

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

معاونت غذا و دارو

اداره کل نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی،
آرایشی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فراورده های
شیری پروبیوتیک

تدوین: ۱۳۸۷

بنام خدا

پیشگفتار :

روند رو به رشد تعداد واحدهای تولیدی صنایع غذایی و آشامیدنی و ایجاد تغییرات در تکنولوژی و تنوع و گوناگونی محصولات تولیدی ، سبب گردید تا اداره کل نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی ، آرایشی و بهداشتی از سال ۱۳۸۱ اقدام به تدوین مقررات و ضوابط جدید متناسب با علم روز غذا نماید. تدوین ضوابط مذکور شامل حداقل ضوابط تاسیس و بهره برداری کارخانجات مختلف غذایی تا سال ۱۳۸۴ ادامه یافت ولیکن از تیر ماه سال ۱۳۸۵ سیاست تدوین ضوابط تغییر و مقرر گردید ضوابط فنی و بهداشتی برای تاسیس و بهره برداری واحدهای تولید و بسته بندی مواد غذایی بصورت ضابطه ای کلی تدوین گردد و سایر موارد از جمله تجهیزات خط تولید، آزمایشگاه و ضوابط بهداشتی اختصاصی برای تولید هر محصول در ضوابط جداگانه ای مختص به هر محصول تدوین و به تصویب برسد. برای هماهنگی با توسعه جهانی، ضوابط در مواقع لزوم اصلاح خواهد شد بدین منظور پیشنهادات مطروحه توسط کمیته علمی مورد بررسی قرار گرفته و پس از تایید ، ضابطه اصلاح شده از طریق واحد اطلاع رسانی به اطلاع عموم خواهد رسید.

شایان ذکر است که ضوابط بر روی سایت معاونت غذا و دارو وزارت بهداشت (www.fdo.ir) موجود می باشد.

این ضابطه توسط اداره کل نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی و با همکاری:

سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، گروه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی کرج، شرکت دارو سازی آریا، شرکت نیکو تک، شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران، شرکت سهامی صنایع شیر ایران (پگاه)، شرکت پیشگامان پخش صدیق، شرکت فرآورده های لبنی کاله، شرکت لبنیات پاستوریزه پاک، شرکت شاندشت (پاژن)، شرکت نستله ایران، دبیرخانه فدراسیون بین المللی شیر ایران تدوین گردیده است.

فهرست مطالب

| صفحه | عنوان |
|------|---|
| ۱ | ۱- مقدمه |
| ۱ | ۲- هدف |
| ۱ | ۳- دامنه کاربرد |
| ۳ | ۴- ایمنی پروبیوتیکها |
| ۴ | ۴-۱ جنس های و گونه های متداول پروبیوتیک |
| ۴ | ۴-۲ حداقل تعداد زنده در هر گرم ماده غذایی |
| ۵ | ۴-۳ اثر بخشی |
| ۵ | ۵- برچسب گذاری |
| ۷ | ۶- شرایط نگه داری و حمل |
| ۷ | ۷- GMP |
| ۸ | ۷-۱ GMP عمومی |
| ۸ | ۷-۲ GMP اختصاصی |
| ۸ | ۸- حداقل تجهیزات مورد نیاز برای تولید |
| ۸ | ۹- آزمایشگاهها |
| ۹ | ۹-۱ حداقل آزمایشات فیزیکوشیمیایی مورد نیاز |
| ۹ | ۹-۲ حداقل آزمایشات میکروبی مورد نیاز |
| ۹ | ۹-۳ حداقل لوازم و تجهیزات مورد نیاز در آزمایشگاه فیزیکوشیمی و میکروبی |
| ۱۰ | ۱۰- مراجع |
| ۱۱ | پیوست ها |

لازم به ذکر است، موارد مندرج در کادر بجز جداول بعنوان توصیه می باشند.



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

۱- مقدمه

با توجه به روند رو به رشد تولید و عرضه فرآورده های غذایی پروبیوتیک با اهداف سلامت بخش به صورت عمومی و درمانی به صورت اختصاصی در دنیا و تمایل تولید کنندگان داخلی برای تولید و وارد کنندگان مواد غذایی برای واردات اینگونه فرآورده ها، نیاز به راهنمای بهداشتی برای تولید و کنترل کیفیت این فرآورده ها می باشد. در میان فرآورده های غذایی پروبیوتیک، فرآورده های لبنی پروبیوتیک و به ویژه فرآورده های تخمیری شیر در جهان از مقبولیت و مصرف بیشتر برخوردار هستند. فرآورده های شیری به عنوان پایه ای مناسب برای تولید این فرآورده ها می باشد.

۲- هدف

هدف از تدوین این ضابطه تعیین حداقل چهارچوب مناسب برای تولید صنعتی و کنترل کیفی محصولات شیری پروبیوتیک می باشد.

۳- دامنه کاربرد

این ضابطه دربرگیرنده مقررات مربوط به فرآورده های شیری است که در تولید آنها از سویه های پروبیوتیک استفاده گردیده است.

تعاریف و اصطلاحات

پروبیوتیک ها^۱

میکروارگانیسم های (باکتری و مخمر) زنده^۲ و فعالی^۳ (زنده- فعال یا فعال- زی)^۴ که با استقرار در بخش های مختلف بدن (اساساً روده) به تعداد مناسب، با فعالیت زیستی خود، عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی روده میان میکروارگانیسم های سودمند و زیان بخش، دربردارنده خواص سلامت بخش برای میزبان^۵ هستند.

لازم به اشاره است که واژه «پروبیوتیک» در زبان لاتین به معنای «حیات بخش» است و از نظر مفهوم در مقابل واژه «آنتی بیوتیک» به معنای «ضدحیات» قرار دارد.

1- Probiotics

2- Live

3- Active

4-Viable

5- Host

**حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک****- پری بیوتیک ها^۶**

ترکیبات هضم ناپذیر^۷ یا هضم پذیر اندک در برابر آنزیم های گوارشی بدن انسان (اساسا ترکیبات الیگوساکاریدی^۸) هستند که رشد و/ یا فعالیت میکروارگانیسم های پروبیوتیک را به طور انتخابی تحریک می کنند.

- سین بیوتیک ها^۹

فرآورده هایی که به طور توأم دارای پروبیوتیک ها و پری بیوتیک ها هستند. کاربرد توأم دو عامل یادشده با هدف ایجاد هم افزایی^{۱۰} در اثرات سلامت بخش آن ها صورت می گیرد.

- قابلیت زیستی^{۱۱}

درجه زنده و فعال بودن میکروارگانیسم های پروبیوتیک در محصول نهایی است. این ویژگی اغلب از راه شمارش تعداد سلول های زنده و فعال پروبیوتیک در محیط کشت تعیین می شود.

- ترکیب کشت^{۱۲}

عبارت از نوع و درصد (نسبت) میکروارگانیسم های به کاررفته در کشت آغازگر^{۱۳} است.

- ماده غذایی پروبیوتیک

غذایی است که حاوی پروبیوتیک ها به میزان کافی برای ایجاد تاثیرات سودمند پروبیوتیک در زمان مصرف باشد و باید دارای ویژگیهای زیر باشد:

○ خود فرآورده سلامت بخش باشد و یا اینکه دست کم مضر نباشد.

○ توسط طیف وسیعی از مردم مصرف شود.

○ امکان تولید دائمی آن وجود داشته باشد.

○ شرایط مطلوب از نظر ماندگاری میکروارگانیسم پروبیوتیک را دارا باشد.

○ افزودن پروبیوتیک سبب زایل شدن خواص حسی و یا ویژه آنها نشود.

تبصره - با توجه به ویژگیهای فوق محصولات شیری به عنوان پایه مناسبی برای تولید فرآورده های

⁶Prebiotics

⁷Indigestible

⁸Oligosaccharide

⁹Synbiotics

¹⁰Synergy

¹¹Viability

¹²Culture composition

¹³Starter culture



پروبیوتیک هستند.

باکتریهای مورد استفاده به عنوان پروبیوتیک باید بیماریزا نبوده و به خانواده گراس (Generally recognized as safe) تعلق داشته باشند.

- قابلیت زیستی^{۱۴}

درجه زنده و فعال بودن میکروارگانیسم های پروبیوتیک در محصول نهایی است. این ویژگی اغلب از راه شمارش تعداد سلول های زنده و فعال پروبیوتیک در محیط کشت تعیین می شود.

- خواص سلامت بخش عمومی و اختصاصی فرآورده های پروبیوتیک^{۱۵}

مطابق با نظر قریب به اتفاق منابع و مراجع علمی و قانونی، خواص سلامت بخش تصریح شده در بند ۵-۸ این ضابطه، خواص سلامت بخش عمومی دانسته شده اند، بدین معنا که دارای اثراتی کلی و عمومی بوده و اثرات آن ها به اندازه داروها زودبروز، موثر و مشخص نیست. در مقابل، فرآورده های پروبیوتیک با خواص سلامت بخش اختصاصی، دارای اثرات درمانی قوی تر، زودبروزتر و مشخص تر هستند. برای مثال، در حال حاضر، ماست های گوناگون به منظور درمان عفونت های روده ای به ویژه اسهال و عفونت های باکتریایی و مخمری دستگاه تناسلی، مورد تولید و مصرف دارند.

- میکروارگانیسم های آغازگر^{۱۶}

میکروارگانیسم ها یی که به صورت انتخابی و هدفمند به محیط های پایه غذایی برای شروع فرآیند تخمیر، عموماً پس از ازبین بردن میکروارگانیسم های ناخواسته بومی^{۱۷}، اضافه می شوند.

۴- ایمنی پروبیوتیکها

هر میکروارگانیسم که به عنوان سویه پروبیوتیک از طرف واحد تولیدی مورد استفاده قرار می گیرد باید دارای مستندات لازم از طرف شرکت تولید کننده در کشور مبدأ مبنی بر ایمن بودن آن باشد.

یادآوری ۱- تولید کننده موظف است در زمان اخذ پروانه ساخت دقیقاً مشخص کند که از چه جنس و سویه ای استفاده کرده است و همچنین مستندات دال بر موارد زیر از شرکت تولید کننده اخذ گردد:

○ تاریخچه طولانی استفاده بی خطر

¹⁴ Viability

¹⁵ General- and specific health benefits

¹⁶ Starter Organisms

¹⁷ Native/indigenous



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

○ عدم داشتن ویژگیهای بیماریزایی

○ عدم داشتن ویژگیهای سمی

○ عدم داشتن فعالیت همولتیک

۴-۱- جنس های و گونه های متداول پروبیوتیک

گوناگونی میکروارگانیسم های پروبیوتیک همواره در حال افزایش بوده به این معنی که بررسی های جدید به شناخت سویه ها، گونه ها و جنسهای جدیدی از میکروارگانیسم ها که دارای خواص پروبیوتیکی هستند منجر می شود. از بین میکروارگانیسم های پروبیوتیک گونه های لاکتوباسیلوس لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، بیفیدوباکتریوم لانگوم، بیفیدوباکتریوم بروی، بیفیدوباکتریوم اینفنتیس بیشترین کاربرد تجاری را دارند. (۲)

تیره های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی در به کارگیری کشت آزمایشگاهی پروبیوتیک طولانی ترین تاریخچه را دارند. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم مجموعاً به عنوان کشت های آزمایشگاهی AB (رجوع به جدول الف-۱ پیوست الف) شناخته می شوند و این عبارت برای نشان دادن حضور این میکروارگانیسم ها ارتقاء دهنده سلامتی در ماست ها و سایر محصولات شیری تخمیر شده به کار برده می شود.

یادآوری ۲- بند ۴-۱ صرفاً جهت معرفی جنس و گونه های متداول پروبیوتیکها بوده و در این ضابطه الزامی برای تولید کننده جهت انتخاب این جنس ها و گونه ها ایجاد نمی کند.

۴-۲- حداقل تعداد زنده در هر گرم ماده غذایی

اختلاف نظر زیادی درباره حداقل میزان غلظت این باکتریها در مواد غذایی وجود دارد، ولی آنچه که مسلم است این می باشد که عموماً غلظت حداقلی برابر $10^7 - 10^6$ CFU/g از یک باکتری جهت ایجاد تاثیری پروبیوتیک مورد نیاز می باشد. (به هنگام مصرف و تا آخرین روز تاریخ انقضای مصرف محصول)

18 *bifidum*
19 *B. longum*
20 *B. breve*
21 *B. infantis*



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

۳-۴- اثر بخشی

جهت اثبات کارایی میکروارگانیسمهای پروبیوتیک تولید کننده موظف به اخذ مستندات لازم زیر از کشور تولید کننده جهت ارایه به وزارت بهداشت می باشد.

- مقاومت به اسیدیته شکمی
- مقاومت نسبت به نمکهای صفراوی
- چسبندگی به سلول های مخاطی انسان
- فعالیت ضد میکروبی در مقابل میکروارگانیسم های بیماریزا در انسان

یادآوری ۳- در صورت استفاده از سویه جدید در تولید یک فرآورده و یا همان درصد ذکر شده در پروانه ساخت محصول پس از دریافت تاییدیه از وزارت بهداشت (در خصوص سویه جدید) تولید با استفاده از همان پروانه ساخت بلامانع می باشد مشروط به رعایت الزامات برچسب گذاری ذکر شده در بند ۵ همین ضابطه.

۵- برچسب گذاری

در مواردی که فرآورده شیری پروبیوتیک دارای استاندارد ملی باشد، برچسب گذاری محصول بایستی مطابق با استاندارد مربوط باشد در غیر اینصورت لازم است مطابق موارد زیر عمل شود:
آگاهی های زیر باید روی هر ظرف به طور واضح و خوانا، برای مصارف داخلی به زبان فارسی و برای صادرات به زبان انگلیسی یا به زبان کشور خریدار، با استفاده از جوهر غیر سمی و پاک نشدنی نوشته، چاپ یا برچسب شود:

۵-۱- نام و نوع فرآورده (برای مثال، «ماست پروبیوتیک کم چرب» یا «ماست پروبیوتیک چکیده کم چرب»).

یادآوری ۴- ذکر عبارات «با خواص سلامت بخش عمومی» یا «با خواص سلامت بخش اختصاصی» مطابق با توضیحات بند ۵-۸.

یادآوری ۵- در صورت استفاده از ترکیبات پری بیوتیک در فرمول فرآورده شیری پروبیوتیک، در حال حاضر، به دلیل ایجاد دشواری در درک آن توسط مشتری و احتمال گمراه شدن مشتری، ذکر عبارت « [نام فرآورده] سین بیوتیک» روی برچسب ممنوع است. در صورت استفاده از این ترکیبات، ذکر عبارت «حاوی ترکیبات پری بیوتیک» روی برچسب توصیه می شود.

**حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک**

۵-۲- نام و نشانی تولیدکننده همراه با نماد تجاری آن

۵-۳- نشانی تماس و ارتباط با تولیدکننده

۵-۴- وزن خالص بر حسب سیستم متریک همراه با حد رواداری^{۲۲}

۵-۵- شماره پروانه ساخت از وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

۵-۶- شماره سری ساخت

۵-۷- مواد تشکیل دهنده

یادآوری ۶- نوع میکروارگانیسم های مورد استفاده (ضرورتاً، جنس و گونه)، از جمله میکروارگانیسم های پروبیوتیک، باید مورد اشاره قرار گیرد.

یادآوری ۷- تولیدکننده می تواند کمینه قابلیت زیستی پروبیوتیک ها را با ذکر عبارت «حداقل تعداد سلول های زنده و فعال پروبیوتیک در هر میلی لیتر (یا در هر گرم) از فرآورده» مشخص کند. این حد شمارش باید تا پایان اتمام تاریخ انقضای مصرف حفظ شود.

یادآوری ۸- تولیدکننده می تواند مقدار مصرف توصیه شده فرآورده شیری پروبیوتیک برای برخورداری از خواص سلامت بخش ادعا شده را به صورت گرم/ میلی لیتر در روز/ هفته ذکر کند.

یادآوری ۹ (مهم)- چنانچه مصرف فرآورده شیری پروبیوتیک به اندازه ای مشخص ممکن است در بردارنده اثرات احتمالی مضر برای قشر خاصی از مصرف کنندگان باشد، ذکر عبارت هشداردهنده مناسب ضروری است. این اثرات باید به وسیله اداره کل نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی و بهداشتی معاونت غذا و دارو تایید شده باشند.

یادآوری ۱۰- ذکر عبارت کلی «افزودنی های مجاز» یا «افزودنی های مجاز خوراکی» بدون تصریح نوع ترکیب ممنوع است.

۵-۸- ادعا/ ادعاهای سلامت بخش^{۲۳} عمومی با ذکر عینی کلیشه- عبارت زیر:

«خواص سلامت بخش عمومی: بهبود سلامت و کارایی سیستم گوارشی، تنظیم و تقویت سیستم ایمنی، کاهش کلسترول، کاهش عوارض عدم تحمل لاکتوز، افزایش ارزش تغذیه ای غذا» همراه با ذکر عبارتهای " می تواند" و " ممکن است" برای مثال " مصرف این فرآورده می تواند (ممکن است) به کاهش کلسترول کمک نماید"

²² Tolerance limit

²³ Health claim(s)



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

یادآوری ۱۱- (مهم)- ارائه هرگونه ادعای سلامت بخش دیگر به جز عناوین قیدشده در بند ۵-۸ این ضابطه، فرآورده پروبیوتیک را مشمول خواص سلامت بخش اختصاصی می کند و بدون کسب مجوز از اداره کل نظارت بر مواد غذایی، آشامیدنی و بهداشتی معاونت غذا و دارو ممنوع است.

یادآوری ۱۲ (مهم)- در صورتیکه بیشتر از ۱/۵٪ باشد، استفاده از عنوان «کاهش کلسترول» در ارتباط با خواص سلامت بخش عمومی (بند ۵-۸ این ضابطه) مجاز نیست.

۵-۹- تاریخ تولید به «روز و ماه و سال»

۵-۱۰- تاریخ تولید به «روز و ماه و سال»

۵-۱۱- تاریخ انقضای قابلیت مصرف (بیشینه ماندگاری) به «روز و ماه و سال»

یادآوری ۱۳- اعلام تاریخ انقضای مصرف به صورت «مدت زمان مشخصی از روز/ هفته/ ماه پس از تولید» (برای مثال «دو هفته یا ده روز پس از تولید») مجاز نیست.

۵-۱۲- شرایط نگه داری فرآورده شیری بسته بندی شده پس از صدور از کارخانه.

یادآوری ۱۳- ذکر عبارات «تا زمان مصرف در یخچال نگهداری شود» الزامی است.

۵-۱۳- عبارت «ساخت ایران»

۶- شرایط نگه داری و حمل

فرآورده های پروبیوتیک باید در شرایطی حمل و نقل و انبارش شوند که قابلیت زیستی و تعداد میکروارگانیسم های زنده آن دچار تغییر محسوسی نشود که شرایط نگهداری با توجه به فرآورده مورد نظر متغیر است .

GMP -۷

جهت تاسیس واحد، GMP عمومی و اختصاصی باید مد نظر قرار گیرد.



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

۷-۱- GMP عمومی

GMP عمومی شامل حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید و بسته بندی مواد غذایی می باشد، که با کد Fdop10611v1 بر روی سایت معاونت غذا و دارو وزارت بهداشت (www.fdo.ir) موجود می باشد.

۷-۲- GMP اختصاصی

مطابق با حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده شیر و فرآورده های شیری با کد Fdop5071v2 بر روی سایت معاونت غذا و دارو وزارت بهداشت (www.fdo.ir) موجود می باشد.

۸- تجهیزات خط تولید

تجهیزات خط تولید بایستی ضمن متناسب بودن با طراحی محصول پروبیوتیک مورد نظر، باید بتواند همواره کلیه خصوصیات محصول نهایی ذکر شده در استانداردهای معتبر و یا ضوابط اعلام شده از سوی این اداره کل را تامین نماید.

۸-۱- حداقل تجهیزات مورد نیاز برای تولید فرآورده های شیری پروبیوتیک

- داشتن تانکهای پروسس مجهز به همزن و دارای سیستم گردش آب گرم و سرد و تجهیزات کنترلی لازم (مانند ترمومتر، شیر نمونه برداری و ...)
- سایر تجهیزات مطابق تجهیزات لازم برای تولید فرآورده مورد نظر ذکر شده در فصل ۵ حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده شیر و فرآورده های شیری

نکته: پیشنهاد می شود در صورت استفاده از سویه جدید پروبیوتیک دارای خواص ویژه که منجر به ادعایی خاص شود خط تولید یا مسیر ویژه متفاوتی از خط تولید موجود انتخاب گردد.
- برای استفاده از هر سویه جدید برای تولید لازم است آن سویه توسط وزارت بهداشت شناسایی گردد.
- داشتن سردخانه زیر صفر و یا فریزر برای نگهداری استارترهای اولیه ضروری است.

۹- آزمایشگاهها

کلیه آزمایشات باید مطابق با آخرین تجدید نظر استانداردهای ملی ایران و ضوابط اعلام شده از طرف وزارت بهداشت باشد.



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

۹-۱- حداقل آزمایشات فیزیکی شیمیایی مورد نیاز

- مطابق با آزمایشات لازم برای سنجش ویژگیهای فیزیکی شیمیایی فرآورده های شیری مطابق با آخرین تجدید نظر استاندارد های ملی فرآورده های شیری مربوط.

۹-۲- حداقل آزمایشات میکروبی مورد نیاز

- آزمایش سنجش قابلیت زیستی
- سایر آزمونهای میکروبی مطابق با آخرین تجدید نظر استاندارد های ملی فرآورده های شیری مربوط.
- آزمون شناسایی صحت سویه های بکار برده شده (بر عهده وزارت بهداشت به عنوان مرجع ذیصلاح) صحت وجود سویه های ادعا شده تا پایان تاریخ انقضای مصرف ادعا شده بایستی تایید شود.

حداقل مواد شیمیایی مورد نیاز در آزمایشگاه شیمی

- مطابق با حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده شیر و فرآورده های شیری

حداقل مواد شیمیایی مورد نیاز در آزمایشگاه میکروبی

- کلیه محیط های مورد نیاز ذکر شده در حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده شیر و فرآورده های شیری.
- برای انتخاب سایر محیط های کشت اختصاصی پروبیوتیکها برای سنج قابلیت زیستی آنها با توجه به نوع کشت مورد نیاز از پیوست الف استفاده شود.
- برای انتخاب آنتی بیوتیکهای مورد نیاز برای سنجش پروبیوتیکها از پیوست الف استفاده شود.

۹-۳- حداقل لوازم و تجهیزات مورد نیاز در آزمایشگاه فیزیکی شیمیایی و میکروبی

- مطابق با حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده شیر و فرآورده های شیری.

تذکر



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

در صورتی که هر واحد تولیدی قادر به انجام برخی آزمایشات خاص نباشد ، باید ضمن عقد قراردادف نمونه خود را به آزمایشگاه های تایید صلاحیت شده وزارت بهداشتنا ارجاع دهد تا مورد آزمایش قرار گرفته و نتایج به صورت مستند تهیه و نگهداری شود.

۱۰- مراجع

- مرتضویان، امیر محمد. سهراب وندی، سارا ۱۳۸۵ پروبیوتیکها و فراورده های غذایی پروبیوتیک. انتشارات انا
- پیش نویس استاندارد ماست پروبیوتیک اسفند ۱۳۸۷
- پیش نویس استاندارد دوغ پروبیوتیک اسفند ۱۳۸۷
- حداقل ضوابط تاسیس و بهره برداری واحدهای لبنی ۱۳۸۶ اداره کل نظارت بر واد غذایی
- Final report of the BgVV Working Group " Probiotic Microorganism Cultures in Food" October 1999
- Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food: 2002, London, Ontario, Canada.

**پیوست الف
(الزامی)****تعیین شمارش زنده باکتری های پروبیوتیک**

کشت های پروبیوتیک در فرآورده های غذایی ممکن است از نوع کشت منفرد^۱ (حاوی یک نوع گونه پروبیوتیک) یا کشت مخلوط^۲ (حاوی دست کم دو گونه پروبیوتیک) باشند. این کشت ها همچنین ممکن است دارای یک یا هر دو گونه باکتری های سنتی ماست (بند ۶) باشند. وجود هر دو باکتری سنتی ماست در ترکیب کشت، با نشانه «Y» مشخص می شود. برای نشان دادن وجود استرپتوکوکوس ترموفیلوس یا لاکتوباسیلوس دلبرونه کی بی زیرگونه بولگاریکوس در ترکیب کشت به تنهایی، به ترتیب از نشانه های «T» و «b» استفاده می شود. نشانه های مربوط به باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازی و انواع گونه های بیفیدوباکتریوم به ترتیب «A»، «C» و «B» هستند. برای مثال، نشانه «ABY» بر وجود همزمان باکتری های ل. اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم و باکتری های سنتی ماست و نشانه «ABCT» بر وجود همزمان باکتری های ل. اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم، ل. کازی و استرپتوکوکوس ترموفیلوس در ترکیب کشت دلالت دارد. در زیر، محیط های کشت و روش های شمارش برخی از مهمترین ترکیبات کشت پروبیوتیک در فرآورده های لبنی مورد اشاره قرار گرفته است:

الف- ۱) کشت گونه منفرد (تک-گونه) پروبیوتیک بدون حضور/در حضور باکتری های سنتی ماست

برای شمارش فقط یک گونه پروبیوتیک، از محیط کشت MRS- آگار^۳ استفاده می شود. کلنی های رشد کرده نمایانگر گونه مورد نظر هستند.

در تهیه محیط کشت MRS- آگار، از اطلاعات قیدشده روی برچسب بسته بندی محیط کشت (از نظر مقدار پودر وزن شده محیط کشت و شرایط اتوکلاو کردن) و استانداردهای ملی ایران شماره های ۱- ۸۶۶۳ و ۲- ۸۶۶۳ استفاده کنید.

شیوه کشت دادن، پلیت- ریز^۴ و شرایط گرمخانه گذاری، بی هوازی برای بیفیدوباکتریوم ها و بی هوازی یا هوازی برای لاکتوباسیلوس های پروبیوتیک و دمای ۳۷ درجه سلیسیوس به مدت زمان دست کم ۷۲ ساعت است.

1. Single culture
2. Mixed culture
3. De Man Rogosa and Sharpe agar
4. Pour plate

**حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک**

کشت MRS- آگار از باکتری ل. اسیدوفیلوس است. برخی کلنی ها ممکن است به صورت هم- آمیخته^۱ دیده شوند (شکل ۳).

شمارش افتراقی^۲ کشت ترکیبی ل. اسیدوفیلوس و ل. کازی، مطابق با توضیحات بالا در ارتباط با شکل کلنی ها، با استفاده از محیط کشت MRS- آگار، در شرایط بی هوازی یا هوازی صورت می گیرد. شرایط بی هوازی، افتراق پذیری بهتری ایجاد می شود. در حضور باکتری های سنتی ماست، از محیط کشت MRS- بایل- آگار استفاده می شود.

تهیه محیط های کشت یادشده و شرایط گرمخانه گذاری مطابق با توضیحات بند الف-۱ صورت می گیرد.

الف-۳ کشت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس یا لاکتوباسیلوس کازی، در حضور یکی از گونه های بیفیدوباکتریوم، بدون حضور ادر حضور باکتری های سنتی ماست

بیفیدوباکتریوم ها در شرایط هوازی قادر به رشد نیستند. شکل کلنی های آن ها (به ویژه، بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس) در شرایط بی هوازی همانند کلنی های ل. اسیدوفیلوس در همین شرایط (بند الف-۳) بوده و از آن ها قابل تفکیک نیست (شکل ۲).

شمارش انتخابی^۳ باکتری ل. کازی در کشت مخلوط بیفیدوباکتریوم (یکی از گونه ها) و ل. کازی، با استفاده از محیط کشت MRS- آگار، در شرایط هوازی صورت می گیرد. در شرایط بی هوازی، کلنی های بیفیدوباکتریوم، با توجه به ویژگی های مربوط (شکل ۲)، شمارش می شوند. یادآوری می شود که شکل کلنی های بیفیدوباکتریوم در شرایط بی هوازی همانند کلنی های ل. اسیدوفیلوس در همین شرایط است (بند الف-۳). در حضور باکتری های سنتی ماست، از محیط کشت MRS- بایل- آگار استفاده می شود.

تهیه محیط های کشت یادشده و شرایط گرمخانه گذاری مطابق با توضیحات بند الف-۱ صورت می گیرد. شمارش انتخابی باکتری های ل. اسیدوفیلوس در کشت مخلوط بیفیدوباکتریوم (یکی از گونه ها) و ل. اسیدوفیلوس، با استفاده از محیط کشت MRS- آگار، در شرایط هوازی صورت می گیرد (بیفیدوباکتریوم ها در شرایط هوازی قادر به رشد نیستند). در حضور باکتری های سنتی ماست، از محیط کشت MRS- بایل- آگار استفاده می شود.

تهیه محیط های کشت یادشده و شرایط گرمخانه گذاری مطابق با توضیحات بند الف-۱ صورت می گیرد. شمارش انتخابی گونه های بیفیدوباکتریوم در کشت مخلوط بیفیدوباکتریوم (یکی از گونه ها) و ل. اسیدوفیلوس، با استفاده از محیط کشت MRS- آگار حاوی افزودنی های محلول آبگوشت سیستمین هیدروکلورید^۴ (۵ میلی لیتر بر لیتر محیط کشت) و محلول آبگوشت میوپیروسین^۵ (۲/۵ میلی لیتر بر لیتر

1. Coalesced
2. Differential
3. Selective
4. Cystein hydrochloride
5. Mupirocin



PEI/Cr V1 /0042

جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک

جدول الف-۱- محیط کشت ها و شرایط گرمخانه گذاری سلول های زنده برخی از مهمترین ترکیبات کشت پروبیوتیک

| شرایط گرمخانه گذاری | محیط کشت مورد استفاده | نوع ترکیب کشت |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------|
| هوازی یا بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-A | A |
| هوازی یا بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-A | C |
| بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-A | B |
| هوازی یا بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | AY |
| هوازی یا بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | CY |
| بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | BY |
| هوازی یا بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | AT |
| هوازی یا بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | CT |
| بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | BT |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-C/M-A و MRS-A | AB |
| بی هوازی (ترجیحا) یا هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-A | AC |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-A | BC |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-C/M-A و MRS-BA | ABY |
| بی هوازی (ترجیحا) یا هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | ACY |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | BCY |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-C/M-A و MRS-BA | ABT |
| بی هوازی (ترجیحا) یا هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | ACT |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-BA | BCT |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-C/M-A و MRS-A | ABC |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-C/M-A و MRS-BA | ABCY |
| هوازی و بی هوازی/۳۷°C/۷۲ h | MRS-C/M-A و MRS-BA | ABCT |

* A = ل. اسیدوفیلوس؛ B = بیفیدوباکتریومها؛ C = ل. کازی؛ Y = باکتری های سنتی ماست؛ T = ل. ترموفیلوس؛
MRS = MRS-A - آگار؛ MRS = MRS-BA - بایل - آگار؛ MRS = MRS-C/M-A - سیستین هیدروکلورید/ میوپروسین - آگار.



PEI/Cr V1 /0042

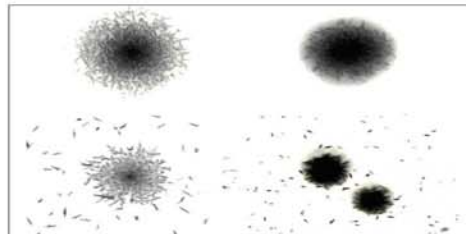
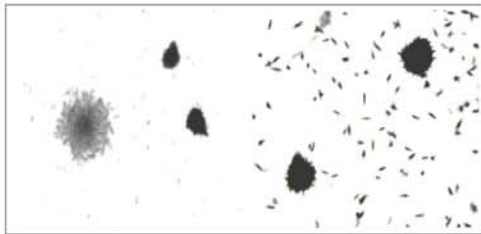
جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معاونت غذا و دارو اداره کل نظارت بر مواد غذایی و بهداشتی

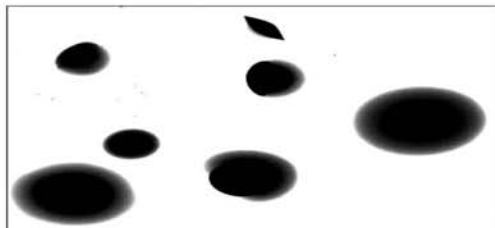
حداقل ضوابط فنی و بهداشتی واحدهای تولید کننده فرآورده های شیری پروبیوتیک



شکل ۱ - شکل کلنی های *L. اسیدوفیلوس* در شرایط هوازی. کلنی های نوع اول (سمت چپ)؛ کلنی هایی نوع دوم (سمت راست).



شکل ۲ - شکل کلنی های *L. اسیدوفیلوس* یا *بیفیدوباکتریوم* در شرایط بی هوازی.



شکل ۳ - شکل کلنی های *L. کازئی* در شرایط هوازی یا بی هوازی.