

بررسی اثر تخمیر لاکتیکی (لاکتوباسیلوس پلانتاروم) در میکروارگانیسم های خیارهای تخمیری

معصومه کشته گر

دانشجوی دکترای مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده:

تاریخچه مقاله:

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۰۲/۱۰

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۱/۰۲/۲۰

تاریخ انتشار مقاله: ۱۴۰۱/۰۴/۰۱

واژگان کلیدی: لاکتوباسیلوس پلانتاروم، خیارهای تخمیری، جمعیت میکروبی

تخمیر خیار یک فرآیند طبیعی می باشد که میکروارگانیسم های آن در کیفیت محصول موثرند و در این محصول گونه های متعلق به گروه لاکتوباسیلوس پلانتاروم دارای مزیت های بسیاری برای فرآیند تخمیر می باشند. در این بررسی برای تولید محصولی ایمن و یکنواخت، خیارهای بومی در محلول های آب نمک ۵ و ۷٪ کلرید سدیم تحت شرایط بدون تلقیح و نیز 4×10^6 ، 4×10^7 ، $6 \times 10^8 \frac{cfu}{ml}$ ماده تلقیح از گونه خاص لاکتوباسیلوس پلانتاروم قرار داده شده و سپس جمعیت میکروبی برای پانزده روز تخمیر در دمای محیط و سی روز انبار در دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس با استفاده از آنالیز واریانس در سطح اطمینان ۹۵٪ بررسی شده است. در این بررسی، در روز نهم تخمیر نمونه هایی با میزان تلقیح بالا ($6 \times 10^8 \frac{cfu}{ml}$) و دارای ۵٪ محلول کلرید سدیم بیشترین میزان جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتاروم ($8/57 \log_{10} \frac{cfu}{ml}$) را نشان داده اند. اما با میزان تلقیح بیشتر و غلظت نمک ۷٪ حداقل میزان مخمر و مزوفیل هوازی در نمونه ها مشاهده شده است. در طول انبار، جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتاروم، مخمرها و مزوفیل- های هوازی در دمای ۲۵ درجه بالاتر از دمای ۴ درجه سلسیوس بوده است اما تغییر مهم در روز سی ام انبار مشاهده شده است که میزان لاکتوباسیلوس پلانتاروم ($5/47 \log_{10} \frac{cfu}{ml}$) در محلول نمک ۷٪ و دمای ۴ درجه سلسیوس با شرایط رقابتی کمتر و محیطی مناسب نسبت به دیگر میکروارگانیسم ها بالاتر بوده است. بنابراین در این بررسی با رشد مناسب لاکتوباسیلوس پلانتاروم و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها بالاتر بوده است. بنابراین در این بررسی با رشد مناسب لاکتوباسیلوس پلانتاروم و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم های بیماری زا و غیر بیماری زا در نمونه های تلقیح شده، محصولی ایمن و یکنواخت تولید شده است.

مقدمه:

برای این بررسی ، ۱۵ کیلوگرم خیار از گونه های آلفا به رنگ سبز روشن و ترد خریداری شدند و بعد از شستشو با آب شهری ، داخل ۲۴ عدد شیشه های ۳۵۰ گرمی قرار گرفتند. سپس روی آن ها محلول آب نمک ۵٪ و ۷٪ وزنی - حجمی با استفاده از نمک معدنی کلرید سدیم (خلوص ۹۹٪) و pH حدود ۴٪ با استفاده از سرکه خوراکی ۰,۲ نرمال ریخته شد. لازم به ذکر است که محلول های آب نمک با pH اسیدی در ۷۳ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه و بعد از سرد شدن تا دمای ۳۰ سلسیوس ، داخل شیشه ها به میزان ۳۰۰ تا ۳۵۰ میلی لیتر ریخته شدند.

ب) آماده سازی ماده تلقیح

سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم مورد استفاده از نمونه خیارشورهای محلی جداسازی و با روش PCR با پرایمرهای LPL-1/LPL-2 شناسایی شده و در تیوب های گلیسرینه در ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شده بود. برای انجام آزمایش ابتدا دو عدد از تیوب گلیسرینه باکتری مورد نظر در ۲۰ میلی لیتر محیط کشت MRS مایع استریل فعال سازی و در ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرم خانه گزاری شد. بعد از مشاهده رشد و فعال شدن گونه مورد نظر ، با سانتریفوژ کردن محیط کشت دو فاز مایع و جامد از هم جدا شدند و رسوبات باقی مانده به ۱۵۰ میلی لیتر محلول آب نمک استریل ۴,۵٪ (وزنی- حجمی کلرید سدیم) با pH حدود ۴ منتقل شدند. pH محلول با سرکه خوراکی تنظیم شد. سپس نمونه ورتکس و در ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرم خانه گزاری شد [1,2].

ج) تلقیح باکتری به نمونه ها

همه نمونه های خیار آماده شده با دو نوع محلول آب نمک تحت ۴ نوع تیمار که هر کدام در ۶ عدد شیشه قرار گرفتند که شامل (a) تخمیر بدون تلقیح (b) تخمیر با $4 \times 10^6 \frac{cfu}{ml}$ (c) تخمیر با $4 \times 10^7 \frac{cfu}{ml}$ و (d) تخمیر با $6 \times 10^8 \frac{cfu}{ml}$ ماده تلقیح بودند. بعد از آماده سازی شیشه های خیار ، تلقیح و درب بندی تحت شرایط استریل انجام گرفت و سپس نمونه ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس

سبزیجات تخمیر شده به دلیل حضور اسید لاکتیک از جمله محصولات ایمن می باشند اما مواد خام آن ها می توانند به راحتی با باکتری های بیماری زا مانند اشرشیاکولی و لیستریا منوسیتوژنز آلوده شوند. به طور کلی تخمیر خیار یک فرآیند طبیعی می باشد که از رقابت باکتری های لاکتیکی ، مخمرها و نیز دیگر میکروارگانیسم ها نتیجه می یابد. در یک تخمیر طبیعی وجود باکتری های لاکتیکی و مخمرها می توانند ویژگی های محصول نهایی را تعیین کنند، بنابراین هنگامی که باکتری های لاکتیکی نسبت به مخمرها افزایش یابند تخمیر اسیدلاکتیک برای تولید یک محصول با pH پایین مطلوب می شود که این اتفاق برای یک محصول تخمیر شده به صورت طبیعی لازم است [1]. در بررسی های انجام شده روی سویه های مختلف باکتری های لاکتیکی مشخص شده است که این سویه ها می توانند اسیدهای آلی و باکتریوسین ها را ایجاد و با میکروب های آلوده کننده رقابت کنند. یکی از سویه های مهم باکتری های لاکتیکی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم می باشد که در بررسی آب نمک محصولات تخمیری مشاهده شده است که می تواند فعالیت کند و در نتیجه اسیدلاکتیک مورد نیاز برای حفاظت محصولات را تولید نماید. علاوه بر آن استفاده از کشت های مناسب لاکتوباسیلوس- پلانتاروم می تواند تولید اسید لاکتیک را افزایش دهد و کنترل میکروبی فرآیند را بهبود بخشد. کشت های استارتر استفاده شده در تخمیر سبزیجات می توانند در به دست آوردن یک فرآیند کنترل شده کمک کنند و بسیاری از عملیات های سنتی را برای رسیدن به اهداف اقتصادی گسترش دهند. به دلیل عدم استفاده از کشت های استارتر در محصولات تخمیری در ایران هدف از این مطالعه ارزیابی اثر کشت استارتر لاکتوباسیلوس پلانتاروم انتخاب شده بر روی ویژگی های میکروبی خیار تخمیر شده ایرانی می باشد [2].

مواد و روش ها :

الف) آماده سازی نمونه های خیار

لیتر از نمونه های آب نمکی بر روی سطح محیط انتخابی برد پارکر آگار کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرم خانه گزاری شدند. برای بررسی گونه ویبریو نیز ۰,۱ میلی لیتر از نمونه های آب نمکی بر روی سطح محیط TCBS آگار کشت و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برای ۲۴-۴۸ ساعت گرم خانه گزاری شدند [3].

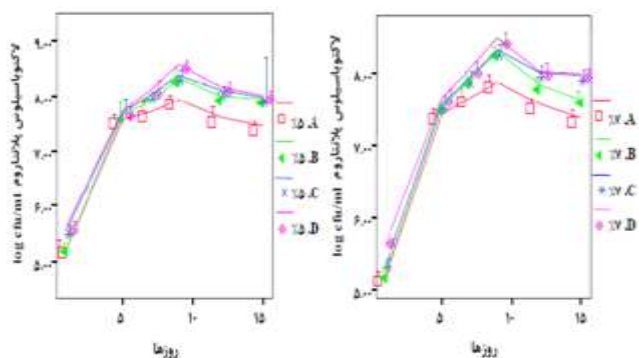
ه) آنالیز آماری

همه آنالیزها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 11/5 انجام گرفت. آنالیز واریانس برای بررسی کلی میزان اختلاف و دانکن برای بررسی اختلاف در میان تیمارها در سطح اطمینان ۹۵٪ مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها :

الف) تغییرات میکروبی در طول تخمیر

به طور کلی تغییرات میکروبی در طول تخمیر در نمودار ۱ ارائه شده است. بر اساس آنالیز واریانس اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵٪ در بین نمونه ها از نظر میزان جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتراروم ($p < 0.05$) در طول تخمیر وجود داشته است



نمودار ۱- تغییرات جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتراروم در طول تخمیر در نمونه ها با ماده تلقیح متفاوت در دو نوع محلول نمک ۵ و ۷٪

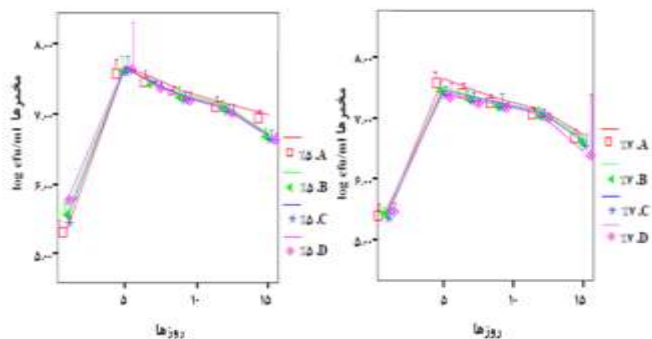
گرم خانه گذاری شدند. شمارش کل باکتری های مزوفیل هوازی ، مخمر و باکتری های لاکتیکی در طی پانزده روز تخمیر و جمعیت باکتری های بیماری زا در پایان روز تخمیر بررسی شدند. بعد از تکمیل تخمیر ، ۳٪ محلول نمک (وزنی - حجمی کلرید سدیم) به بهترین نمونه های مورد نظر اضافه شدند و سپس تعداد باکتری های لاکتیکی ، مخمر و مزوفیل های هوازی این نمونه ها در دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس در طول سی روز از انبار بررسی شدند.

د) آنالیز میکروبی در طی تخمیر

آنالیز میکروبی در نمونه های آب نمک یک روز بعد از تلقیح شروع و در طی ۱۵ روز تخمیر انجام شدند. برای این کار ۱ میلی لیتر از محلول آب نمک هموزن شده از تیمارهای مختلف تحت شرایط استریل به ۹ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه شد و رقت سازی اعشاری در محلول رقیق کننده انجام گرفت. ۰,۱ میلی لیتر از نمونه های رقیق شده به طور سطحی بر روی محیط های MRS آگار طبق روش های زیر کشت داده شد :

روش کشت سطحی با پخش ۰,۱ میلی لیتر از محلول آب نمک رقیق شده بر روی محیط کشت MRS آگار برای شمارش باکتری- های زنده لاکتیکی در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت ، محیط سابروز دکستروز آگار برای شمارش سلول زنده کپک و مخمر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت و محیط نوترینت آگار (NA) برای شمارش کل سلول های مزوفیل هوازی در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت انجام شدند. بعد از گذشت ۱۵ روز از تخمیر ، حضور لیستریامونوسیتوزنز طبق روش زیر مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی باکتری لیستریامونوسیتوزنز بدون تهیه رقت ، حدود ۰,۵ میلی لیتر از آب نمک نمونه های تخمیر شده به محیط مایع غنی کننده لیستریا اضافه و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت گرم خانه گزاری شدند. سپس ۰,۱ میلی لیتر از این محیط مایع بر روی محیط انتخابی لیستریا به طور سطحی کشت داده شدند و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرم خانه گزاری شدند. برای بررسی استافیلوکوکوس اورئوس نیز ۰,۱ میلی

بعد از این روز کاهش آهسته مخمرها در طی تخمیر مشاهده شده است. در روز نهم میزان جمعیت مخمرها در نمونه های d دارای ۷٪ محلول نمک کمتر از نمونه های دارای ۵٪ محلول نمک با تلقیح یکسان بوده است (جدول ۱). در این روز بر اساس دانکن اختلافی در نمونه های c,d دارای ۵٪ محلول نمک با نمونه های b و c دارای ۷٪ محلول نمک وجود نداشته است. به طور کلی نمونه بدون تلقیح در محلول ۵٪ نمک بالاترین میزان مخمر را در طول تخمیر نشان داده است. از روز دوازدهم تا پانزدهم کاهش مخمرها با سرعت تقریباً بیشتری انجام شده است. در طول تخمیر در هیچ کدام از نمونه ها، کپکی مشاهده نشده است [3,4].



نمودار ۲- تغییرات جمعیت مخمرها در طول تخمیر در نمونه ها با ماده تلقیح متفاوت در دو نوع محلول نمک ۵ و ۷٪

میزان باکتری های مزوفیل هوازی بر روی محیط کشت نوتریت آگار بر طبق آنالیز آماری اختلاف معنی داری را در طول تخمیر داشته است. در روز اول به طور کلی جمعیت باکتری های مزوفیل هوازی در همه تیمارها کمترین میزان کمترین میزان جمعیت را در طول روزهای تخمیر به خود اختصاص داده اند. در روز نهم نمونه های c,d کمترین میزان باکتری مزوفیل را نسبت به بقیه تیمارها داشته اند و نمونه b دارای ۷٪ محلول نمک باکتری مزوفیل کمتری را نسبت به نمونه های c و d دارای ۵٪ محلول نمک نشان داده است (جدول ۱). در این روز نمونه های بدون تلقیح در محلول ۷٪ و ۵٪ نمک بالاترین میزان باکتری مزوفیل را داشته اند. صرف نظر از میزان محلول اولیه نمک، هرچه میزان تلقیح بالاتر باشد میزان باکتری مزوفیل کمتر بوده است. بیشترین میزان جمعیت باکتری مزوفیل در

صرف نظر از غلظت محلول نمک، نمونه های نوع d بیشترین میزان لاکتوباسیلوس پلانتاروم را داشته اند. به ترتیب در نمونه های a,b,c,d موجود در ۵٪ محلول نمک جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتاروم بیشتری نسبت به نمونه های موجود در ۷٪ محلول نمک وجود داشته است. در مورد نمونه های a,b,c,d دارای ۷٪ محلول نمک میزان جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتاروم با سه بار تکرار در کل نسبت به نمونه های دارای ۵٪ محلول نمک با میزان تلقیح یکسان کمتر می باشد که این تغییرات در روز نهم قابل توجه و دارای اختلاف معنی داری بوده است (جدول ۱). در بین تغییرات در طی روزهای تخمیر در کل نمونه های c و d بیشترین میزان جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتاروم را داشته اند و از روز هفتم تا پانزدهم صرف نظر از میزان نمک، نمونه های دارای مقدار تلقیح بیشتری میزان لاکتوباسیلوس پلانتاروم بالاتری را نسبت به بقیه تیمارها داشته اند که از این نظر نمونه های d موجود در ۵٪ محلول نمک میزان لاکتوباسیلوس پلانتاروم آن ها از نمونه های دارای ۷٪ محلول نمک بالاتر بوده است. همین ترتیب را در تیمارهای با ماده تلقیح یکسان نیز مشاهده می کنیم [4].

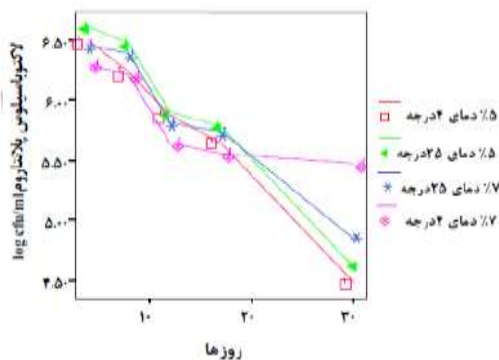
میکروارگانیسمها	%a - d	%b - c	%b - c	%a - d	%b - c	%b - c	%a - d
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	8.48±0.006 ^a	8.32±0.006 ^a	8.30±0.005 ^a	7.88±0.003 ^a	8.57±0.005 ^a	8.38±0.006 ^a	8.32±0.005 ^a
مخمرها	7.05±0.005 ^a	7.07±0.005 ^a	7.25±0.005 ^a	7.30±0.005 ^a	7.24±0.005 ^a	7.25±0.006 ^a	7.28±0.006 ^a
مزوفیل های هوازی	6.34±0.005 ^a	6.94±0.006 ^a	7.05±0.005 ^a	7.30±0.006 ^a	7.11±0.005 ^a	7.14±0.006 ^a	7.08±0.005 ^a

* تیمارهای مختلف با میزان درجه نمک استفاده شده در محلول ها با سطح معنی داری ۵٪

جدول ۱- بررسی میزان جمعیت میکروبی (log10 cfu/ml) در تیمارهای مختلف در روز نهم تخمیر

میزان مخمرها بر روی محیط کشت سابروز دکستروز آگار با توجه به رقت های تهیه شده از هر تیمار بر طبق آنالیز آماری اختلاف معنی داری را در طول یک روز مشخص از تخمیر داشته اند. از روز اول تا روز پنجم تخمیر، جمعیت مخمرها در همه تیمارها افزایش یافته است و

هر تیمار در روزهای انبار در دو دمای مختلف، کاهش در جمعیت لاکتوباسیلوس- پلانتاروم را نشان داده اند که این کاهش در تیمارها از روز هفدهم تا سی ام، به جز در محلول نمک ۷٪ در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت بیشتری انجام شده است [3,5].



نمودار ۴- تغییرات لاکتوباسیلوس پلانتاروم در طول انبار در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس در دو نوع محلول نمک ۵ و ۷٪

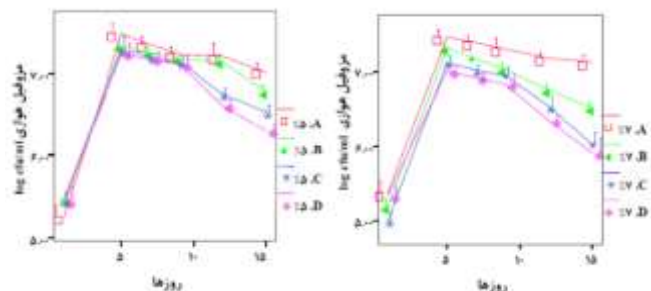
جدول ۲- میزان جمعیت میکروبی ($\log_{10} \text{cfu/ml}$) در تیمارهای با تلقیح بالا در روز سی ام انبار

میکروارگانیسم ها	$5-4^{\circ}\text{C}$	$5-25^{\circ}\text{C}$	$7-25^{\circ}\text{C}$	$7-4^{\circ}\text{C}$
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	$4/48 \pm 0.006^{\text{a}}$	$4/61 \pm 0.006^{\text{b}}$	$4/85 \pm 0.003^{\text{b}}$	$5/47 \pm 0.003^{\text{c}}$
مخمرها	$5/33 \pm 0.006^{\text{c}}$	$5/52 \pm 0.003^{\text{d}}$	$5/21 \pm 0.006^{\text{d}}$	$4/99 \pm 0.006^{\text{e}}$
مزوفیل های هوازی	$5/11 \pm 0.003^{\text{c}}$	$5/28 \pm 0.003^{\text{d}}$	$5/03 \pm 0.004^{\text{d}}$	$4/96 \pm 0.003^{\text{e}}$

* تیمارها با تلقیح بالا در دو غلظت نمک و در دو دمای مختلف

در بررسی مخمرها بر طبق آنالیز آماری اختلاف معنی داری در تیمارهای مختلف مشاهده شده است. به طور کلی در هر غلظت محلول نمک، نمونه های انبار شده در دمای ۴ درجه سلسیوس تعداد مخمر کمتری را داشته اند (جدول ۲). بررسی باکتری های مزوفیل هوازی همانند بررسی مخمرها، بر طبق آنالیز واریانس اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) را در تیمارهای مختلف نشان داده اند و به طور کلی نمونه های انبار شده در دمای ۴ درجه سلسیوس تعداد باکتری های مزوفیل هوازی کمتری را داشته اند.

همه تیمارها در روز پنجم ($\log_{10} \text{cfu/ml}$ 7/01 - ۷/۴۸) مشاهده شده است که در ادامه در روزهای بعدی تخمیر میزان این جمعیت در روز پانزدهم کاهش یافته است.



نمودار ۳- تغییرات جمعیت مزوفیل هوازی در طول تخمیر در نمونه ها با ماده تلقیح متفاوت در دو نوع محلول نمک ۵ و ۷٪

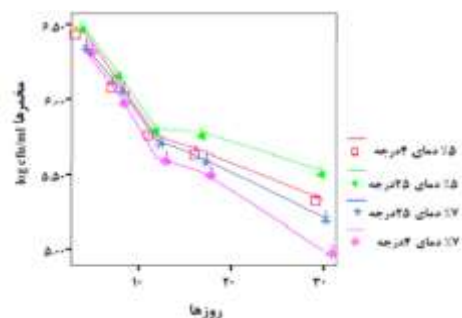
ب) میزان باکتری های بیماری زا در نمونه های تخمیر شده

در این بررسی در همه ظروف خیارهای تخمیر شده به همراه تلقیح و یا بدون تلقیح بعد از روز پانزدهم تخمیر، سطوح قابل تعیین لیستریا منوسیتوزنز، استافیلوکوکوس اورئوس و ویبریو بر روی سطح پلیت ها مشخص نشد و رشد سلولی مورد مشاهده قرار نگرفت.

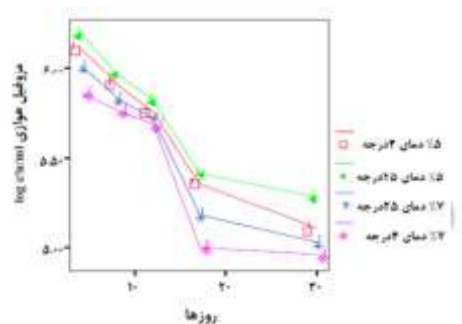
ج) تغییرات میکروبی در طول انبار

میزان تغییرات میکروبی در طول سی روز انبار در دو دمای مختلف در نمودار ۴ ارائه شده است. در بررسی لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر طبق آنالیز واریانس اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵٪ در تیمارهای مختلف در طول انبار در دو دمای مورد نظر مشاهده شده است. در روز چهارم در غلظت نمک برابر، نمونه های انبار شده در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بالاترین میزان لاکتوباسیلوس پلانتاروم را نسبت به دمای ۴ درجه سلسیوس داشته اند. بالاترین جمعیت لاکتوباسیلوس پلانتاروم در محلول نمک ۵٪ و در ادامه در محلول نمک ۷٪ در دمای ۲۵ و ۴ درجه سلسیوس بوده است و در روز سی ام انبار تفاوت بزرگ نسبت به روزهای دیگر انبار نمونه های دارای ۷٪ محلول نمک در دمای ۴ درجه سلسیوس بوده اند که میزان لاکتوباسیلوس پلانتاروم بالاتری را داشته اند (جدول ۲). به طور کلی

کرده است که علاوه بر این تحقیق، افزایش رشد سریع کشت های استارتر و نیز لاکتوباسیلوس پلانتاروم در آب نمک نمونه های زیتون نیز مشاهده شده است که مشابه این تحقیق تعداد آن ها بیشتر از نمونه های بدون تلقیح بوده است. نمونه های دارای ۵٪ محلول نمک داشته اند که همان طور که در تحقیقات دیگر نیز بیان شده است غلظت نمک بالا اثر موثری را روی کاهش رشد میکروارگانیسم های نامناسب داشته است. در مورد اثر میزان تلقیح بالا روی جمعیت مخمرها در این تحقیق روی خیارشور و در تحقیقات قبلی روی زیتون نیز مشخص شده است که در نمونه های بدون تلقیح در اصل تخمیر توسط مخمرها انجام شده است به جز در نمونه های دارای اسیدپتیه بالا که محیط برای تخمیر توسط باکتری های لاکتیکی مناسب شده است که در این میان می توان به نقش بسیار مهم باکتری های لاکتیکی در محدود کردن اثرات منفی مخمرهای فساد بر روی کیفیت محصول اشاره کرد. کاهش در مقدار pH و افزایش باکتری لاکتیکی به جلوگیری از فعالیت دیگر میکروارگانیسم های موجود نیز کمک می کند که در تحقیقات دیگر مزوفیل هوازی از روز دوم تخمیر و در این تحقیق از روز پنجم کاهش یافته است. تلقیح نژاد لاکتوباسیلوس- پلانتاروم در ابتدا از جمعیت لاکتوباسیل های وحشی جلوگیری کرده و به عنوان جمعیت اصلی تا انتهای تخمیر باقی مانده است که مشابه این نتایج در تحقیقات دیگر علاوه بر جمعیت لاکتوباسیل های وحشی برای رشد کوکسی ها نیز مشاهده شده است. در این تحقیق رشد مناسب باکتری لاکتیکی توانسته است از رشد باکتری های بیماری زا جلوگیری کند. همان طور که در تحقیقات دیگر مشخص شده است لیستریا منوسیتوژنز یک میکروارگانیسم بیماری زا در محصولات غیر اسیدی نگهداری شده در یخچال و نیز در تخمیر آب خیار می باشد و در بعضی از سبزیجات تخمیری مانند زیتون سبز، با وجود pH پایین و غلظت نمک بالا این باکتری نیز وجود داشته است. علاوه بر آن در تحقیقات دیگر فعالیت باکتری بیماری زا مانند ویبریو فقط در ابتدای تخمیر تعیین شده است که در این میان می توان بیان کرد که pH پایین و محیط بی هوازی برای بقای این آلودگی مناسب نمی باشد. مقدار جمعیت اولیه باکتری های لاکتیکی، مقاومت نمک و اسید و تولید باکتریوسین توسط آنها سبب مقاومت این باکتری ها در



نمودار ۵- تغییرات مخمرها در طول انبار در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس در دو نوع محلول نمک ۵ و ۷٪



نمودار ۶- تغییرات باکتری مزوفیل هوازی در طول انبار در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس در دو نوع نمک ۵ و ۷٪

بحث و نتیجه گیری :

در بررسی تغییرات میکروبی در طول تخمیر می توان گفت که در این تحقیق در حقیقت گونه های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در نمونه های تلقیح شده دارای غلظت نمک ۵٪، فعالیت بیشتری را نشان داده است. هرچند که در بررسی های دیگر، فعالیت این باکتری در غلظت نمک بین ۵ تا ۱۰٪ نیز بیان شده است. غلظت نمک به طور غالب و در ادامه مقدار تلقیح اثر موثر خود را روی میزان رشد لاکتوباسیلوس پلانتاروم نشان داده اند که جمعیت سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم تلقیح شده بخش مهمی از کل جمعیت باکتری های لاکتیکی بوده و تا انتهای فرآیند حضور داشته است که نتایج مشابه نیز توسط محققان دیگر به دست آمده است. کشت استارتر استفاده شده در این مطالعه تعداد بالای سلول باکتری لاکتیکی را در حین تخمیر و انبار ضمانت

انبار کاهش یابد. به طور کلی می توان گفت که برای کنترل تخمیر خیارها، استفاده از غلظت نمک ۷٪ کلرید سدیم، اصلاح pH اولیه ملایم با اسید استیک و تلقیح تعداد زیاد لاکتوباسیلوس پلانتاروم می تواند سبب کاهش جمعیت مخمرها و مزوفیل های هوازی و در نتیجه تولید محصولی ایمن شود [2,3,5].

منابع:

1. Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R. and Galvez, R. (2015). Culture Study of the Diversity of Microbial Populations in brines during fermentation of naturally- fermented alorena green table olives. International journal of food microbiology, 144: 487-496.
2. Bautista- Gallego, j., Arroyo-Lopez, F.N., Duran – Quintana, M.C. and Garrido-fernandez, A. (2014). Fermentation Profiles of Manzanilla-alorena Cracked Green table olives in different chloride salt mixtures. Food microbiology, 27: 403-412.
3. Charalampopoulos, D. and Pandiella, S.S. (2011). Survival of human derived Lactobacillus Plantarum in fermented cereal extracts during refrigerated storage. LWT-food science and technology, 43: 431-436.
4. Ozay, G. and Borcakli, M. (1995). Effect of Brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally black olives. food research international, 28: 553-559.
5. Todorov, S.D. and Dicks, L.M.T. (2005). Lactobacillus Plantarum isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram-negative bacteria. Enzyme and microbial technology, 36: 318-326.

سبزیجات تخمیری در جلوگیری از فعالیت باکتری های بیماری زا شده است. وجود میزان زیاد لاکتوباسیلوس پلانتاروم در این تحقیق توانسته است از رشد استافیلوکوکوس اورئوس نیز جلوگیری نماید همانطور که در تحقیقات دیگر لاکتو باسیلوس پلانتاروم ایزوله شده از سبزیجات تخمیری بومی توانایی فعالیت ضد میکروبی را درمقابل استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده است. تولید پلانتاریسین توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم یکی دیگر از عواملی است که در کنترل موثر لاکتوباسیل های ذاتی و دیگر میکروارگانیسم ها شرکت می کند. در یک بررسی روی سوبه های خاص لاکتوباسیلوس پلانتاروم نیز مشخص شده است که بیشترین میزان باکتریوسین در مقابل گرم منفی ها بعد از ۱۹ ساعت در محیط کشت حاوی MRS بوجود آمده است [4,5].

در طول انبار جمعیت مخلوط باکتری لاکتیکی بویژه لاکتوباسیلوس و مخمرها در غلظت کلرید سدیم کمتر از ۷٪ با میزان بیشتری وجود داشته اند که مشابه با تحقیقات دیگر در محصول تخمیری با تسلط مخمرها، pH محصول می تواند افزایش یابد. علاوه بر آن به دلیل دمای بهینه رشد مخمرها در ۲۵ درجه سلسیوس، نمونه های موجود در هر دو محلول نمک در دمای ۴ درجه سلسیوس، جمعیت مخمر و مزوفیل هوازی کمتری را نسبت به ۲۵ درجه سلسیوس داشته اند. محققان دیگر کاهش در حدود $6 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ را برای بعضی از گونه های مخمر در طول ۹۰ روز انبار در ۴ درجه سلسیوس و تعداد اسیدلاکتیک باکتری را در حدود $9 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ در مدت ۷۲ ساعت اول در سبزیجات تخمیری و سپس کاهش آن به $1 \log_{10} \text{ cfu/ml}$ در طول ۹۰ روز انبار در ۴ درجه سلسیوس را گزارش داده اند. پروفایل بقاء لاکتوباسیلوس پلانتاروم در عصاره های جو و گندم انبار شده در ۴ درجه سلسیوس برای بیش از ۷۰ روز نیز مشخص شده است که سطوح اسید لاکتیک در غذاهای تخمیری، روی پایداری اسیدی لاکتوباسیل موثر است و وجود میزان بالاتر و مناسب اسیدلاکتیک می تواند سبب بقاء سلول لاکتیکی در ۴ درجه سلسیوس شود. در تخمیر سنتی مخمرها فوراً در ابتدای آب نمک زنی مشخص نمی شوند و در طول انبار افزایش آنها مشاهده می شود اما کلرید سدیم و اسیدیته می توانند سبب ایجاد مقدارهای مینیمم آن ها شوند و علاوه بر آن تعداد مخمرها به علت کاهش مواد در دسترس در طی