخمر رشد کرده در کل نمونه‌ها به ترتیب ۳/۴۹، ۵/۷۲ و ۲/۳۰ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول به دست آمد. بدون احتساب یک نمونه پنیر و یک نمونه ماست که هیچ‌گونه رشدی از سویه‌های لاکتوباسیلوس در آن‌ها مشاهده نشد، میانگین تعداد لاکتوباسیلوس زنده در نمونه‌های ماست ۶/۹۶ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول و در نمونه‌های پنیر نیز ۶/۰۳ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول محاسبه گردید.

در میان نمونه‌های ماست پروبیوتیک مورد بررسی، در دو بار تکرار جداگانه آزمایش، بالاترین شمارش جمعیت لاکتوباسیلوس مربوط به محصول دامداران پرچرب (y۱) با میانگین ۷/۸۴ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول و کمترین شمارش مربوط به مانی‌ماس (y۵) معادل با صفر بود. در مورد نمونه‌های کفیر نیز محصول شرکت کاله (k۱) با میانگین شمارش ۶/۸۵ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم، بیشترین جمعیت لاکتوباسیلوس و کفیر پاکبان (k۲) با میانگین شمارش ۵/۹۳ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم، کمترین جمعیت لاکتوباسیلوس را به خود اختصاص داد.

در میان نمونه‌های پنیر پروبیوتیک، بیشترین شمارش لاکتوباسیلوس مربوط به محصول شرکت رامک (CH۱) با ۸/۲۱ و کمترین آن مربوط به محصول شرکت پگاه (CH۳) با میانگین شمارش ۵/۴۶ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول بود.

در محصولات غیر پروبیوتیک، بالاترین جمعیت لاکتوباسیلوس زنده در محصول شرکت کاله و در ماست سون کاله (k۳۱) با میانگین ۸/۴۹ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول و کمترین جمعیت نیز در محصول شرکت چوپان (y۱) معادل صفر مشاهده گردید.

یافته‌ها در ارزیابی نمونه‌های دوغ غیر پروبیوتیک نشان داد که بیشترین و کمترین جمعیت زنده لاکتوباسیلوس به ترتیب به محصولات شرکت پگاه (D۱) و شرکت خزرشیر (D۲) معادل ۷/۳۱ و ۴/۰۰ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم از محصول اختصاص داشت و در محصول پنیر غیر پروبیوتیک نیز بیشترین شمارش جمعیت زنده لاکتوباسیلوس مربوط به پنیر خامه‌ای کاله (CH۱) با ۶/۱۹ لگاریتم واحد کلنی در هر گرم و کمترین آن مربوط به پنیر خامه‌ای پگاه (CH۲) معادل با صفر بود. لازم به ذکر است که در نمونه پنیر خامه‌ای شرکت پگاه در دو بار نمونه‌گیری از دو سریال متفاوت، تولید هیچ‌گونه رشد لاکتوباسلوس زنده مشاهده نشد.

در جداول ۲ و ۳ مشخصات ایزوله‌های لاکتوباسیلوس جدا شده در مطالعه حاضر از نظر جمعیت اولیه، ریخت‌شناسی کلنی، شدت تولید اسید، قابلیت رشد در حضور صفرا و گونه احتمالی به ترتیب در دو گروه فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک نشان داده شده است.

چهار نوع مورفولوژی «محدب گرد، ستاره‌ای شکل صاف، محدب با حاشیه نامنظم و مخروطی یا محدب با مرکز برجسته» بر روی محیط‌های کشت جامد قابل مشاهده بود. از نظر اندازه، کلنی‌های مشاهده شده به سه دسته «بسیار ریز (سرسوزنی)، درشت و متوسط» تقسیم‌بندی شد. از طرف دیگر، کلنی‌های رشد کرده در محیط حاوی معرف برموکروزول، از نظر رنگ در چهار دسته «سبز کم‌رنگ، سفید، سبز با مرکز سبز پررنگ و سفید با مرکز سبز» قرار گرفتند.

از ۹۳ ایزوله لاکتوباسیلوس جدا شده از کل محصولات لبنی مورد آزمایش، ۲۰ نمونه قابلیت رشد در حضور املاح صفراوی (۰/۳ درصد) را نشان داد. بنابراین، ۳۳ درصد از کل ایزوله‌ها قابلیت رشد در حضور صفرا را داشتند. با توجه به شباهت ریخت‌شناسی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با باکتری کشت آغازگر ماست و توجه به ذکر بعضی از برندها به استفاده از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به عنوان باکتری پروبیوتیک، می‌توان گفت به احتمال زیاد سویه‌های تشخیص داده شده در محصولات پروبیوتیک متعلق به گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بوده‌اند. لازم به ذکر است که ایزوله‌هایی دارای قابلیت رشد در حضور صفرا، در همه فرآورده‌های پروبیوتیک مشاهده نشد، بلکه از ۱۴ نمونه محصولات پروبیوتیک، تنها ۵ نمونه دارای باکتری‌هایی با قابلیت رشد در حضور صفرا بودند که ۳۵ درصد کل محصولات پروبیوتیک را شامل می‌شود و کلیه ایزوله‌های جداسازی شده از ۹ محصول دیگر پروبیوتیک، فاقد توانایی رشد در محیط صفرا بودند. این یافته نشان می‌دهد که با وجود لاکتوباسیلوس‌ها در این محصولات، سوش‌های موجود از دسته کشت‌های آغازگر ماست بودند و به گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تعلق نداشتند. بر خلاف انتظار، برخی سویه‌های لاکتوباسیلوس ایزوله شده در فرآورده‌های لبنی غیر پروبیوتیک، ویژگی رشد در حضور صفرا را نشان دادند. در این میان، یک محصول که به طور مشخص ادعای حضور لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر روی برچسب تولیدش درج شده بود، فاقد باکتری با قابلیت زنده ماندن در حضور املاح صفراوی بود. این یافته بیانگر عدم حضور باکتری ذکر شده در محصول می‌باشد.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در بخش عمده‌ای از فرآورده‌های لبنی که با عنوان پروبیوتیک در بازار ایران عرضه می‌شود، میانگین شمارش لاکتوباسیلوس‌های واجد توانایی رشد در حضور صفرا، از حد استاندارد که حداقل یک میلیون باکتری در هر گرم از محصول است، پایین‌تر می‌باشد.

www.mui.ac.ir
Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲. مشخصات ایزوله‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک عرضه شده در بازار

گونه احتمالی	نوع باکتری پروبیوتیک ادعا شده بر روی برچسب محصول	توانایی رشد در حضور X-Gal	مشخصات کلنی		حدود جمعیت در هنگام جداسازی	ایزوله‌های انتخابی	محصول پروبیوتیک
			رنگ کلنی	شکل کلنی			
ماست لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	–	همگی منفی	همگی سبز کم‌رنگ	ستاره‌ای شکل صاف (۱۱ تا ۱۳) و محدب-گرد (۱۳ تا ۱۸)	10^{4} (۱۱)**، 10^{6} (۱۵ تا ۱۶) و بقیه 10^{5}	*y۱۱-y۱۸	دامداران پرچرب (y۱)
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	–	همگی منفی	سفید (۲۱ تا ۲۳) و سبز کم‌رنگ (۲۳ تا ۲۶)	محدب-گرد (۲۱ تا ۲۳) و ستاره‌ای شکل-صاف (۲۳ تا ۲۶)	10^{5} (۲۱ تا ۲۳) و 10^{6} (۲۳ تا ۲۶)	y۲۱-y۲۶	دامداران کم‌چرب (y۲)
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس		همگی منفی	سبز کم‌رنگ و مرکز سبز پررنگ (y۳۶ تا y۳۱۲)	محدب گرد (۳۲ تا ۳۴)، ستاره‌ای شکل-صاف (۳۵ تا ۳۶) و محدب با حاشیه نامنظم (۳۶ تا ۳۱۲)	10^{6} (۳۱ تا ۳۳ و ۳۱۱ و ۳۱۲)، 10^{5} (۳۴ تا ۳۸) و 10^{4} (۳۹ تا ۳۱۰)	y۳۱-y۳۱۲	پاژن (y۳)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-لاکتوباسیلوس بلگاریکوس		مثبت (۴۲-۴۴-۴۹)	سبز کم‌رنگ (بقیه) و سفید (۴۲)	محدب-گرد	10^{5} (۴۱)، 10^{6} (بقیه) و 10^{4} (۴۷ تا ۴۸)	y۴۱-y۴۶	کاله (y۴)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-لاکتوباسیلوس بلگاریکوس		مثبت (۶۳)	سبز کم‌رنگ	محدب-گرد	10^{5} (۶۱ تا ۶۳)، 10^{6} (۶۴ تا ۶۷)	۰ y۶۱-y۶۷	مانی‌ماس (y۵) رامک (y۶)
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	همگی منفی	سبز کم‌رنگ	محدب با حاشیه نامنظم	10^{5} (همگی)	y۷۱-y۷۶	فالیزان (y۷)
		شناسایی نشده	–	محدب-گرد (۸۱ تا ۸۲)، ستاره‌ای شکل (۸۳ تا ۸۶)	10^{5} (۸۱)، 10^{6} (۸۲ تا ۸۶)	y۸۱-y۸۶	پگاه (y۸)

www.mui.ac.ir
Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲. مشخصات ایزوله‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک عرضه شده در بازار (ادامه)

گونه احتمالی شکل کلنی	نوع باکتری پروبیوتیک ادعا شده بر روی برچسب محصول	توانایی رشد در حضور X-Gal	مشخصات کلنی: رنگ کلنی	مشخصات کلنی: شکل کلنی	حدود جمعیت در هنگام جداسازی	ایزوله‌های انتخابی	محصول پروبیوتیک
کفیر لاکتوباسیلوس بلگاریکوس		همگی منفی	سبز کم‌رنگ با مرکز سبز پررنگ	محدب (۱۱ تا ۱۴)، محدب-گرد (۱۴) و ستاره‌ای شکل-صاف (۱۴ تا ۱۸)	10^4 (همگی)	k۱۱-k۱۴	کاله (k۱)
		شناسایی نشده	-	محدب-گرد	10^4 (۲۱ تا ۲۳)، 10^5 (۲۴ تا ۲۵) و 10^6 (۲۶)	k۲۱-k۲۶	پاکبان (k۲)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-لاکتوباسیلوس بلگاریکوس پنیر		مثبت (۳۴ تا ۳۵)	سفید با مرکز سبز	ستاره‌ای شکل-صاف	10^6 (۳۱-۳۴-۳۵-۳۶) و 10^4 (۳۲ تا ۳۳)	k۳۱-k۳۶	کفیر پگاه (k۳)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-لاکتوباسیلوس بلگاریکوس		مثبت (۱۳-۱۵-۱۴)	سفید (۱۱۱-۱۲-۱۴)، سبز کمرنگ (۱۳ تا ۱۵) و سفید وسط سبز (۱۶ تا ۱۸)	ستاره‌ای شکل-صاف (۱۶ تا ۱۸) و محدب-گرد (بقیه)	10^5 (۱۱ تا ۱۳) و 10^6 (۱۴ تا ۱۸)	CH۱۱-CH۱۸	پنیر رامک (CH۱)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-لاکتوباسیلوس بلگاریکوس		مثبت(۲۳-۲۴-۲۷-۲۹-۲۱۰-۲۱۳-۲۱۴)	سفید (۲۱-۲۱۱-۲۱۲)، سبز کمرنگ وسط پررنگ (۲۲-۲۳-۲۴-۲۶-۷-۲۸-۲۱۳-۲۱۴)، سبز اطراف سفید (-۲۵) و سفید وسط سبز (۲۱۰-۲۹)	محدب با حاشیه نامنظم (۲۱-۲۳-۲۴-۲۵) و ستاره‌ای شکل-صاف (۲۲-۲۶-۲۷-۲۸-۲۹)		-CH۲۱۴ CH۲۱	پنیر پاک (CH۲)
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس		همگی منفی	سفید	محدب	10^4	CH۱۱-CH۱۶	پنیر پگاه (CH۳)

*حروف معرف اول اسم نمونه مورد نظر است و در این‌جا ماست نمونه اول می‌باشد که ۸ ایزوله از این محصول جداسازی و از ۱ تا ۸ نامگذاری شد. **اعداد داخل پرانتز دهگان در دو رقمی‌ها و صدگان در سه رقمی‌ها نشان دهنده شماره نمونه و اعداد بعدی شماره ایزوله جدا شده از آن نمونه می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳. مشخصات ایزوله‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده‌های لبنی غیر پروبیوتیک عرضه شده در بازار

گونه احتمالی	توانایی رشد در حضور بایل	مشخصات کلنی		حدود جمعیت در هنگام جداسازی	ایزوله‌های انتخابی	محصول غیر پروبیوتیک
		رنگ کلنی	شکل کلنی			
			ماست			
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس- لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	مثبت (۲۲ و ۲۸)	سبز کم‌رنگ (۲۱)، سفید با مرکز سبز (۲۲ تا ۲۴)	محدب با حاشیه نامنظم و ستاره‌ای شکل- صاف	۰ 10^6 (۲۱-۲۲)، 10^4 (۲۳) و 10^5 (۲۴ تا ۲۸)	۰ y۲۱-y۲۸	چوپان فالیزان
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس- لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	مثبت (۳۲)	سبز کم‌رنگ (۳۱)، سفید با مرکز سبز (۳۲) و سفید (۳۳)	محدب- گرد (۳۱ تا ۳۳) و محدب با حاشیه نامنظم (۳۲)	10^4 (۳۱)، 10^5 (۳۲) و 10^6 (۳۳)	y۳۱-y۳۳	سون کاله
			دوغ			
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس- لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	مثبت (۱۶-۱۷-۱۸)	سفید با مرکز سبز (۱۶ تا ۱۸) و سبز کم‌رنگ (۱۷)	محدب-گرد	10^4 (۱۱ تا ۱۵)، 10^5 (۱۶ تا ۱۸) و 10^6 (۱۷)	D۱-D۸ ۰	پگاه خزرشیر
			پنیر			
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس- لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	مثبت (۱۶)	سبز کم‌رنگ (۱۱ تا ۱۵) و سبز کم‌رنگ وسط پررنگ (۱۶)	محدب- گرد (۱۱ تا ۱۵) و ستاره‌ای شکل- صاف (۱۶)	10^5 (۱۱-۱۵) و 10^4 (۱۶)	CH۱۱-CH۱۶	پنیر خامه‌ای کاله
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	همگی منفی	سبز کم‌رنگ	محدب-گرد	10^4، 10^5 و 10^6	۰ CH۱۱-CH۱۳	پنیر خامه‌ای پگاه پنیر چوپان

Archive of SID

www.mui.ac.ir
www.SID.ir

در مطالعات مختلف دلایل متعددی برای این موضوع ذکر شده است که از آن جمله می‌توان به نوع و فعالیت کشت‌های آغازگر ماست، بر هم‌کنش سوش‌های مختلف پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک و محتوای ماده چرب محصول اشاره نمود. نتایج مطالعه Vinderola و همکاران در آرژانتین نشان داد که قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست‌های پرچرب نسبت به ماست‌های کم‌چرب، ضعیف‌تر است (۸). طاهری و همکاران در پژوهش خود به این نتیجه رسیدند که افزایش حضور باکتری‌های آغازگر ماست از ۲ به ۴ درصد، رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را افزایش می‌دهد، اما زمانی که درصد تلقیح آن‌ها از این حد بیشتر شود (۸ درصد)، افت ناگهانی در رشد باکتری‌های پروبیوتیک مشاهده می‌گردد (۹).

یکی از نتایج تحقیق حاضر، شمار جمعیت قابل توجهی از مخمر در محصولات پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک بود. آلودگی به مخمر در نمونه‌های ماست، می‌تواند یکی از دلیل کاهش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در آن‌ها باشد. جمعیت بالای مخمرهای لبنی در فرآورده‌های کفیر و پنیر امری طبیعی است؛ چرا که بخشی از کشت آغازگر این محصولات از مخمرها تأمین می‌شود، اما در مورد ماست و دوغ، آلودگی به مخمر به دلیل قابلیت تولید و تحمل اسیدیته بالا، با ایجاد پدیده بیش‌اسیدی یا پس‌اسیدی در ماست همراه است که نه تنها خواص حسی ماست را کاهش می‌دهد، بلکه زمینه کاهش جمعیت باکتری‌های زنده از جمله سوش‌های پروبیوتیک را فراهم می‌نماید. در مقابل، توانایی برخی از سویه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده‌های غیر پروبیوتیک برای رشد در حضور صفرا، می‌تواند نشان دهنده خالص نبودن کشت‌های آغازگر مورد استفاده در صنایع لبنی باشد. البته این موضوع تا حدودی در زمینه پنیر و کفیر قابل توجیه است؛ چرا که مخلوط کشت‌های آغازگر در این محصولات متنوع و متغیر است و لاکتوباسیلوس‌هایی با زیستگاه متنوع مانند لاکتوباسیلوس پلانتارم را می‌توان در مخلوط کشت‌های آغازگر آن‌ها تشخیص داد که چنین توانایی را داشته باشند؛ در صورتی که نمونه‌های ماست کشت‌های صنعتی، تنها از یک گونه لاکتوباسیلوس (لاکتوباسیلوس بولگاریکوس) تشکیل شده است و فاقد توانایی رشد در حضور صفرا می‌باشد و همین شاخص آن را از سویه تجاری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس متفاوت می‌سازد.

انحراف از میزان استاندارد تعداد باکتری‌های زنده در فرآورده‌های پروبیوتیک، موضوعی است که در مطالعات دیگر نیز به آن اشاره شده است. حیدرپور و مزدارانی با بررسی ۳۵ محصول ماست پروبیوتیک از بازار داخلی ایران و بدون اشاره به برند تجاری محصولات، نتیجه‌گیری کردند که در ۸ نمونه مورد بررسی، تعداد باکتری‌های موجود کمتر از میزان لازم مشاهده شد و بنابراین، فاقد شرط اولیه برای معرفی به عنوان محصول پروبیوتیک بودند. شرایط فرآوری و نگهداری محصول در مطالعه آن‌ها، عامل اصلی عدم کفایت لازم برای زنده ماندن باکتری‌های مورد نظر معرفی گردید (۲).

جعفرپور و همکاران پژوهشی را با هدف بررسی شمار باکتری‌های زنده در ماست پروبیوتیک در نقاط مختلفی از خط تولید و فرآوری آن انجام دادند و نتیجه گرفتند که بخشی از کاهش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک، در مرحله تولید و حتی پیش از رسیدن به مرحله توزیع صورت می‌گیرد (۱۰).

برخی مطالعات صورت گرفته در کشور، با تهیه آزمایشگاهی- کارگاهی فرآورده‌های پروبیوتیک لبنی، شرایط مؤثر بر کاهش سویه‌های لبنی پروبیوتیک را بررسی نمودند. در میان این تحقیقات می‌توان به مطالعه مرحمتی‌زاده و همکاران اشاره کرد که در زمینه تولید ماست پروبیوتیک بود. نتایج بررسی آن‌ها حاکی از وجود جمعیت زنده کافی طی ۲۰ روز نگهداری فرآورده‌های تولیدی در یخچال بود (۵). همچنین، طاهری و همکاران با استفاده از گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، دوغ پروبیوتیک تهیه کردند که از نظر جمعیت و بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، مطلوب ارزیابی شد (۱۱).

نتایج پژوهش احسانی و همکاران نشان داد که استفاده هم‌زمان باکتری‌های کشت آغازگر و سویه‌های پروبیوتیک، می‌تواند تهدیدی برای قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک باشد (۷). رفیعی مجد و علوی با بررسی بهینه‌سازی شرایط تخمیر شیر در تولید ماست پروبیوتیک با استفاده از گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، حفظ میزان بالایی از جمعیت میکروارگانیسم فوق را مغایر با توسعه عطر و طعم مناسب در ماست عنوان کردند (۱۲).

با این حال، به نظر نمی‌رسد که کمبود جمعیت باکتریایی زنده در محصولات مورد بررسی تحقیق حاضر، به دلیل استفاده جمعیت ناکافی از آن‌ها و با هدف حفظ خواص حسی محصول بین مصرف کنندگان سنتی باشد. شاید عواملی مانند نامناسب بودن شرایط عرضه و عدم یکنواختی کیفیت کشت‌های آغازگر مورد استفاده در کارخانجات، در نتایج مطالعه حاضر مؤثر بوده است. می‌توان گفت که از کلیه تحقیقات منتشر شده در کشور، تنها یک پژوهش به غیر از مطالعه حاضر، کیفیت فرآورده‌های پروبیوتیک تجاری موجود در بازار را مورد بررسی قرار داده است و در مقابل، تعداد زیادی از مطالعات در شرایط آزمایشگاهی- کارگاهی، مراحل تولید، بهینه‌سازی و معرفی شکل‌های مختلف محصول را ارزیابی نموده‌اند. بیشتر پژوهش‌های انجام شده در شرایط کنترل شده به موفقیت در تولید یا نگهداری محصولات تهیه شده اشاره کرده‌اند. اگرچه این خود گام مهمی در رواج محصولات سلامتی‌بخش در جامعه است، اما همچنان ابهامات زیادی در زمینه حفظ کیفیت آن‌ها و عوامل مؤثر در کاهش تعداد باکتری زنده و سوش‌های پروبیوتیک در سطح تجاری و سپس در سطح فروش وجود دارد.

در مطالعات بین‌المللی نیز مسأله کمیت و کیفیت لاکتوباسیلوس‌های موجود در محصولات پروبیوتیک، بخشی از مطالعات اخیر کنترل کیفیت فرآورده‌های لبنی را به خود اختصاص داده است.

نتایج تحقیق Dong و همکاران نشان داد که از ۳۲ محصول ماست پروبیوتیک، مقدار پروبیوتیک در ۱۲ محصول (۳۸/۷ درصد) پایین‌تر از حداقل استاندارد و در ۱۹ محصول (۶۱/۳ درصد) بالاتر از حداقل استاندارد بود. در مطالعه آن‌ها ۵۲ ایزوله جداسازی شد که ۳۷ ایزوله باسیل گرم مثبت و ۱۵ ایزوله کوکسی گرم مثبت بود (۱۳).

پژوهش Brink و همکاران در آفریقای جنوبی انجام شد و نتایج حاکی از آن بود که از پنج محصول تجاری مورد بررسی، سه محصول حد استاندارد را داشتند (۱۴). Elliot و Teversham پس از بررسی ۹ محصول پروبیوتیک (غیر لبنی)، گزارش کردند که شمارش و بررسی نوع باکتری تنها در ۳ محصول ذاذبا برچسب آن مطابقت داشت و سایر نمونه‌ها فاقد جمعیت زنده باکتری لازم بود و یا نوع سوش پروبیوتیک ادعا شده از سوی تولید کننده، با ایزوله‌های جداسازی شده از محصولات همخوانی نداشت (۱۵).

در مطالعه Temmerman و همکاران مشخص شد که از مجموع ۵۵ محصول پروبیوتیک شامل ۲۵ فرآورده لبنی و ۳۰ مکمل غذایی خشک شده، میانگین شمارش جمعیت باکتری زنده، 10^{9}-10^{5} واحد کلنی در گرم بود. با این

www.mui.ac.ir
Archive of SID
www.SID.ir

حال، شناسایی دقیق ایزوله‌ها در بررسی آنان نشان داد که ۴۰ درصد از محصولات با ادعای تولید کننده مغایرت داشت (۱۶). Hamilton-Miller و همکاران در پژوهش خود که با هدف بررسی ۵۲ محصول پروبیوتیک تجاری انجام شد، شاخص‌های مختلف از جمله قابلیت زیستی، نوع باکتری‌های موجود در محصول و ادعای تولید کنندگان بر روی برچسب تولید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آن‌ها حاکی از آن بود که از ۱۱ محصول ماست پروبیوتیک، تنها باکتری‌های شناسایی شده در دو محصول با برچسب مغایرت داشت (۱۷).

تحقیق Cruz و همکاران بر روی ماست‌های طعم‌دار پروبیوتیک موجود در بازار برزیل صورت گرفت و وجود باکتری بیفیدوباکتریوم انیمالیس ادعا شده بر روی برچسب و تعداد این باکتری بررسی و مشخص گردید که حدود ۸ واحد لگاریتمی در میلی‌لیتر جمعیت زنده این باکتری در محصولات آزمایشی وجود دارد که نشان دهنده کیفیت مناسب محصولات آزمایش شده می‌باشد. با این حال، در مطالعه آن‌ها نیز طی دوره یخچال‌گذاری، کاهش جمعیت اولیه مشاهده شد و علت آن، پدیده بیش‌اسیدی توسط کشت آغازگر ماست عنوان شد (۱۸).

مطالعه Coeuret و همکاران در فرانسه، با استفاده از شاخص‌های فنوتیپی و ژنوتیپی، تعداد و نوع گونه باکتریایی موجود در ۱۰ نوع محصول غذایی پروبیوتیک در بازار اروپا را مورد بررسی قرار داد و نتایج با برچسب اطلاعات مندرج بر روی محصولات مقایسه گردید. بر اساس نتایج مطالعه آن‌ها، شمارش باکتری زنده در پنج محصول با اطلاعات درج شده متفاوت بود و در چهار محصول، جمعیت سوش‌های باکتریایی پروبیوتیک موجود با استاندارد فرانسه مطابقت نداشت. در چهار محصول نیز ایزوله‌ها از نظر نوع گونه با گونه ادعا شده متفاوت بودند (۱۹).

Theunissen و همکاران در مطالعه دیگری با استفاده از روش‌های سنتی میکروبیولوژی و و روش‌های مولکولار، به شناسایی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در ماست‌های تجاری و دیگر محصولات غذایی پرداختند. در مطالعه آنان تنها ۵۴/۵ درصد از ماست‌های پروبیوتیک تجاری واجد برچسب حاوی اطلاعاتی از تعداد و یا نوع میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در محصول بودند. نکته قابل توجه در نتایج به دست آمده این بود که از نمونه‌های مواد غذایی که واجد چنین اطلاعاتی بودند، ایزوله‌های متفاوت دیگری شناسایی شد (۲۰).

در تحقیق Gueimonde و همکاران که در اسپانیا صورت گرفت، بررسی ۱۰ محصول تخمیری مورد مطالعه نشان داد که میانگین جمعیت لاکتوباسیلوس در محصولات حدود 10^5 واحد لگاریتمی در میلی‌لیتر بوده است. در تحقیق آن‌ها چهار محصول از ۱۰ محصول بررسی شده شرایط مطلوبی داشتند. با این حال، از نظر بررسی نوع گونه پروبیوتیک مصرف شده در کلیه محصولات مورد مطالعه، مشخص گردید که ایزوله‌ها با گونه اعلام شده بر روی برچسب محصول تجاری مطابقت کامل داشتند (۲۱).

در بیشتر مطالعات انجام شده در این زمینه، به اطلاعات ارایه شده بر روی برچسب محصول از نظر تعداد و نوع باکتری و همخوانی آن با شرایط محصول توجه شده است. در تحقیق حاضر مشخص شد که نه تنها این اطلاعات در ۳۱/۵۷ درصد از محصولات پروبیوتیک موجود در بازار با شرایط محصول همخوانی ندارد، بلکه این اطلاعات در مورد بخشی از نمونه‌ها عرضه نشده است. این موضوع بر خلاف تدوین استاندارد محصولات پروبیوتیک در ایران، لزوم نظارت بیشتر بر اجرای این استاندارد را طلب می‌کند.

به نظر می‌رسد که در مورد نمونه‌های ماست پروبیوتیک، از این نظر به کنترل و نظارت بیشتری نیاز است؛ به طوری که با وجود تنوع و تعداد بیشتر آن‌ها در بررسی حاضر، از ۷۵ درصد آن‌ها تنها باکتری کشت آغازگر بازیابی شد و در ۲۵ درصد هیچ گونه ایزوله‌ای با قابلیت رشد در حضور املاح صفراوی مشاهده نگردید.

وجود سویه‌های پروبیوتیک در فرآورده‌های غذایی حاوی آن‌ها به دلیل توانایی تحمل شرایط دستگاه گوارش، این دسته از مواد غذایی را خاص می‌سازد. با این حال، نباید از نظر دور داشت که بسیاری از خواص مفید نسبت داده شده به این سویه‌ها، در کشت‌های آغازگر لبنی نیز مشاهده شده است. از این‌رو، می‌توان گفت که وجود جمعیت کافی از این میکروارگانسیم در فرآورده‌های تخمیری، می‌تواند شاخصی جهت فعالیت زیستی بیشتر چنین محصولاتی باشد. به همین دلیل، حضور این گونه در هر دو نوع محصول پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعات پیشین نشان داده‌اند که لاکتوباسیلوس بولگاریکوس به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی خود، به رشد و فعالیت سویه‌های پروبیوتیک کمک می‌کند (۸).

در تحقیق حاضر، تعداد نمونه‌های پنیر کمتری نسبت به نمونه‌های ماست مورد بررسی قرار گرفت. این موضوع از تنوع و فراوانی کمتر پنیر پروبیوتیک در بازار ناشی می‌شد. با این حال، به نظر می‌رسد که جمعیت باکتری‌هایی با قابلیت رشد در حضور صفرا، در نمونه‌های پنیر پروبیوتیک بیشتر از نمونه‌های پنیر ساده در بازار می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در میان انبوه مطالعات صورت گرفته در کشور در زمینه تولید، بهینه‌سازی و معرفی محصولات مختلف پروبیوتیک، تعداد پژوهش‌های کنترل کیفی محصولات موجود در بازار بسیار اندک است و تنها یک تحقیق به غیر از مطالعه حاضر در این رابطه منتشر شده است. بخش قابل توجهی از محصولات موجود در بازار به دلایل متعدد با استاندارد فرآورده‌های لبنی پروبوتیک مطابقت ندارند.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد هاجر رضایی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران می‌باشد. بدین وسیله از مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به جهت همکاری در انجام پژوهش، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Taj Abadi Ebrahimi M, Hejaazi MA, Jafari P. Selective screening of potential probiotic lactobacilli in traditional fermentative dairies. Journal of Animal Physiology and Development 2009; 1(2): 41-7. [In Persian].
2. Heidarpor M, Mazdarani S. Probiotic safety assessment Proceedings of the 1st National Food Security Seminar; 2011 May 18-19; Savadkhoh, Iran. [In Persian].

www.mui.ac.ir
Archive of SID
www.SID.ir

3. Tajabady M, Hejazi MA, Nohi AS. Study on probiotic properties of lactobacillus isolated from traditional dairy products of Lighvan. Quarterly Journal of Science (Kharazmi University): 2007; 7(3-4): 941-52. [In Persian].
4. Yeganehzad S, Mazaheri Tehrani M, Shahidi F, Zayerzadeh E. Study on the effect of soymilk on survival of lactobacillus acidophilus, physicochemical and organoleptical properties of probiotic yoghurt. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 2009; 16(1): 165-73. [In Persian].
5. Marhamatizadeh MH, Rezazadeh S, Najafzadeh N, Shahbazi A. Studying on survival lactobacillus acidophilus and bifidobacterium bifidum microbes and count them in probiotical milk and yoghurt. Veterinary Research (Garmsar Branch) 2009; 5(1): 47-51. [In Persian].
6. Mohseni M, Ehsani MR, Mohammadi Sani A. Effect of some prebiotics on survival of bb12 and la5 in nonfermented pasteurized milk. Journal of Food Science and Technology 2010; 2(1): 29-34. [In Persian].
7. Ehsani A, Mahmodi R, Tukmehchi A, Pazhuheshi M. Iranian white cheese as a food carrier for probiotic bacteria. Journal of Nutrition Sciences and Food Technology 2011; 8(3): 77-83. [In Persian].
8. Vinderola CG, Bailo N, Reinheimer JA. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. Food Res Int 2000; 33(2): 97-102.
9. Taheri P, Ehsani M, Khosravi-Darani K, Razavi H. Effect of milk composition, incubation temperature, and percent of inoculum on growth of lactobacillus acidophilus la-5 in probiotic yogurt. Iran J Nutr Sci Food Technol 2008; 3(1): 1-10. [In Persian].
10. Jafarpor F, Homaioni-Rad A, Javadi M. Enumeration of bacteria living in Commercial probiotic yogurt. Proceedings of the 1st National Conference of Probiotic and Functiona; 2010 Apr. 21-22; Tehran, Iran. [In Persian].
11. Taheri P, Ehsani M, Khosravi-Darani K. Effects of Lactobacillus acidophilus La-5 on microbiological characteristics, sensory attributes and phase separation of Iranian Doogh drink during refrigerated storage. Iran J Nutr Sci Food Technol 2009; 4(3): 15-24. [In Persian].
12. Rafiee Majd M, Alavi SA. Optimization of conditions for milk fermentation in production of probiotic yogurt by lactobacillus acidophilus. J Food Technol Nutr 2012; 9(1): 15-22. [In Persian].
13. Dong Y, Li F, Cui S, Yu H. Isolation and identification of probiotics from yoghourt in Beijing. Wei Sheng Yan Jiu 2010; 39(5): 552-5.
14. Brink M, Senekal M, Dicks LM. Market and product assessment of probiotic/prebiotic-containing functional foods and supplements manufactured in South Africa. S Afr Med J 2005; 95(2): 114-9.
15. Elliot E, Teversham K. An evaluation of nine probiotics available in South Africa, August 2003. S Afr Med J 2004; 94(2): 121-4.
16. Temmerman R, Pot B, Huys G, Swings J. Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. Int J Food Microbiol 2003; 81(1): 1-10.
17. Hamilton-Miller JM, Shah S, Winkler JT. Public health issues arising from microbiological and labelling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. Public Health Nutr 1999; 2(2): 223-9.
18. Cruz AG, Walter EHM, Cadena RS, Faria JAF, Bolini HMA, Pinheiro HP, et al. Survival analysis methodology to predict the shelf-life of probiotic flavored yogurt. Food Res Int 2010; 43(5): 1444-8.
19. Coeuret V, Gueguen M, Vernoux JP. Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products. Int J Food Microbiol 2004; 97(2): 147-56.
20. Theunissen J, Britz TJ, Torriani S, Witthuhn RC. Identification of probiotic microorganisms in South African products using PCR-based DGGE analysis. Int J Food Microbiol 2005; 98(1): 11-21.
21. Gueimonde M, Delgado S, Mayo B, Ruas-Madiedo P, Margolles A, de los Reyes-Gavilan C. Viability and diversity of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium populations included in commercial fermented milks. Food Res Int 2004; 37(9): 839-50.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Health System Research
Vol. 13, No. 2, Summer 2017
Received: 03.09.2014
Accepted: 13.03.2017

An Evaluation of the Lactobacillus Population and Presence of Lactobacillus Acidophilus in Probiotic and Non-Probiotic Dairy Products Marketed in Isfahan, Iran

Hajar Rezaei[1], Hosein Fazeli[2], Maryam Mirlohi[3]

Original Article

Abstract

Background: The present study aimed to evaluate the quality control of probiotic products marketed in retails in Isfahan, Iran, in terms of the number of viable lactobacillus count in comparison to non-probiotic dairy product. In addition, the isolated strains were studied in terms of the manufacturers' claim of using lactobacillus acidophilus.

Methods: Probiotic products (n = 14) and non-probiotic products (n = 8) of commercial dairy brands were sampled from Isfahan market. Serial dilutions were made using normal saline, and surface plate count agar was carried out by inoculation of 100 µl of concentrations on the MRS (de-Man, Rogosa, and Sharpe) plates containing cysteine hydrochloride. After incubation and counting of colonies, 6 colonies with different morphological characteristic were sampled and purified from each plate. Double purification step was performed for the selected isolates in the MRS culture media with bromocresol green and cysteine hydrochloride. To separate probiotic and non-probiotic strains, growth test against X-Gal was used.

Findings: Among the probiotic products, the average number of lactobacilli in yoghurt, kefir, and cheese was counted as 5.7 Log CFU, 6.32 Log CFU, and 6.27 Log CFU, respectively. Among non-probiotic products, an average lactobacillus population of 5.22 Log CFU, 3.6 Log CFU, and 3.62 Log CFU was found in yoghurt, doogh, and cheese, respectively. Only 5 probiotic labeled dairy products out of 14 tested samples (35%) were shown to contain the lactobacilli isolates capable of growth under bile containing MRS.

Conclusion: In conclusion, although the average count of viable lactobacilli in commercial probiotic products appeared to be slightly higher than that of non-probiotic dairy products, yet, this index differs greatly from the standards in the majority of the products offered in the market as probiotic foods. Particularly, commercial probiotic yogurts were shown to have lower L. acidophilus count than the standard level.

Keywords: Lactobacillus, Probiotic, Bacterial counts

Citation: Rezaei H, Fazeli H, Milohi M. **An Evaluation of the Lactobacillus Population and Presence of Lactobacillus Acidophilus in Probiotic and Non-Probiotic Dairy Products Marketed in Isfahan, Iran.** J Health Syst Res 2017; 13(2): 187-97.

1- Department of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Professor, Food Security Research Center AND Department of Food Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Maryam Mirlohi, Email: m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir