تهیه خیار شور پروبیوتیک با استفاده از سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم بومی

سارا رجبلو[a]، انوشه شریفان[b]، مهدی امین افشار[c]، حسین جمالی فر[d]، محمد رضا فاضلی[*e]

[a] کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[b] استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[c] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[d] کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
[e] استاد گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱۲/۲۳

چکیده

مقدمه: پروبیوتیکها میکروارگانیسم های مفیدی هستند که مانع از رشد باکتریهای مضر سیستم گوارشی می‌گردند. خیار شور نیز بطور گسترده ای در فست فودهای ایران استفاده می‌گردد. هدف از این تحقیق تهیه خیارشور پروبیوتیکی با استفاده از سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم بومی با خواص حسی مطلوب می‌باشد.

مواد و روش ها: خیار شور تولیدی در pH ها و غلظت های مختلف نمک با آغازگر و بدون آغازگر پروبیوتیکی تهیه شد. سرکه بعنوان عامل اسیدی استفاده شد و تعداد باکتریهای پروبیوتیک تولید شده و خواص حسی بعد از ۱۵ روز گرمخانه گذاری در دمای محیط ارزیابی گردید. ارزیابی حسی خیار شور پروبیوتیک تولیدی با مقیاس ۵ طبقه ای انجام شد.

یافته ها: باکتری جداسازی شده از خیار شور با استفاده از آزمایشات بیوشیمیایی متداول بعنوان لاکتوباسیلوس پلانتاروم تایید شد. رشد باکتری پروبیوتیکی در میزان ۵-۱ ٪ نمک مطلوب بود. درحالیکه در غلظت نمک ۱۰٪ زنده مانی باکتری کاهش یافته بود. همچنین سلولهای باکتریایی در pH= ۳ رشدشان متوقف گردید. در حالیکه در pH، ۵ و ۷ تعداد سلولهای باکتری ها به 10^8 cfu/ml رسید. طعم در هر دو خیار شور پروبیوتیک و خیارشور سنتی ایرانی مورد قبول واقع شد.

نتیجه گیری: خیارشوری با استفاده از لاکتوباسیلوس های بومی با زنده مانی بالای باکتری پروبیوتیکی و خواص حسی مطلوب می توان تهیه نمود.

واژه های کلیدی: *خصوصیات حسی، خیار شور پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس*

* نویسنده مسئول مکاتبات email:mofazeli@yahoo.com

jftn.srbiau.ac.ir

مقدمه

محیط گوارشی بدن انسان، کمپلکس پیچیده‌ای از میکروارگانیسم‌های مختلف است. فلور میکروبی سیستم گوارش را می‌توان در سه گروه تقسیم بندی کرد: میکروارگانیسم‌های مضر، مفید و بی‌تأثیر در سلامت انسان. بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیل‌ها، در دسته باکتریهای مفید و لیستریا، سالمونلا، گونه های خاص اشرشیاکلی، کلستریدیوم، پروتئوس و انواعی از باکتروئیدها در دسته باکتریهای مضر قرار می‌گیرند. باکتریهای مضر با تولید ترکیبات سمی از مواد غذایی مصرفی، باعث ایجاد مشکلات خاص گوارشی مانند اسهال می‌شوند (Fuller, 1991).

میکرو فلور دستگاه گوارشی افراد بالغ و بزرگسال، تقریباً متعادل است اما با افزایش سن و کاهش معنی‌دار تعداد باکتریهای مفید و افزایش باکتریهای مضر، این تعادل دستخوش تغییر می‌شود، به نحوی که باعث بروز بیماریهای گوارشی در سالمندان می‌شود. تحقیقات نشان داده است مصرف باکتریهای پروبیوتیک، می‌تواند تعادل میکروفلور سیستم گوارش را به سمت باکتریهای مفید و در نتیجه خنثی سازی اثرات نامطلوب باکتریهای مضر، متمایل سازد (Goktepe *et al*., 2005). مطابق تعریف مشترک سازمان بهداشت جهانی و سازمان جهانی غذا و کشاورزی در سال ۲۰۰۱ "پروبیوتیکها میکروارگانیسمهای زنده ای هستند که تجویز مقادیر کافی آنها موجب بروز اثرات مفید بر سلامت میزبان می‌شود". (Hatting and Viljoen, 2001) میزان بهینه حضور کلونی‌های باکتریایی پروبیوتیکی را $۱۰^{۶}$ الی $۱۰^{۸}\times ۵$ در هر گرم ماده غذایی دانسته اند. باکتریهای پروبیوتیک علاوه بر بهبود اختلالات گوارشی، دارای اثرات درمانی مهم دیگری نیز هستند که عبارت است از: کاهش سطح کلسترول خون، اثرات ضد سرطانی، بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن، کاهش اثرات جانبی مصرف آنتی بیوتیک‌ها، افزایش جذب ویتامین‌ها و مواد معدنی در دستگاه گوارش و کاهش مشکل عدم تحمل لاکتوز در افراد مبتلا (Goktepe *et al*., 2005).

در سالهای اخیر تحقیقات زیادی در زمینه تولید مواد لبنی پروبیوتیک(Martin-Diana *et al*., 2003; Oeuret and Dubernet., 2004)، آب میوه ها (Yoon *et al*., 2004; Fazeli *et al*., 2007) ، فراورده های تخمیری پروبیوتیک محصولات جالیزی چون کلم، کدو و لوبیا سبز (Dicagno *et al*., 2008) و زیتون پرورده (ابراهیم، ۱۳۸۶) و تاثیرات آنها بر کاهش رشد میکرو ارگانیسم‌های بیماریزای دستگاه گوارش انجام شده است. همچنین با اثبات حضور چهار گونه از باکتریهای اسید لاکتیک شامل لکونستوک مزنتریدس، لاکتوباسیلوس برویس، پدیوکوکوس پنتوسئوس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم در طی تخمیر ابتدایی خیارشور (Dicagno *et al*., 2008)، تحقیقات در مورد فرآوری خیارشورهای پروبیوتیک و تاثیرات شگرف درمانی آن، در کشورهای صنعتی مورد توجه خاصی قرار گرفته است (Breidt and Fleming, 1997; Breidt *et al*., 2007; Con and Karasu, 2009)، در حالیکه در ایران علیرغم سابقه بلند مدت مصرف خیار شور و وجود بازار مصرف مناسب و مطمئن برای تولید خیار شور پروبیوتیک، تحقیق مشخصی در این زمینه انجام نشده است. در تحقیق حاضر،اقدام به بررسی فرآوری خیار شور پروبیوتیک با استفاده از لاکتوباسیلوس‌های بومی و تعیین میزان مقاومت باکتری‌های پروبیوتیکی در محیط های با غلظت‌های متفاوت نمک و اسید گردید. همچنین، مقایسه خصوصیات ارگانولپتیکی (حسی) خیارشورهای پروبیوتیک تولیدی و خیارشور معمولی، بمنظور آزمون میزان مطابقت خیارشورهای پروبیوتیک تولیدی با ذائقه مصرف کننده ایرانی انجام گردید.

مواد و روش ها

- جدا سازی، شناسایی و کشت سویه پروبیوتیک از خیار شور

چهار نمونه خیار شور تولیدی توسط شرکتهای مختلف غذایی و یک نمونه خیار شور خانگی انتخاب و به آزمایشگاه پروبیوتیک گروه کنترل غذا و دارو دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال گردید. برای جداسازی لاکتوباسیلوس‌ها، نمونه های مختلف خیار شور در ارلن های حاوی ۵۰ cc محیط کشت MRS Broth، کشت داده و به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ °C به صورت بی هوازی اختیاری (O_2 ۶٪، میکروآئروفیل) گرمخانه گذاری شد.

پس از رشد میکروارگانیسم، نمونه دارای کدورت انتخاب و به محیط MRS آگارمنتقل گردید تا کلنی تک از میکروارگانیسم بدست آید. سپس با استفاده از آزمون‌های تخمیر قندی، آزمایش کاتالاز، حرکت، تولید سولفید هیدروژن و رنگ آمیزی گرم شناسایی شدند.

ift.srbiau.ac.ir

سپس کلیه سویه های خالص درون ویالهای حاوی PBS- گلیسرول (فسفات بافر سالین+گلیسرول) آماده و در فریزر ۸۰- °C نگهداری شدند. برای مصرف روزانه، باکتریها در محیط کشت Slant و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور کشت گردیده و سپس در دمای ۴ °C نگهداری شدند.

- آماده سازی باکتری پروبیوتیک به منظور بررسی رشد باکتری در درصدهای مختلف نمک طعام و pH

به منظور بررسی تاثیر نمک طعام و اسید بر رشد لاکتوباسیلوس های جدا شده از خیار شور ۴-۵ کلنی یکدست از کشت ۲۴ ساعته سویه موردنظر به محیط کشت اختصاصی آنها MRS براث تلقیح و در دمای ۳۷°C گرمخانه گذاری شد. سپس ۵ ml از کشت ۲۴ ساعته به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و مایع رویی دور ریخته شد. رسوب حاصل دو بار به وسیله سرم فیزیولوژی استریل شسته و پس از سانتریفوژ مجدد، سوسپانسیون میکروبی تهیه شد. سوسپانسیون تهیه شده ابتدا رقیق شده و ۱ ml از آن به ارلن مایرهای حاوی ۱۰۰ ml محیط کشت MRS براث با غلظتهای مختلف نمک طعام (۱ ،۳ ، ۵ ،۷ ،۱۰درصد وزنی حجمی) و اسید استیک گلاسیال (pH = ۳، ۵ ،۷) تلقیح شد تا به تعداد نهایی 10^4cfu/ml در هر ارلن رسید. ارلن ها در دمای ۲۰°C به مدت ۱۵ روز قرار گرفت. سپس هر سه روز یکبار میزان رشد لاکتوباسیلوس در سه تکرار مستقل، مطابق روش شمارش در پلیت تعیین شد.

- تهیه خیار شورهای پروبیوتیک و غیرپروبیوتیک (معمولی)

همچون روش سنتی و معمول، مقادیری خیار یک اندازه و یک شکل در شیشه‌های در بسته حاوی آب نمک (نسبت۳:۱۰۰ نمک به آب) به مدت ۱۵ روز قرار داده شد. خیار شورهای پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک، شامل خیار شورهای دارای سرکه و باکتری (BV)،[1] خیار شورهای بدون سرکه و دارای باکتری (BNV)[2] و خیار شورهای دارای سرکه و بدون باکتری (NBV)[3] بودند. گفتنی است که در انواع حاوی سرکه، به ازای هر ۱۰۰ ml آب، ۰/۵ ml سرکه سفید خوراکی (اسید استیک) با pH=۵-۶/۴ به شیشه حاوی خیار شور اضافه گردید (pH انواع بدون سرکه، ۷ الی ۸/۶ بود).

لازم به توضیح است که در خیارشورهای پروبیوتیک به میزان ۱ ml در ازای ۱۰۰ ml آب خیارشور از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده تلقیح شد تا به تعداد نهایی 10^6 cfu/ml باکتری پروبیوتیک در هر شیشه رسید. در نهایت شیشه ها به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۰°C نگهداری شدند و هر سه روز یکبار رشد باکتری پروبیوتیک، اسیدیته و pH بررسی شد.

- بررسی صفات حسی خیارشورهای پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک

به منظور مقایسه صفات حسی خیارشورهای پروبیوتیک (BV, BNV) و غیر پروبیوتیک (NBV)، از ده نفر ارزیاب در سه تکرار استفاده شد. بطوریکه هر ارزیاب ۹ نمونه خیارشور را از نظر صفات رنگ، طعم، بو و بافت مورد ارزیابی قرار داده و نمرات اکتسابی را بر اساس درجه بندی زیر در پاسخنامه مربوط به هر نمونه خیار شور وارد نمودند. امتیازات تعیین شده به قرار زیر بودند : ۱= خیلی بد، ۲= بد، ۳= متوسط، ۴= خوب و ۵= خیلی خوب. در نهایت امتیاز نهایی هر یک از انواع خیار شورها بر حسب ضرایب نسبت داده شده به صفات مختلف حسی محاسبه شد. امتیاز نهایی، امکان جمع بندی امتیازات داده شده به صفات مختلف انواع خیارشورها را فراهم می آورد (قاضی زاده و رازقی، ۱۳۷۷).

- تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی تفاوت معنی دار بین تیمارها از یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی استفاده شد. در این آزمایش زمان با شش سطح شامل (۰-۱-۳-۶-۹-۱۲-۱۵) و همچنین انواع خیار شور تولیدی در سه سطح (BV، BNV ، NBV) بوده است. برای آزمون ارزیابی حسی از یک طرح کرتهای خرد شده در قالب زمان با طرح پایه بلوک کامل تصادفی استفاده شد، در صورت معنی‌دار بودن تفاوت بین تیمارها از آزمون مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن به منظور مقایسه میانگین تیمارها استفاده گردید. نرم افزار مورد استفاده در این تحقیق SAS بوده است سطح احتمال معنی داری ۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج حاصل از رنگ آمیزی کلنی‌های تک ایزوله شده باکتریایی، بیانگر وجود باسیل‌های گرم مثبت، بدون اسپور،

[1] Bacteria Vinegar [2] Bacteria Non-Vinegar [3] Non- Bacteria Vinegar

jfn.srbiau.ac.ir

کاتالاز منفی، حرکت منفی، تولید سولفید هیدروژن منفی و اندول منفی بوده و نتایج کشت در محیط تریپل شوگر ایرون آگار بصورت اسید/اسید ، فاقد H_2S و گاز بود. بنابراین جنس باکتریهای ایزوله شده بعنوان لاکتوباسیلوس شناخته شد و بر اساس تست تخمیر قندهای مختلف و مقایسه آن با جدول شناسایی باکتری ها (بر اساس کتاب برگی) لاکتوباسیلوس‌های ایزوله شده منحصرا از سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus Plantarum*) بودند.

نمودار ۱ بیانگر تاثیر غلظتهای متفاوت نمک طعام (۱، ۳، ۵، ۷، ۱۰٪) بر رشد سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم بومی جدا شده از خیار شور طی زمانهای مختلف (روزهای۱،۳،۶،۹،۱۲،۱۵) می باشد. بطوریکه در تمامی روزهای ارزیابی، شاهد روند نزولی میزان رشد لاکتوباسیلوس به تبع افزایش غلظت نمک بوده، بیشترین میزان رشد باکتری متعلق به پایینترین غلظت نمک (۱٪) ۵×۱۰^{۸} cfu/ml، کمترین آن متعلق به بیشترین غلظت نمک (۱۰٪) ۲×۱۰^{۲} cfu/ml بود.

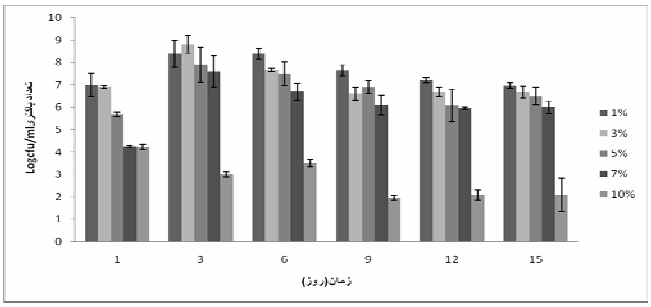
نمودار ۲ پایداری لاکتوباسیلوس پلانتاروم را در pH های مختلف طی مدت ۱۵ روز نشان می دهد. بنابرگفته Pelto و همکاران در سال۱۹۹۸، لاکتوباسیل‌ها قادر به حیات در مقادیر pH = ۲-۳ بوده و تا pH حدود ۵/۴ رشد خوبی دارند اما پس از آن این روند کند می شود. در تحقیق حاضر نیز، رشد باکتری در pH = ۳ بعد از ۲۴ ساعت متوقف گردید و دیگر هیچگونه رشدی مشاهده نشد، در حالیکه رشد لاکتوباسیلوس‌ها در دو مقدار pH ۵ و ۷ به $۱۰^{۸}$ cfu/ml و $۱۰^{۹}$ cfu/ml رسید که مطلوب می نمود.

نمودار ۳ روند تغییرات رشد باکتری در خیارشورهای پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک طی زمانهای مختلف (روزهای۱،۳،۶،۹،۱۲،۱۵) را نشان می دهد که نشان دهنده وجود $۱۰^{۸}$ cfu/ml باکتری در هر دو نوع خیارشور دارای باکتری و بدون باکتری طی ۷۲ ساعت اولیه می باشد. تعداد باکتریهای موجود در هر دو نوع خیارشور پروبیوتیک تهیه شده، پس از گذشت سه روز از زمان گرمخانه گذاری از $۱۰^{۶}$ به $۱۰^{۸}$ cfu/ml می رسد و علیرغم کاهش نسبی در طی روزهای بررسی، هیچگاه از میزان قابل قبول $۱۰^{۶}$ cfu/ml (Hatting & Viljoen, 2001) کمتر نمی‌گردد که این امر پایداری نسبی باکتریها را در خیارشورهای پروبیوتیک نشان می دهد.

در نمودارهای ۴ و ۵ به ترتیب تغییرات pH و اسیدیته در انواع خیار شور پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک ارائه گردیده است که در هر دو مورد تفاوت معنی داری بین انواع خیار شور دیده می شود. همانطور که از نمودار ۴ پیداست در ابتدا میزانpH انواع خیار شور با توجه به وجود و عدم وجود سرکه با هم متفاوت هستند بطوریکه در انواع با سرکه pH= ۴ و در نوع بدون سرکه pH= ۶/۸ بود اما بعد از سه روز افت شدید pH دیده شد.

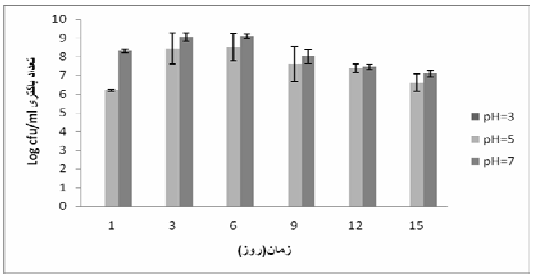
نمودار ۵ تغییرات اسیدیته را در طی رسیدن خیار شور پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک نشان می دهد. اسیدیته با سود ۰/۱ نرمال بر حسب اسید لاکتیک سنجیده شد . نتایج نشان دادند که اسیدیته سه نمونه خیارشور با یکدیگر تفاوت معنی داری دارند ($P <$ ۰/۰۵). میانگین بیشترین اسیدیته به نوع دارای باکتری و سرکه و کمترین به بدون سرکه دارای باکتری مربوط شد. بطوریکه در نوع دارای باکتری و سرکه اسیدیته طی سه روز از ۰/۰۴۱ به ۰/۷۱ بر حسب اسید لاکتیک رسید و تقریبا در همین اسیدیته تا پایان خیار شور باقی ماند.

سرانجام در جدول ۱ مقایسه میانگین صفات حسی خیار شورهای پروبیوتیک و معمولی آورده شده که خیارشور پروبیوتیک بدون سرکه بیشترین امتیاز را به خودش اختصاص داده و این در حالیست که تفاوت معنی داری بین انواع خیارشور با سطح احتمال ۵٪ وجود ندارد.

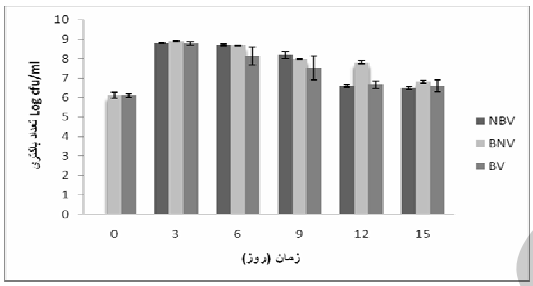


نمودار ۱- تاثیر غلظتهای مختلف کلرور سدیم بر رشد حداکثر لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از خیار شور طی مدت ۱۵ روز گرمخانه گذاری در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد

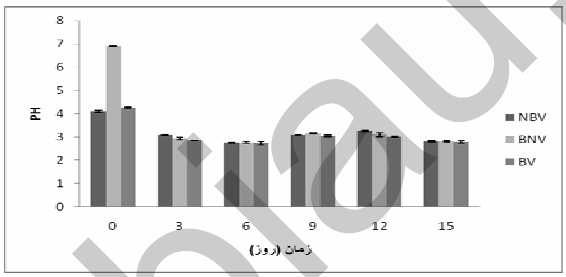
jftn.srbiau.ac.ir



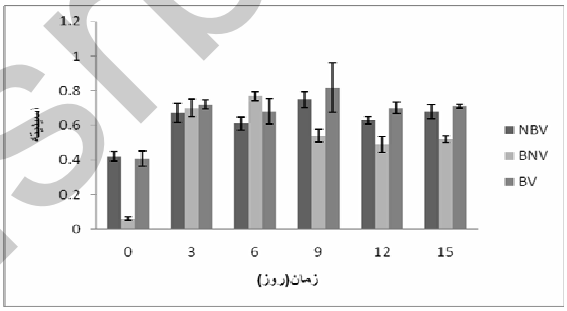
نمودار ۲- پایداری لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از خیار شور در pH های مختلف طی مدت ۱۵ روز در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد



نمودار ۳- روند تغییرات رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم بومی در خیار شورهای پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک در طی زمان های مختلف



نمودار ٤- روند تغییرات مقادیر pH در خیار شورهای پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک در طی زمان های مختلف



نمودار ۵- روند تغییرات مقادیر اسیدیته در خیار شورهای پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک در طی زمان

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات حسی خیارشور های پروبیوتیک و معمولی *

نوع خیار شور/ خواص	رنگ	طعم	بو	بافت	امتیاز نهایی
پروبیوتیک، بدون سرکه	۳/۲ b	۲/۶۳ a	۴/۲۳ a	۴/۴ a	۵/۴۲ a
پروبیوتیک، همراه با سرکه	۳/۹ a	۲/۹۳ a	۴/۱۳ a	۳/۹ b	۵/۳۷ a
غیرپروبیوتیک، همراه با سرکه	۳/۳ b	۳ a	۴ a	۳/۸ b	۵/۲۳ a

* میانگین های دارای حروف مشابه، طبق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی دار ندارند.

jftn.srbiau.ac.ir

بحث

لاکتوباسیلوس پلانتاروم به سبب هموفرمنتاتیو بودن و عدم تولید CO_2 از هگزوزها و در نتیجه نیاز اندک به استفاده از تجهیزات پاکسازی با نیتروژن و همچنین در دسترس بودن کشتهای تجاری برای چندین سال، به عنوان باکتری لاکتیکی مطلوب برای تخمیر تجاری خیار شناخته شده است (Dicagno *et al*., 2008).

همخوانی شکل ظاهری کلنی‌های باکتریایی بر روی محیط کشت و شکل میکروسکوپی باکتریها با اشکال مندرج در منابع، سبب اطمینان از فعال بودن و عدم آلودگی کلنی‌های باکتریایی گردید.

در یک غلظت خاص از نمک (۳ تا ۵ درصد)، رشد باکتری‌های اسید لاکتیک از سایر میکروارگانیسم‌ها بیشتر شده و بر آنها غلبه می یابند، در حالیکه در غلظت های کمتر از این میزان، باکتریهای فاسد کننده خیارشور به سرعت رشد کرده و موجبات فساد محصول را فراهم می آورند (اصطلاحا خیار شور کپک می زند). غلظت بالای نمک (۷ درصد به بالا) نیز سبب کاهش تعداد لاکتوباسیلها و در عین حال رشد سریع برخی مخمرهای مقاوم در برابرغلظتهای بالای نمک می شود. این نوع از مخمرها با مصرف اسیدلاکتیک تولیدی بوسیله لاکتوباسیلوسها، موجبات کاهش میزان اسید لازم برای تخمیر مناسب محصول و در نتیجه فساد خیار شور را فراهم می آورند (لامع، ۱۳۸۰). همچنانکه نمودار ۱ نشان می‌دهد لاکتوباسیلوس‌های ایزوله شده در محیط کشت ۱٪، ۳٪ و ۵٪ نمک طعام رشد خوبی داشتند اما با کاهش معنی دار رشد در غلظتهای ۷ و ۱۰ درصد نمک مواجه شدند ($P < ۰/۰۵$)، بطوریکه در غلظت ۷٪ نمک، رشد متوسط و در ۱۰٪ نمک عملا رشد باکتریها متوقف شد. معنی دار بودن تفاوت بین میانگین باکتری ها در غلظتهای مختلف نمک با ابراز نظر ابراهیم (۱۳۸۶) مبنی بر کاهش معنی‌دار تعداد لاکتوباسیلوس ها به موازات افزایش غلظت نمک از ۵ درصد به ۷ و ۱۵ درصد مطابقت دارد. وی علت این امر را ناتوانی لاکتوباسیلوسها درتحمل مقادیر بالای یون کلرید در محل کشت می داند.

با توجه به تاثیرات منفی مقادیر زیاد و اندک نمک بر کیفیت نهایی خیار شور تولیدی (در غلظتهای بالای نمک، آب درون سلول‌های خیار به بیرون کشیده شده و در نهایت محصول چروکیده و توخالی می‌شود. گاهی نیز به دلیل جمع شدن گاز درون محفظه توخالی، خیار شور باد کرده و در سطح ظرف شناور می‌شود، همچنین در صورتی که درصد نمک پایین باشد، محصول لیز، نرم و لزج شده و آب فراوانی را در خود جمع می‌کند)، استفاده از غلظتهای متوسط نمک (۵-۳ درصد) مطلوب می‌نماید. به همین دلیل و با توجه به معنی‌دار بودن تفاوت میانگین تعداد باکتریها در غلظتهای ۳٪و ۵٪ نمک در کلیه روزهای مورد بررسی و نرخ رشد پایدارتر باکتری در غلظت سه درصد در طی روزهای بررسی از غلظت ۳٪ نمک برای تهیه انواع خیار شور پروبیوتیک و معمولی (بدون باکتری) استفاده شد.

باتوجه به استفاده از نمک و سرکه (اسید استیک) در فرآوری خیارشور تخمیری آگاهی از میزان تحمل باکتریهای پروبیوتیک نسبت به شرایط محیط رشدو نمو ضروری است. نمودار ۳ ، روند تغییرات رشد باکتری در خیارشورهای پروبیوتیک و غیرپروبیوتیک طی زمانهای مختلف (روزهای۰ ،۳ ،۶ ،۹ ،۱۲ ،۱۵) را نشان می‌دهدکه نشان دهنده وجود $۱۰^{۸}$ cfu/ml باکتری در هردو نوع خیار شوردارای باکتری و بدون باکتری طی ۷۲ ساعت اولیه می باشد. تعداد باکتریهای موجود در هر دو نوع خیار شور پروبیوتیک تهیه شده، پس از گذشت سه روز از زمان گرمخانه گذاری از $۱۰^{۶}$ به $۱۰^{۸}$ cfu/ml می‌رسد و علیرغم کاهش نسبی در طی روزهای بررس، هیچگاه از میزان قابل قبول $۱۰^{۶}$ cfu/ml (Hatting and Viljoen, 2001) کمتر نمی‌گردد که این امر پایداری نسبی باکتریها را در خیار شورهای پروبیوتیک نشان می‌دهد. کاهش تعداد باکتریهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم در طی مدت نگهداری محصول، توسط برخی دیگر از محققین نیز مورد اشاره قرار گرفته است. همچنانکه Yoon و همکاران نیز از کاهش تعداد باکتریهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم در آب کلم، طی دو هفته نگهداری در یخچال از $۱۰^{۸}$ به $۱۰^{۷}$ cfu/ml و در آب گوجه فرنگی بتدریج و در طی ۴ هفته به$۱۰^{۶}$ cfu/mlخبر داده اند (Yoon *et al*., 2004, 2005). همچنین مک دونالد و همکاران نیز در تحقیق بر روی جمعیت میکروارگانیسمهای موجود در خیار شور، از کاهش تدریجی باکتریهای لاکتیکی طی پنج روز خبر داده اند (McDonald *et al*.,1991).

Breidt and Fleming در سال ۱۹۹۷ علت کاهش نسبی رشد باکتریهای لاکتوباسیلوس در طی زمان را تولید تدریجی اسید لاکتیک بوسیله این باکتریها دانسته و کاهش رشد عوامل بیماریزایی چون لیستریا مونوسیتوژن در حضور باکتریهای لاکتیکی، را به سبب افزایش محدود کننده غلظت

jftn.srbiau.ac.ir

پروتون های اسید لاکتیک در آب نمک و در نتیجه نفوذپذیری غشاء باکتریها نسبت به سایر مواد ضد میکروبی تولید شده توسط لاکتوباسیل ها می‌دانند.

بیشترین میانگین pH به نوع BNV ۳/۶۱ و کمترین به BV ۳/۱ مربوط شد. در پژوهشی که در سال ۲۰۰۰ توسط Gardner بر روی تخمیر هویج، کلم، چغندر و پیاز با استفاده از مخلوطی از کشتهای آغازگر، انجام گرفت در مدت تخمیر مخلوط سبزیجات pH در سبزیجات با تلقیح کشت های آغازگر بعد از ۷۲ ساعت در $20^{\circ}C$ بطور معنی داری پایین تر از نمونه شاهد بدون تلقیح است. همچنین در سال ۱۳۸۶ در دانشگاه تهران پژوهشی در مورد زیتون پرورده فراوری شده با لاکتوباسیلوس پلانتاروم انجام شد که میزان pH ارلن زیتون پرورده تخمیری حاوی لاکتوباسیلوس بعد از یک هفته از ۶/۸ به ۴/۶ کاهش یافته بود ولی در ارلن شاهد بدون تلقیح این باکتری به ۵/۲ رسیده بود.

جدول ۱، بیانگر دریافت بیشترین امتیاز صفت رنگ توسط خیارشور غیر پروبیوتیک (NBV) و برتری معنی دار آن نسبت به خیارشورهای پروبیوتیک (BNV و BV) است ($P <$ ۰/۰۵). از لحاظ طعم، خیار شورهای حاوی سرکه (BV و NBV)، نسبت به نوع فاقد سرکه (BNV) برتری غیر معنی دار نشان دادند که این امر بیانگر مطلوبیت طعم سرکه در نزد مصرف کنندگان است، در حالیکه تندی بوی سرکه، سبب برتری غیر معنی دار عطر و بوی خیار شور فاقد سرکه نسبت به دو نوع دیگر گردیده است ($P \geq$ ۰/۰۵). خیار شور فاقد سرکه، نسبت به انواع حاوی سرکه، امتیاز بالاتری را از نظر صفت بافت (تردی) خیارشور کسب کرده و برتری معنی داری را نسبت به آنها نشان داد ($P <$ ۰/۰۵). علت این امر را می توان مقادیر پایین تر pH در انواع حاوی سرکه نسبت به نوع فاقد سرکه و در نتیجه کاهش تردی خیار شور دانست.

جمع بندی امتیازات اعطا شده به صفات مختلف هر یک از انواع خیار شور (امتیاز نهایی)، بیانگر برتری خیارشور پروبیوتیک فاقد سرکه نسبت به دو نوع دیگر است، اگرچه این برتری معنی‌دار نیست ($P \geq$ ۰/۰۵). این امر نشان می دهد که خیار شورهای پروبیوتیک، صرفنظر از استفاده و یا عدم استفاده از سرکه در تهیه آنها، قادر به جلب رضایت مصرف کننده بوده و می توانند بازار مصرف مناسبی را بخود اختصاص دهند.

نتیجه گیری

نظر به اهمیت روز افزون محصولات تخمیری غیرلبنی پروبیوتیک در تامین سلامتی افراد، اقدام به بررسی جوانب مختلف فرآوری خیارشور پروبیوتیک گردید. نتایج بررسی مقاومت باکتریهای پروبیوتیکی در محیطهای مختلف نمکی و اسیدی، بیانگر رشد مطلوب لاکتوباسیلوس در غلظتهای ۱٪، ۳٪ و ۵٪ نمک بود. اگرچه در نهایت، بهترین غلظت نمک برای تولید خیار شور پروبیوتیک، غلظت ۳٪ شناخته شد. همچنین نتایج حاصله بیانگر عدم رشد باکتری ها در pH=۳ و در مقابل رشد بسیار خوب آنها در مقادیر pH ۵ و ۷ بود، اگر چه با گذشت زمان از میزان آن بتدریج کاسته می شد. بررسی تعداد کلنی‌های حاصل از سه نوع خیار شور تولیدی (BNV , NBV و BV) در طی یک دوره ۱۵ روزه، بیانگر روند کلی کاهش رشد باکتریها، در طی زمان در هر سه نوع خیارشور، به سبب افزایش تدریجی میزان اسید لاکتیک تولیدی توسط لاکتوباسیلوس ها بود، اگرچه نرخ رشد باکتریها در هیچ یک از انواع خیار شور، به کمتر از میزان قابل قبول، 10^{6} cfu/ml، نرسید. نتایج بررسی خواص ارگانولپتیکی (حسی) سه نوع خیار شور تولیدی بعد از گذشت ۱۵ روز، نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار میان سه نوع خیار شور از نظر خصوصیات طعم و بو بود. در عین حال، خیارشور غیرپروبیوتیک، از لحاظ رنگ نسبت به خیارشورهای پروبیوتیک دارای برتری معنی دار بود.

بطور کلی، نتایج تحقیق حاضر بیانگر امکان تولید صنعتی خیار شور پروبیوتیک با توجه به خواص درمانی و مقبولیت آن نزد ذائقه مصرف کننده ایرانی می باشد. همچنین بررسی دقیق تاثیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر میکروارگانیسمهای بیماریزایی چون لیستریا مونوسیتوژن و اشرشیاکلی ضروری بنظر می‌رسد. همچنین نظر به استفاده از افزودنیهایی مانند سیر، شوید و دیگر سبزیجات معطر در تهیه خیار شور تخمیری، بررسی تاثیر احتمالی آنها بر قابلیت رشد و بقای پروبیوتیکها مناسب خواهد بود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مسئولان محترم آزمایشگاه گروه کنترل غذا و دارو دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران که در اجرای این پژوهش به ما یاری رساندند، قدردانی می شود.

ifn.srbiau.ac.ir

منابع

ابراهیم، ز. (۱۳۸۶). تهیه زیتون پرورده تخمیری با استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم هالوتالورنت جدا شده از زیتون شور ایران. پایان نامه رشته داروسازی دانشگاه تهران.

لامع، ح. (۱۳۸۰). مقدمه ای بر تخمیر های غذایی. مرکز انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی.

قاضی زاده، م. و رازقی، س. ع. ر. (۱۳۷۷). روشهای ارزیابی حسی مواد غذایی. انتشارات انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، صفحات ۵۸-۵۰.

Breidt, F. & Fleming, H. P. (1997). Using Lactic Acid Bacteria to Improve the Safety of Minimally Processed Fruits and Vegetable. Food technology, 51(9), 44-51.

Breidt, F., Hayes, J. & Mcfeeters, R. F. (2007). Determination of 5-log Reduction Times for Food Pathogens in Acidified Cucumbers during Storage at 10 and 25°C. journal of Food Protection,70(11), 2638-2641.

Coeuret, V. & Dubernet, S. (2003). Isolation, characterization and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. INRA, EDP science: 269-306.

Collins, J. K., Thornton, G. & O'Sullivan, G. O. (1998). Selection of probiotic strains for human applications. Int. Dairy J., 8: 487-490.

Con, A. H. & Karasu, N. (2009). Determination of antagonistic starter cultures for pickle and olive fermentation processes, Czech J. Food Science, 27(3), 185-193.

Di Cagno, R., Surico, R. F., Siragusa, S., De Angelis, M., Paradiso, A., Minervini, F., De Gara, L. & Gobbetti, M. (2008). Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. International Journal of food Microbiology, 127: 220-228.

Fazeli, M. R., Mozafari, A. N., Golbouei Nezhad, R. & Jamalifar, H. (2007). Antagonistic action of watermelon juice probioticated using different strains of lactobacilli against Salmonella TypHymurium, Iranian Journal of Public health, 36(4), 70-73.

Fuller, R. (1991). Probiotics in human medicine; Gut, 32: 439-442.

Gardner, N. J., Savard, T., Obermeier, P., Caldwell, G. & Champagne, C. P. (2001). Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures. Int J Food Microbiol., 64: 261-275.

Goktepe, I., Juneja, V. K. & Ahmedna, M. (2005). Probiotic in food safety and human health; QR171.I6G645.

Hatting, A. L. & Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal, 11: 1-17.

Martin-Diana, A. B., Janer, C., Pelaez, C. & Requena, T. (2003). Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria, International Dairy Journal, 13(10), 827-833.

McDonald, L. C., Fleming, H. P. & Daeshel, M. A. (1991). Acidification Effects on Microbial populations during initiation of cucumber fermentation . Journal of food science, 56(5), 1353-1359.

Pelto, L., Isolauri, E., Lilius, E. M., Nuutila, J. & Salminen, S. (1998). Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects; Clin. Exp. Allergy, 28(12): 1474-1479.

Yoon, K. Y., Woodams, E. & Hang, Y. D. (2004). Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria; IFT Annual Meeting, July 12-16 –Las Vegas NY.

Yoon, K. Y., Woodams, E. & Hang, Y. D. (2004). Probiotication of tomato juice by Lactic acid bacteria; The Journal of Microbiology, 42 (4), 315-318.

Yoon, K. Y., Woodams, E. & Hang, Y. D. (2005). Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria; J. Biortech, 97(12), 1427-1430.

jfn.srbiau.ac.ir

jifsan.srbiau.ac.ir