

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

هاجر رضایی<sup>۱</sup>، حسین فاضلی<sup>۲</sup>، مریم میرلوحی<sup>۳</sup>

### 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 جدال 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 Rogosa and Sharpe (MRS de Man, Rogosa and Sharpe) حاوی سیستین هیدروکلراید تلقیح شد. پس از گرم‌خانه‌گذاری و شمارش کلکن، از هر نمونه کشت، شیش کلکن با خصوصیات مورفو‌لوژیک متفاوت جداسازی شد. ایزوله‌ها در محیط MRS حاوی برموکرزول و سیستین 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 کلی 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، ۳/۶۲ و ۳/۶۰ لگاریتم واحد کلی در گرم شمارش شد. از ۱۴ محصول پروبیوتیک، ۵ نمونه (۳۵ درصد) واجد باکتری‌هایی با قابلیت رشد در حضور صفراء بودند.

**نتیجه‌گیری:** اگرچه میانگین جمعیت لاکتوباسیلوس زنده در فرآورده‌های پروبیوتیک لبنی نسبت به انواع غیر لبنی بیشتر است، اما این شاخص در بخش عمدات 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 صفراء، از حداقل تعیین شده در قوانین پایین تر می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** لاکتوباسیلوس، پروبیوتیک، شمارش میکروبی

**رجایع:** 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: ۱۹۷-۱۸۷ (۲).

پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۱۲/۲۳

دربافت مقاله: ۱۳۹۳/۵/۱۲

مهم‌ترین محصولاتی هستند که تولید آن‌ها به شکل پروبیوتیک متدالو است؛ به طوری که اشکال مختلف این فرآورده‌های پروبیوتیک، بخش مهمی از بازار این گونه محصولات را به خود اختصاص داده است (۳). نتایج مطالعات نشان داده است که فرآورده‌های لبنی حامل مناسبی از نظر حفظ تعداد میکروگانیسم‌های پروبیوتیک هستند. شرایط تهیه‌داری بخچالی 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 ساخته تاریخی مصرف و نقش آن‌ها در سلامتی، همواره با نگرش مشتی از طرف جامعه روبه‌رو بوده‌اند و افزودن سویه‌های مفید پروبیوتیک به این دسته از محصولات، به خوبی قابل توجیه است (۴، ۵).

### مقدمه

غذاي پروبیوتیک، به غذایي 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 برستند و منشأ آثار مفیدی در سلامتی میزانشوند. این تعداد از باکتری باید از زمان تولید تا تاریخ انقضای محصول و در كل دوره نگهداری آن حفظ گردد. جهت نیل به این هدف، میکروگانیسم 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 غذایی تهیه شده با عنوان پروبیوتیک، بررسی جمعیت باکتری از اصول اولیه به شمار می‌رود (۲، ۱)، فرآورده‌های لبنی

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

## روش‌ها

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

۱۴ نمونه لبنی تخمیری با برچسب پروپویوتک شامل ۸ نمونه ماست، ۳ نمونه کفیر و ۳ نمونه پنیر پروپویوتک و ۸ نمونه لبنی تخمیری غیر پروپویوتک شامل ۳ نمونه ماست، ۲ نمونه دوغ و ۳ نمونه پنیر غیر پروپویوتک 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  $10^4$  و  $10^5$  جدا شد. کشت میکروبی به شکل سطحی بر روی محیط آگاردار (MRS de Man, Rogosa and Sharpe آلمان) حاوی ۰/۵ درصد سیستئین هیدروکلراید انجام گرفت. پلیت‌های کشت شده در دمای ۳۷ درجه سانتگراد گرم‌گاهنگذاری گردید و پس از ۷۲ ساعت، شمارش صورت گرفت. از پلیت‌های حاوی حدود ۲۵۰ تا ۲۵۰ کلنجی باکتریایی، شش کلنجی با خصوصیات مورفو‌لوژی متفاوت نمونه‌برداری و هر یک از جدایه‌ها بر روی محیط کشت MRS حاوی  $10^4$ - $10^5$  گرم بر لیتر برمومکروزول گرین و  $10^4$ - $10^5$  گرم بر لیتر سیستئین هیدروکلراید حداقل دو بار خالص‌سازی گردید. خصوصیات مورفو‌لوژی کلنجی و سلولی هر یک از کشت‌های خالص شده و آزمایش‌های گرم و کاتالاز در مورد هر جدایه انجام گرفت. جهت تفرقه سویه‌های پروپویوتک از غیر پروپویوتک، از آزمایش رشد در برابر  $10^4$ - $10^5$  درصد X-Gal (Sigma آمریکا) استفاده شد.

## یافته‌ها

شمارش جمعیت باکتری زنده بر محیط کشت MRS، شمارش لاکتوباسیلوس زنده و شمارش مخر رشد بر همان محیط در محصولات پروپویوتک و غیر پروپویوتک در جدول ۱ ارایه شده است. در مورد محصولات پروپویوتک، میانگین شمارش جمعیت باکتریایی در محیط MRS در ماست، کفیر و پنیر به ترتیب  $5.92 \times 10^6$  و  $5.96 \times 10^5$  لگاریتم واحد کلنجی در هر گرم از محصول بود. در یک نمونه ماست پروپویوتک (y5)، هیچ گونه جمعیت زنده باکتریایی مشاهده نشد. بدون اختساب نمونه اخیر، میانگین کلی جمعیت زنده باکتریایی شمارش شده در محیط MRS در مورد نمونه‌های ماست، به  $6.46 \times 10^6$  لگاریتم واحد کلنجی در هر گرم از محصول افزایش پیدا کرد. شمارش پلیت‌های کشت شده از محصولات غیر پروپویوتک نشان داد که جمیت زنده کل در این دسته از محصولات در مورد ماست، دوغ و پنیر به ترتیب  $5.51 \times 10^5$  و  $5.88 \times 10^5$  و  $3.72 \times 10^5$  لگاریتم واحد کلنجی 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.

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

در ایران نیز در چند سال اخیر شرکت‌های تولید فرآورده‌های لبنی، انواعی از محصولات پروپویوتک 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 پروپویوتک‌ها، توصیه جامعه پزشکی و پیراپزشکی به مراجعان جهت مصرف این محصولات امری طبیعی است. پیامد این تغییرات، روز آوردن کارخانه‌های بیشتر جهت تولید محصولات پروپویوتک می‌باشد. استاندارد ملی این محصولات نیز توسعه معاونت غذا و داروی وزارت PEI/Cr V ۱۰۰۴۲ به شماره استاندارد، درمان و آموزش پزشکی، تحت عنوان حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده‌های شیری پروپویوتک در سال ۱۳۸۷ تدوین شد. بر اساس این استاندارد، مهمنموده اصل کنترل کیفیت محصول پروپویوتک، وجود جمیت زنده‌ای حداقل برابر  $10^4$ - $10^5$  واحد کلنجی در هر گرم از یک سویه باکتریایی مشخص جهت ایجاد فواید محصولات پروپویوتک 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 بیفیدو باکتریوم، متداول‌ترین باکتری پروپویوتک 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 صفرایی تعیین شده است (۱). گسترش روزافرون فرآورده‌های پروپویوتک 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 پروپویوتک در مورد این محصولات منحصر گدد. 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 تعیین نمی‌کنند. هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی کنترل کیفی محصولات پروپویوتک عرضه شده در بازار ایران از نظر تعداد لاکتوباسیلوس زنده و مقایسه آن با محصولات غیر پروپویوتک بود. علاوه بر این، سویه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده‌های پروپویوتک، از نظر ادعای تولید کنندگان مبنی بر استفاده از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مورد بررسی قرار گرفت.

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

نام محصول	محصولات پروپیوتیک					محصولات غیر پروپیوتیک					ماستها
	شمارش کلی بر محیط MRS (کاریتم واحد کلی در میلی لیتر)	شمارش لاكتوباسیلوس (کاریتم واحد کلی)	شمارش مخمر (کاریتم واحد کلی)	شمارش لاكتوباسیلوس (کاریتم واحد کلی)	تعداد باکتری زنده ادعای شده بر برچسب محصول (کاریتم واحد کلی در میلی لیتر)	نام محصول	شمارش MRS (کاریتم واحد کلی)	شمارش محیط لاكتوباسیلوس (کاریتم واحد کلی)	شمارش مخمر لاكتوباسیلوس (کاریتم واحد کلی)		
دامداران پرچرب (y1) <sup>۱</sup>	۴۶/۶۰	۴۸/۶۰	۵/۸۳	۱۰ <sup>۶</sup>	چوپان (y1)	/	/	/	/	/	
دامداران پرچرب (y1) <sup>۲</sup>	۷/۸۴	۶/۶۵	۷/۸۰	۱۰ <sup>۶</sup>	فالیزان (y2)	۶/۷۶	۶/۷۶	۶/۷۶	۶/۷۶	۰	
دامداران کمچرب (y2) <sup>۱</sup>	۷/۲۲	۷/۱۵	۷/۱۹	۱۰ <sup>۶</sup>	سون کاله (y3) <sup>۱</sup>	۸/۴۹	۸/۴۷	۸/۴۷	۸/۴۷	۷/۲۰	
دامداران کمچرب (y2) <sup>۲</sup>	۶/۷۰	۶/۳۳	۶/۴۴	۱۰ <sup>۶</sup>	سون کاله (y3) <sup>۲</sup>	۶/۸۳	۵/۶۵	۶/۷۷	۶/۷۷		
رامک (y6)	۵/۹۲	۵/۸۰	۵/۴۷	-							
فالیزان (y7)	۵/۷۱	۵/۷۱	.	-							
پگاه (y8)	۶/۳۹	۶/۳۳	.	-							
		کفیرها								دوغها	
کاله (k1) <sup>۱</sup>	۶/۸۱	۶/۵۷	۷/۳۴	-	پگاه (D1) <sup>۱</sup>	۶/۲۴	۴/۰۲	۶/۱۳	۶/۱۳		
کاله (k1) <sup>۲</sup>	۶/۳۹	۶/۰۱	۶/۱۴	-	پگاه (D1) <sup>۲</sup>	۷/۳۱	۶/۹۷	۷/۰۵	۷/۰۵		
پاکبان (k2)	۵/۹۳	۶/۳۹	۵/۴۴	-	خزرشیر (D1)	۴/۰۰	.	.	.	۴	
کفیر پگاه (k3)	۶/۴۲	۶/۳۳	۵/۴۴	-							
		پنیر پروپیوتیک								پنیر غیر پروپیوتیک	
پنیر رامک (CH1)	۶/۸۳	۶/۸۳	.	-	پنیر خامه‌ای کاله (CH1) <sup>۱</sup>	۶/۱۹	۶/۱۹	۶/۱۹	۶/۱۹	.	
پنیر پاک (CH2)	۶/۱۹	۶/۱۹	.	-	پنیر خامه‌ای کاله (CH1) <sup>۲</sup>	۶/۲۷	۶/۰۸	۵/۶۳	۵/۶۳		
پنیر پگاه (CH2)	۵/۴۷	۵/۸۰	۵/۱۱	-	پنیر خامه‌ای پگاه (CH2) <sup>۱</sup>	.	.	.	.		
					پنیر خامه‌ای پگاه (CH2) <sup>۲</sup>	.	.	.	.		
					پنیر چوپان (CH3)	۶/۱۷	۵/۸۴	۵/۸۸	۵/۸۸		

MRS: de Man, Rogosa and Sharpe

کمترین جمعیت زنده لاکتوپاسیلوس به ترتیب به محصولات شرکت پگاه (D۱) و شرکت خزرشیر (D۲) معادل ۷/۳۱ و ۴۰/۶ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول اختصاص داشت و در محصول پنیر غیر پروپویوتیک نیز بیشترین شمارش جمعیت زنده لاکتوپاسیلوس مربوط به پنیر خامه‌ای کاله (CH۱) با ۶/۱۹ لگاریتم واحد کلندی 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 بار نمونه‌گیری از دو سریال متفاوت، تولید هیچ‌گونه رشد لاکتوپاسلوس زنده مشاهده نشد.

در جداول ۲ و ۳ مشخصات ایزوله‌های لاکتوپاسیلوس جدا شده در مطالعه حاضر از نظر جمیعت اولیه، ریخت‌شناسی کلندی، شدت تولید اسید، قابلیت رشد در حضور صفترا و گونه احتمالی به ترتیب در دو گروه فرآورده‌های لبنی پروپویوتیک و غیر پروپویوتیک نشان داده شده است.

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

از ۹۳ ایزوله لاکتوپاسیلوس جدا شده از کل محصولات لبنی مورد آزمایش، ۲۰ نمونه قابلیت رشد در حضور املاح صفاروی (۰/۳ درصد) را نشان داد. بنابراین، ۳۳ درصد از کل ایزوله‌ها قابلیت رشد در حضور صفترا را داشتند. با توجه به شباخت ریخت‌شناسی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس با باکتری کشت آغازگر ماست و توجه به ذکر بعضی از برندها به استفاده از لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس به عنوان باکتری پروپویوتیک، می‌توان گفت به احتمال زیاد سویه‌های تشخیص داده شده در محصولات پروپویوتیک متعلق به گونه لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس بوده‌اند. لازم به ذکر است که ایزوله‌هایی دارای قابلیت رشد در حضور صفترا، در همه فرآورده‌های پروپویوتیک ماست مشاهده نشد، بلکه از ۱۴ نمونه محصولات پروپویوتیک، تنها ۵ نمونه دارای باکتری‌هایی با قابلیت رشد در حضور صفترا بودند که ۲۵ درصد کل محصولات دیگر پروپویوتیک را شامل می‌شود و کلیه ایزوله‌های جداسازی شده از ۹ مخصوص دارد. فاقد توانایی رشد در محیط صفترا بودند. این یافته نشان می‌دهد که با وجود لاکتوپاسیلوس‌ها در این محصولات، سویه‌های موجود از دسته کشت‌های آغازگر ماست بودند و به گونه لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس تعلق نداشتند. برخلاف انتظار، برخی سویه‌های لاکتوپاسیلوس ایزوله شده در فرآورده‌های لبنی غیر پروپویوتیک، ویژگی رشد در حضور صفترا نشان دادند. در این میان، یک محصول که به طور مشخص ادعای حضور لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس بر روی برچسب تولیدش درج شده بود، فاقد باکتری با قابلیت زنده ماندن در حضور املاح صفاروی 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 پروپویوتیک در بازار ایران عرضه می‌شود، میانگین شمارش لاکتوپاسیلوس‌های واحد توانایی رشد در حضور صفترا، از حد استاندارد که حداقل یک میلیون باکتری در هر گرم از محصول است، پایین‌تر می‌باشد.

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

با بررسی جدآگانه کلندی‌های رشد کرده در محیط MRS، مشخص شد که جمعیت زنده لاکتوپاسیلوس بود گروه اصلی مخمرا و لاکتوپاسیلوس بود. از این‌رو، با بررسی کلندی‌های موجود، شمارش مخمرا و لاکتوپاسیلوس به طور جدآگانه در جدول ۱ گزارش گردید. بدین ترتیب در محصولات پروپویوتیک، جمعیت لاکتوپاسیلوس در ماست، کفیر و پنیر به ترتیب ۶/۳۲، ۵/۷۰ و ۶/۲۷ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول به دست آمد. بدون در نظر گرفتن یک برنده ماست پروپویوتیک که فاقد هر گونه باکتری زنده بود، میانگین جمعیت لاکتوپاسیلوس در ماست‌های پروپویوتیک، ۶/۲۱ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول مشاهده شد.

میانگین شمارش کلندی‌های مخمرا در کل نمونه‌های مورد آزمایش در این محصولات در مورد ماست، کفیر و پنیر به ترتیب ۶/۰۶، ۲/۲۲ و ۱/۷۰ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول به دست آمد. نتایج حاکی از آن بود که حضور مخمرا در کفیر نسبت به محصولات دیگر بسیار بالا می‌باشد و میانگین لاکتوپاسیلوس موجود در کفیر نسبت برابری داشت.

در مورد محصولات غیر پروپویوتیک نیز مشخص شد که علاوه بر لاکتوپاسیلوس‌ها، جمیعت قابل توجهی از مخمرا در پلیت‌های MRS رشد کردند. میانگین جمعیت لاکتوپاسیلوس در کل نمونه‌های مورد بررسی ماست، دوغ و پنیر به ترتیب ۵/۲۲ و ۳/۶۰ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول و میانگین شمارش جمعیت مخمرا رشد کرده در کل نمونه‌ها به ترتیب ۵/۷۲، ۳/۴۹ و ۲/۳۰ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول به دست آمد. بدون احتساب یک نمونه پنیر و یک نمونه ماست که هیچ‌گونه رشدی از سویه‌های لاکتوپاسیلوس در آن‌ها مشاهده نشد، میانگین تعداد لاکتوپاسیلوس زنده در نمونه‌های ماست ۶/۹۶ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول در نمونه‌های پنیر نیز ۶/۰۳ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول محاسبه گردید. در میان نمونه‌های ماست پروپویوتیک مورد بررسی، در دو بار تکرار جدآگانه آزمایش، بالاترین شمارش جمعیت لاکتوپاسیلوس مربوط به محصول دامداران پرچرب (y۱) با میانگین ۷/۸۴ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول و کمترین شمارش مربوط به مانی‌ماس (y۵) معادل ۶/۸۵ لگاریتم واحد کفیر نیز محصول شرکت کاله (K۱) با میانگین شمارش ۶/۸۵ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم، بیشترین جمعیت لاکتوپاسیلوس و کفیر پاکبان (K۲) با میانگین شمارش ۵/۹۳ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم، کمترین جمعیت لاکتوپاسیلوس را به خود اختصاص داد.

در میان نمونه‌های پنیر پروپویوتیک، بیشترین شمارش لاکتوپاسیلوس 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 کلندی در هر گرم از محصول بود.

در محصولات غیر پروپویوتیک، بالاترین جمعیت لاکتوپاسیلوس زنده در محصول شرکت کاله و در ماست سون کاله (K۳) با میانگین ۸/۴۹ لگاریتم واحد کلندی در هر گرم از محصول و کمترین جمعیت نیز در محصول شرکت چوبان (y۱) معادل صفر مشاهده گردید. یافته‌ها در ارزیابی نمونه‌های دوغ غیر پروپویوتیک نشان داد که بیشترین و

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

محصول پروبیوتیک	ایزوله‌های انتخابی	حدود جمعیت در هنجام جداسازی	مشخصات کلی			توانایی رشد در حضور X-Gal	نوع باکتری پروبیوتیک ادعای شده بر روی برچسب محصول	گونه احتمالی
			شكل کلی	رنگ کلی				
دامداران پرچرب (y1)	y <sup>*</sup> ۱۱-۱۸	۱۵ (۱۰ <sup>۴</sup> , ۱۰ <sup>۶</sup> , ۱۰ <sup>۸</sup> )	ستاره‌ای شکل صاف (۱۱ تا ۱۳) و تاء (۱۶) و بقیه ۱۰ <sup>۵</sup>	همگی سبز کمرنگ	همگی منفی	-	لاکتوباسیلوس	ماست
دامداران کمچرب (y2)	y <sup>*</sup> ۲۱-۲۶	۱۰ <sup>۵</sup>	محدب-گرد (۲۱ تا ۲۳) و شکل-صف (۲۲ تا ۲۶)	محدب-گرد (۲۱ تا ۲۳) و سبز کمرنگ	همگی منفی	-	بلگاریکوس	بلگاریکوس
پاژن (y3)	y <sup>*</sup> ۳۱-۳۱۲	۱۰ <sup>۶</sup> (۱۰ <sup>۴</sup> , ۱۰ <sup>۵</sup> , ۱۰ <sup>۶</sup> , ۱۰ <sup>۷</sup> , ۱۰ <sup>۸</sup> )	محدب گرد (۳۲ تا ۳۴)، ستاره‌ای شکل-صف (۳۵ تا ۳۶) و محدب با حاشیه نامنظم (۳۶ تا ۳۸)	سبز کمرنگ و مرکز سبز پررنگ	همگی منفی	-	لاکتوباسیلوس	لاکتوباسیلوس
کاله (y4)	y <sup>*</sup> ۴۱-۴۶	۱۰ <sup>۵</sup> (۱۰ <sup>۴</sup> , ۱۰ <sup>۵</sup> , ۱۰ <sup>۶</sup> , ۱۰ <sup>۷</sup> , ۱۰ <sup>۸</sup> )	محدب-گرد	سبز کمرنگ (بقیه) و سفید (۴۲)	ثبت (۴۹-۴۴-۴۲)	-	اسیدوفیلوس-	لاکتوباسیلوس
ماتی ماس (y5)	.	.	.	.	.	ثبت (۶۲)	لاکتوباسیلوس	بلگاریکوس
رامک (y6)	y <sup>*</sup> ۶۱-۶۷	۱۰ <sup>۵</sup> (۶۱ تا ۶۳, ۶۴ تا ۶۷)	محدب-گرد	سبز کمرنگ	ثبت (۶۲)	-	اسیدوفیلوس-	لاکتوباسیلوس
فالیزان (y7)	y <sup>*</sup> ۷۱-۷۶	۱۰ <sup>۵</sup> (همگی)	محدب با حاشیه نامنظم	سبز کمرنگ	همگی منفی	-	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	بلگاریکوس
پگاه (y8)	y <sup>*</sup> ۸۱-۸۶	۱۰ <sup>۵</sup> (۸۱ تا ۸۲, ۸۱ تا ۸۳)	محدب-گرد (۸۱ تا ۸۲)، ستاره‌ای شکل (۸۲ تا ۸۳)	-	شناسایی نشده	-	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	بلگاریکوس

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

کوئه احتمالی محصول پروبیوتیک	ایزوله‌های انتخابی	حدود جمعیت در هنگام جداسازی	مشخصات کلنی		توانایی رشد در حضور X-Gal	نوع باکتری پروبیوتیک ادعای شده بر روی برچسب محصول	کفیر لاکتوباسیلوس بلگاریکوس
			شکل کلنی	رنگ کلنی			
کاله (k۱)	k۱۱-k۱۴	۱۰ <sup>۴</sup> (همگی)	محدب (۱۱ تا ۱۴)، محدب-گرد (۱۴ تا ۱۸) و ستاره‌ای شکل-صفاف (۱۴ تا ۱۸)	سبز کمرنگ با مرکز سبز پررنگ	همگی منفی		
پاکبان (k۲)	k۲۱-k۲۶	۱۰ <sup>۴</sup> (۲۱ تا ۲۳)، ۱۰ <sup>۵</sup> (۲۴ تا ۲۵) و ۱۰ <sup>۶</sup> (۲۶)	محدب-گرد	-	شناسایی نشده		
کفیر پگاه (k۳)	k۳۱-k۳۶	-۳۵-۳۴-۳۱ (۱۰ <sup>۶</sup> و ۱۰ <sup>۷</sup> تا ۲۲) و ۱۰ <sup>۶</sup> (۳۳)	ستاره‌ای شکل-صفاف	سفید با مرکز سبز	ثبت (۳۵ تا ۳۴)		
(CH۱) پنیر رامک (CH۱)	CH۱۱-CH۱۸	۱۰ <sup>۵</sup> (۱۱ تا ۱۳) و ۱۰ <sup>۶</sup> (۱۴ تا ۱۸)	ستاره‌ای شکل-صفاف (۱۶ تا ۱۸) و محدب-گرد (بقیه)	سفید (۱۱-۱۲-۱۳)، سبز کمرنگ (۱۳ تا ۱۵) و سفید وسط سبز (۱۶ تا ۱۸)	ثبت (۱۴-۱۵-۱۳)		
(CH۲) پنیر پاک (CH۲)	-CH۲۱۴ CH۲۱	-۲۳-۲۲ (محدب با حاشیه نامنظم ۲۱-۲۱۲-۲۱۱)، سبز -۲۴-۲۳-۲۷-۲۶-۲۴ (ستاره‌ای شکل-صفاف ۲۴-۲۵) و سبز -۲۲-۲۱۳-۲۱۴-۲۱۳-۲۸-۷-۲۶-۲۴ (اطراف سفید ۲۲-۲۹-۲۸-۲۷-۲۶-۲۲)	سفید (۲۱-۲۱۱-۲۱۲-۲۱۱)، سبز کمرنگ وسط پررنگ (۲۲-۲۳) و سبز -۲۱۴-۲۱۳-۲۱۳-۲۸-۷-۲۶-۲۴ (اطراف سفید ۲۲-۲۹-۲۸-۲۷-۲۶-۲۲)	ثبت (۲۱۰-۲۹-۲۷-۲۴-۲۳)			
(CH۲) پنیر پگاه (CH۲)	CH۱۱-CH۱۶	۱۰ <sup>۴</sup>	محدب	سفید	همگی منفی		

\* حروف معرف اول اسم نمونه اول مورد نظر است و در اینجا ماست نمونه اول می‌باشد که ۸ ایزوله از این محصول جداسازی و از ۱ تا ۸ نامگذاری شد.<sup>۶۰</sup> 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.

جدول ۳. مشخصات ایزولهای لکتو-پاسلوس جدا شده از فرآورده‌های لبنی غیر پرو-بیوتیک عرضه شده در بازار

کوئه احتمالی	توانایی رشد در حضور باکل	مشخصات کلکنی	حدود جمعیت در هنگام جداسازی		ایزوله‌های انتخابی	محصول غیر پروپیوتیک
			شكل کلکنی	رنگ کلکنی		
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-	ثبت (۲۲ و ۲۸)	مست				
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	ثبت (۲۲)	سبز کمرنگ (۲۱)، سفید با مرکز سبز (۲۴ تا ۲۲)	محدب با حاشیه نامنظم و ستاره‌ای شکل- صاف	سبز (۲۴ تا ۲۲)	y۲۱-y۲۸	۱۰ <sup>۵</sup> (۲۳-۲۱)، ۱۰ <sup>۴</sup> (۲۲-۲۱) و ۱۰ <sup>۵</sup> (۲۸ تا ۲۴)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-	ثبت (۳۲)	سبز کمرنگ (۳۱)، سفید با مرکز سبز (۳۲)	محدب- گرد (۳۱ تا ۳۳) و محدب با حاشیه نامنظم (۳۲)	سبز (۳۲) و سفید (۳۲)	y۳۱-y۳۳	(۳۳)، ۱۰ <sup>۵</sup> (۳۲) و ۱۰ <sup>۶</sup> (۳۱)، ۱۰ <sup>۴</sup> (۳۱)، ۱۰ <sup>۵</sup> (۳۲) و ۱۰ <sup>۶</sup> (۳۱)
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	ثبت (۳۲)	سبز کمرنگ (۳۱)، سفید با مرکز سبز (۳۲)	دوچ	سبز با مرکز سبز (۱۶ تا ۱۸) و سبز کمرنگ (۱۷)	D۱-D۸	۱۰ <sup>۴</sup> (۱۷) و ۱۰ <sup>۵</sup> (۱۵ تا ۱۱)، ۱۰ <sup>۵</sup> (۱۸ تا ۱۶)
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-	ثبت (۱۸-۱۷-۱۶)	سبز کمرنگ (۱۷)	محدب- گرد	سبز با مرکز سبز (۱۶ تا ۱۸) و سبز کمرنگ (۱۷)	پگاه	
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	ثبت (۱۶)	سبز کمرنگ (۱۱ تا ۱۵) و سبز کمرنگ و سط پررنگ (۱۶)	پنیر	سبز کمرنگ (۱۱ تا ۱۵) و سبز کمرنگ و سط پررنگ (۱۶)	پنیر خامه‌ای کاله	CH۱۱-CH۱۶
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-	ثبت (۱۶)	سبز کمرنگ (۱۱ تا ۱۵) و سبز کمرنگ و سط پررنگ (۱۶)	پنیر	سبز کمرنگ (۱۱ تا ۱۵) و سبز کمرنگ و سط پررنگ (۱۶)	پنیر خامه‌ای پگاه	CH۱۱-CH۱۳
لاکتوباسیلوس بلگاریکوس	همگی منفی	سبز کمرنگ	محدب- گرد	سبز کمرنگ	پنیر چوپان	

همکاران اشاره کرد که در زمینه تولید ماست پروپویوتیک بود. نتایج بررسی آن‌ها حاکی از وجود جمیت زنده کافی طی ۲۰ روز نگهداری فرآورده‌های تولیدی در یخچال بود (۵). همچنین، طاهری و همکاران با استفاده از گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، دوغ پروپویوتیک تهیه کردند که از نظر جمیت و بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، مطلوب ارزیابی شد (۱۱).

نتایج پژوهش احسانی و همکاران نشان داد که استفاده همزمان باکتری‌های کشت آغازگر و سویه‌های پروپویوتیک، می‌تواند تهدیدی برای قابلیت زنده‌مانی میکرووارگانیسم‌های پروپویوتیک باشد (۷). رفعی مجذوبیت این میکرووارگانیسم‌های پروپویوتیک با استفاده از گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، حفظ میزان بالایی از جمیت میکرووارگانیسم فوق را مغایر با توسعه عطر و طعم مناسب در ماست عنوان کردند (۱۲).

با این حال، به نظر نمی‌رسد که کمبود جمیت باکتری‌ای زنده در محصولات مورد بررسی تحقیق حاضر، به دلیل استفاده جمیت 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 پروپویوتیک تجاری موجود در بازار را مورد بررسی قرار داده است و در مقابل، تعداد زیبادی از مطالعات در شرایط آزمایشگاهی- کارگاهی، مراحل تولید، بیشتر پژوهش‌های انجام شده در شرایط کنترل شده به موقعیت در تولید یا نگهداری محصولات تهیه شده اشاره کرده‌اند. اگرچه این خود گام مهمی در رواج محصولات سلامتی پخش در جامعه است، اما همچنان ابهامات زیادی در زمینه حفظ کیفیت آن‌ها و عوامل مؤثر در کاهش تعداد باکتری زنده و سوش‌های پروپویوتیک در سطح تجاری و سپس در سطح فروش وجود دارد.

در مطالعات بین‌المللی نیز مسئله کمیت و کیفیت لاکتوباسیلوس‌های موجود در محصولات پروپویوتیک، 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 پروپویوتیک، مقدار پروپویوتیک در ۱۲ محصول (۳۸/۷ درصد) پایین‌تر از حداقل استاندارد و در ۱۹ محصول (۶۱/۳) 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). Teversham و Elliot پس از بررسی ۹ محصول پروپویوتیک (غیر لبی)، گزارش کردند که شمارش و بررسی نوع باکتری تنها در ۳ محصول دادبا برچسب آن مطابقت داشت و سایر نمونه‌ها فاقد جمیت زنده باکتری لازم بود و یا نوع سوش پروپویوتیک ادعای 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 پروپویوتیک شامل ۲۵ فرآورده لبنی و ۳۰ مکمل غذایی خشک شده، میانگین شمارش جمیت باکتری زنده،  $10^{-1}$ - $10^0$  واحد کلی در گرم بود. با این

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 پروپویوتیک و غیر پروپویوتیک و محتوای ماده چرب محصول اشاره نمود. نتایج مطالعه Vinderola و همکاران در آرژانتین نشان داد که قابلیت زیستی باکتری‌های پروپویوتیک 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 پروپویوتیک مشاهده می‌گردد (۹).

یکی از نتایج تحقیق حاضر، شمار جمیت قابل توجهی از مخمر در محصولات پروپویوتیک و غیر پروپویوتیک بود. آنودگی به مخمر در نمونه‌های ماست، می‌تواند یکی از دلیل کاهش جمیت باکتری‌های پروپویوتیک در آن‌ها باشد. جمیت بالای مخمرهای لبی 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، آنودگی به مخمر به دلیل قابلیت تولید و تحمل اسیدیته بالا، با ایجاد پدیده بیش اسیدی یا پس اسیدی در ماست همراه است که نه تنها خواص حسی ماست را کاهش می‌دهد، بلکه زمینه کاهش جمیت باکتری‌های زنده از جمله سوش‌های پروپویوتیک را فراهم می‌نماید. در مقابل، توانایی برخی از سویه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از فرآورده‌های غیر پروپویوتیک برای رشد در حضور صفراء، می‌تواند نشان دهنده خالص نبودن کشت‌های آغازگر مورد استفاده در صنایع لبی 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 سیستگاه 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 صفراء می‌باشد و همین شاخص آن را از سویه تجارتی پروپویوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس متفاوت می‌سازد.

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

چعروف و همکاران پژوهشی را به دلیل توزیع صورت می‌گیرند (۱۰). نتایج پژوهشی از نقاط مختلفی از خط تولید و فرآوری آن انجام دادند و نتیجه گرفتند که بخشی از کاهش جمیت باکتری‌های پروپویوتیک، در مرحله تولید و حتی پیش از رسیدن به مرحله توزیع صورت می‌گیرد.

برخی مطالعات صورت گرفته در کشور، با تهیه آزمایشگاهی- کارگاهی فرآورده‌های پروپویوتیک لبی، شرایط مؤثر بر کاهش سویه‌های لبی پروپویوتیک را بررسی نمودند. در میان این تحقیقات می‌توان به مطالعه مرحمتیزاده و

۳۱/۵۷ درصد از محصولات پروپویوتیک موجود در بازار با شرایط مخصوص همخوانی ندارد، بلکه این اطلاعات در مورد بخشی از نمونه‌ها عرضه نشده است. این موضوع برخلاف تدوین استاندارد محصولات پروپویوتیک در ایران، لزوم نظارت بیشتر بر اجرای این استاندارد را طلب می‌کند.

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

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

در تحقیق حاضر، تعداد نمونه‌های پنیر کمتر نسبت به نمونه‌های ماست مورد بررسی قرار گرفت. این موضوع از تنوع و فراوانی کمتر پنیر پروپویوتیک در بازار ناشی می‌شود. با این حال، به نظر می‌رسد که جمعیت باکتری‌هایی با قابلیت رشد در حضور صفراء، در نمونه‌های پنیر پروپویوتیک 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 پروپویوتیک، 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 دلیل متعدد با استاندارد فرآورده‌های لبی پروپویوتیک 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

- 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].
- Heidarpour M, Mazdarani S. Probiotic safety assessment Proceedings of the 1<sup>st</sup> National Food Security Seminar; 2011 May 18-19; Savadkhoh, Iran. [In Persian].

حال، شناسایی دقیق ایزوولهای ایزوولهای 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 پروپویوتیک تجاری انجام شد، ساختهای مختلف از جمله قابلیت زیستی، نوع باکتری‌های موجود در محصول و ادعای تولید کننده ایزوولهای بر روی برچسب تولید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج بررسی آن‌ها حاکی از آن بود که از ۱۱ محصول ماست پروپویوتیک، تنها باکتری‌های شناسایی شده در دو محصول با برچسب مغایرت داشت (۱۷).

تحقیق Cruz و همکاران بر روی ماست‌های طعم‌دار پروپویوتیک موجود در بازار بزرگ صورت گرفت و وجود باکتری بیفیدو-باتریوم اینمالیس ادعا شده بر روی برچسب و تعداد این باکتری بررسی و مشخص گردید که حدود ۸ واحد لگاریتمی در میلی لیتر جمیعت 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 بیش از حد ماست ایگازگر ماست عنوان شد (۱۸).

مطالعه Coeuret و همکاران در فرانسه، با استفاده از ساختهای غذایی فوتیبی و ژنوتیبی، تعداد و نوع گونه باکتریایی موجود در ۱۰ نوع محصول اطلاعات پروپویوتیک 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 پروپویوتیک موجود با استاندارد فرانسه مطابقت نداشت. در چهار محصول نیز ایزوولهای از نظر نوع گونه با گونه ادعا شده متفاوت بودند (۱۹).

و همکاران در مطالعه دیگر با استفاده از روش‌های سنتی Theunissen میکروبیولوژی و روش‌های مولکولار، به شناسایی میکروارگانیسم‌های پروپویوتیک در ماست‌های تجاری و دیگر محصولات غذایی پرداختند. در مطالعه آن‌ها ۵۴/۵ درصد از ماست‌های پروپویوتیک 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، ایزوولهای متفاوت دیگر 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 ۱۰<sup>۰</sup> واحد لگاریتمی در میلی لیتر بوده است. در تحقیق آن‌ها چهار محصول از ۱۰ محصول بررسی شده شرایط مطلوبی داشتند. با این حال، از نظر بررسی نوع گونه پروپویوتیک مصرف شده در کلیه محصولات مورد مطالعه، مشخص گردید که ایزوولهای 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

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, Shabazi 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, Mahmoodi 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. Jafarpour F, Homaioni-Rad A, Javadi M. Enumeration of bacteria living in Commercial probiotic yogurt. Proceedings of the 1<sup>st</sup> 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.

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

Hajar Rezaei<sup>1</sup>, Hosein Fazeli<sup>2</sup>, Maryam Mirlohi<sup>3</sup>

### 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  $\mu\text{l}$  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