استفاده از *لاکتوباسیل پلانتاروم* به عنوان کشت آغازگر در پروسه تخمیر زیتون سبز با شرایط هوادهی

فرزانه سلامی[1*]، حمید راشدی[2]، حکیمه مهدیان ناصر[3]

۱- همطراز هیئت علمی سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران- پژوهشکده زیست فنآوری
۲- استادیار و عضو هیات علمی گروه مهندسی شیمی دانشکده فنی دانشگاه تهران
۳- سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران- پژوهشکده زیست فنآوری
(تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۲۳ تاریخ پذیرش: ۸۹/۷/۲۲)

چکیده

٤ لاکتوباسیلوس پلانتاروم ،که از تخمیر طبیعی زیتون جدا شدند به عنوان استارتر کالچر درپروسه تخمیر طبیعی زیتون (زیتون سبز مانزانیلا)با شرایط هوادهی استفاده شدند. باکتریهای لاکتیکی از میکروارگانیسم های ضروری در تخمیر زیتون سبز هستند.تلقیح با استارتر کالچر باکتریهای لاکتیکی ۷- ۵ روز بعد از قرار گرفتن زیتون در آب نمک میتواند پروسه تخمیر زیتون را استاندارد کند. این باکتریها ی لاکتیکی از آب نمک در حین تخمیرطبیعی زیتون جدا شده اند که نسبت به سطح بالائی ازاسید لاکتیک و استیک، سطح بالائی از نمک و۱٪ الئوروپین مقاوم هستند. تخمیر در ٤ باریل (۱۵ لیتری) مورد بررسی قرار گرفت. هر باریل ۱, ۲ با ۷کیلو زیتون که با ۷ لیتر آب نمک ۸٪ و ۰/۱٪ اسید استیک تیمار شدند وباریل ۳و٤ که هریک با ۷ کیلو زیتون که با ۷ لیتر آب نمک ٦٪ و۰/۳٪ اسید استیک تیمار شدند.در باریل های ۲و٤ در روز پنجم تخمیر تلقیح لاکتوباسیل پلانتاروم انجام گرفت. سپس برای هر باریل به وسیله ستون های هوادهی، شرایط هوادهی رابرای ۱۹۰روز فراهم کردیم و در دمای $^{\circ}C$ ۲۸ اینکوبه کردیم. تستهای فیزیکوشیمیائی زیتون در طی تخمیرشامل نمک، پروتئین، چربی، اسیدیته، درصد خاکستر و درصد رطوبت و در آب نمک زیتون شامل اسیدیته، نمک ،قندها احیاء کننده وpH می گردید.

در این تحقیق، استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم مناسب به عنوان استارتر کالچر، کنترل میکروبیولوژیکی پروسه تخمیر را بهبود می بخشد، افزایش تولید اسید لاکتیکی و متعاقباً افزایش اسیدیته در آب نمک زیتون را سبب می شود و تولید زیتون سبز تخمیری با کیفیت بالا وثابت را فراهم می کند. بنابر این استفاده از تلقیح باکتریهای لاکتیکی به عنوان یک تکنولوژی جدید میتواند در طی تخمیر زیتون به کار برده شود.

کلید واژگان: لاکتوباسیلوس پلانتاروم + باکتریهای لاکتیکی(LAB) + تخمیرزیتون

۱- مقدمه

تلخی زدائی زیتون های رومیزی حتماً احتیاج به یک مرحله آب نمک دارد که در طی آن زیتون ها تخمیر می شوند. در تلخی زدائی زیتون ها به روش اسپانیائی قبل از مرحله آب نمک, زیتون ها به وسیله سود تیمار می شوند. تلخی زدائی می تواند به طور مستقیم با نگهداری در آب نمک هم صورت گیرد که به مدت ۷ تا ۱۲ ماه عمل تخمیر روی آنها صورت می گیرد. وقتی که زیتون ها به طور مستقیم و بدون هیچ تیماری در آب نمک قرار می گیرند بدین ترتیب توسط مخمرها و باکتریهای لاکتیک یا هر دو دسته تخمیر می شوند [۱]. در پروسه تخمیر طبیعی زیتون تجمع گازهای تنفسی زیتون ها یعنی CO_2 باعث

* مسئول مکاتبات : farzaneh_salami@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

چروک شدن و تشکیل چشم ماهی در آن می شود. خطر دیگر در پروسه تخمیر طبیعی زیتون رشد کردن باکتریهای گرم منفی و رشد بعضی از جنسهای مخمرهاست که سبب فساد و کاهش کیفیت محصول نهائی زیتون می شوند و ضایعاتی مثل نرم شدگی و چشم ماهی ایجاد می کنند[۲]. در سال ۱۹۸۵، گارسیا گارسیا [۳] این روش را اصلاح کرد. تغییر و اصلاح روش در دو جهت صورت گرفت. تصحیح pH اولیه پروسه به حدود ٤، تا از رشد اولیه باکتری گرم منفی جلوگیری شود و ایجاد شرایط هوازی برای برطرف کردن تجمع CO_2 اضافی. به کارگیری این پروسه کیفیت نهائی زیتون ها را افزایش می دهد به شرطی که در تمام مرحله تخمیر شرایط هوازی حفظ شود. مانع دیگر در این پروسه آن است که تولید نشدن اسید و شرایط هوازی باعث بالا رفتن pH می شود به همین دلیل باید با اضافه کردن باکتریها ی لاکتیکی،اسیدیته وpH کنترل و تنظیم شود [٤]. لاکتوباسیلوس پلانتاروم به طور خود بخودی در تخمیر زیتون رشد می کند. افزایش این گونه باکتری درآب نمک منجر به ایجاد مقدار زیادی اسید لاکتیک می شود که برای حفظ ونگهداری زیتونها مورد نیاز می باشد. یک تا دو هفته بعد از قرار دادن زیتونها در آب نمک ، لاکتوباسیل پلانتاروم ها افزایش می یابند و بر باکتریهای گرم منفی و بقیه باکتریهای لاکتیکی غلبه می یابند و عموماً همراه با جمعیت مخمرها تا پایان مراحل تخمیر وجود دارند. برای بدست آوردن یک محصول ثابت با بو و طعم تیپیکال ،رشد میکروارگانیزمها به ترتیب صحیح ضروری است [۵]. مشابه بقیه تخمیرهای طبیعی گیاهی تولید زیتون های سبز وابسته به وجود میکروارگانیزمهایی است که فلور طبیعی تولید خام هستند و یا در محتویاتی که محصول درآن نگهداری می شود وجود دارند [۵،٦،۷]. بنابر این کنترل مراحل تخمیر با اضافه کردن لاکتوباسیل پلانتاروم ها سبب جلوگیری از ضایعات می شود و محصولی با کیفیت بالا را فراهم می کند.

به طور کلی می توان گفت در مورد تخمیر زیتون در ترکیه, اسپانیا و ایتالیا سالیان متمادی کار شده است و سابقه تحقیق در این روش در ترکیه و اسپانیا می باشد که به حدود ۲۰ سال پیش می رسد ولی در ایران این روش برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

این بررسی بر روی زیتون های واریته ما نزانیلا که به طور مستقیم در آب نمک (بدون تیمار سود) قرار می گیرند در ٤ باریل (۱۵ لیتری) مورد بررسی قرار گرفت . هر باریل ۲,۱با ۷کیلو زیتون که با ۷ لیتر آب نمک ۸٪ و ۰/۱٪ اسید استیک تیمار شدند وباریل ۳و٤ که هریک با ۷ کیلو زیتون که با ۷ لیتر آب نمک ٦٪ و۰/۳٪ اسید استیک تیمار شدند.در باریل های ۲و٤ در روز پنجم تخمیر تلقیح لاکتوباسیل پلانتاروم انجام گرفت. باریل های غیر تلقیحی که به عنوان کنترل استفاده شدند یعنی بازتاب گونه ها ئی است که به طور طبیعی در تخمیر زیتون رشد می کنند . سپس برای هر باریل به وسیله ستون های هوادهی، شرایط هوادهی فراهم کردیم [۳] و در دمای ۲۸ قرار دادیم. شرایط فرمانتاسیون در طی ۱۹۰ روز با تست های فیزیکوشیمیائی و میکروبی بر روی نمونه هائی که متناوباً برداشت می شد ،گزارش شد [۹،۸،۳].

سویه های باکتری وآماده سازی برای تلقیح: ٤

سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم که در این بررسی استفاده گردید، باکتریها یی هستند که از آب نمک در حین تخمیر زیتون به روش طبیعی (بدون تیمار سود) جدا شده ا ند ونسبت به سطح بالائی ازاسید لاکتیک و استیک، سطح بالائی از نمک و۱٪ الئوروپین مقاوم هستندو مورد شناسائی قرار گرفتند .سپس آنها در گلیسرول ۲۰٪ (حجم/حجم) و محیط MRS درفریزر ۸۰°C- در کلکسیون میکروبی سازمان پژوهشهای علمی وصنعتی ایران نگهداری شدند. برای تلقیح کشت میکروب در فاز لگاریتمی در MRS براث را سانتریفوژ(به مدت ۲۰ دقیقه در ٦۰۰۰ دور) کرده سپس آنرا ۲ بار در سالین شسته و از آن رقت ۰/۵ مک فارلند تهیه گردید (O.D.600 of 1.5-2) . برای تلقیح از هر ٤ سویه استفاده گردید و میزان تلقیح ٤ سویه روی هم ۱٪ انتخاب گردید یعنی از هر سویه ۰/۲۵٪ تلقیح گردید [۱۰] .

بررسی های فیزیکو شیمیائی آب نمک زیتون وزیتون:

تغییرات pH آب نمک هفته ای یکبار انجام گرفت .اندازه گیری نمک, آب نمک بر طبق روش استاندارد کنسرو زیتون سبز فرآیند شده شماره ۹۸۷ اداره استاندارد ایران انجام

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

شد[۱۱] . اندازه گیری قند در آب نمک بـر طبـق روش رنـگ سـنجی بـا اسـید دی نیتـرو سالـسلیک (DNS) انجـام شـد [۱۲]. .اندازه گیری اسیدیته آب نمک بر طبق روش تیتراسـیون (بر اساس استاندارد اندازه گیری اسیدیته مـایع پوشـشی زیتـون شماره۹۸۷)انجام گرفت [۱۱] .

اندازه گیری نمک زیتون بر طبق روش موهر، پروتئین زیتون بر طبق روش کلدال، چربی زیتون بر طبق روش سوکسله، اسیدیته زیتون بر طبق روش تیترسنجی و درصـد خاکـستر و رطوبـت زیتون بر طبق روش وزن سنجی بعد از حرارت دادن در کـوره الکتریکی و آون معمولی انجام گرفت[۱۲،۱۳].

بررسی های میکروبیولوژیکی

شمارش میکروارگانیسم ها روی یک محیط جامـد انجـام شـد. رقت های هموژن از ۱۰ میلی لیتر آب نمک در محلـول سـالین فیزیولوژیک همراه ۱٪ توئین ۸۰٪ آماده می شود, سـپس رقـت هـای ۰/۱, ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ روی ۳ محـیط بـرای جداسـازی میکروارگانیسم ها کشت دادیم [۱٤] که این ۳ محـیط عبارتنـد از :

۱- محیط ویولت ردبایل دکـستروز آگـار (Violet red bile dextrose agar) برای جداسازی باکتریهای گرم منفی از آب نمک استفاده شد [۱۵] و پلیـت هـا بـه مـدت ۲٤ سـاعت در ۳۷°C اینکوبه شدند.

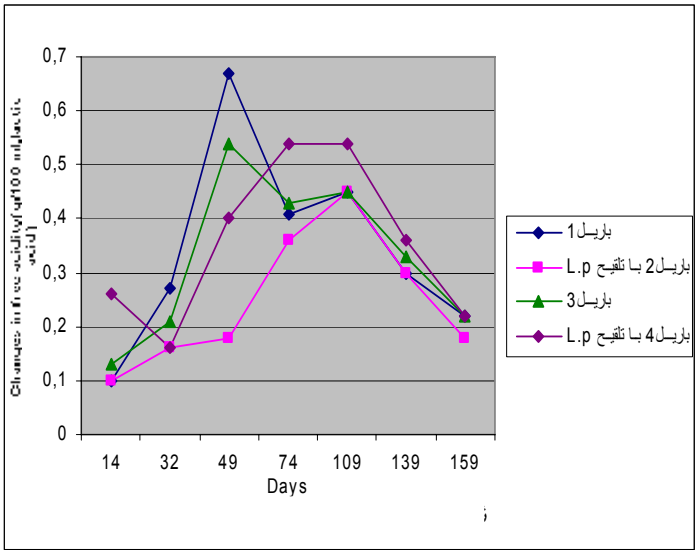
۲- محـیط دکـستروز یـست اکـسترکت آگـار (Dextrose-yeast-extract-agar) بـا ۰/۰۱٪ اکـسی تتراسـیکلین بـرای جداسازی مخمرها استفاده شد [۱٦] و پلیت ها بـه مـدت ۲٤ ساعت در ۲۵°C اینکوبه شدند.

۳- محـیط ام.آر.اس آگـار (MRS agar) بـه همـراه ۰/۰۲٪ سدیم آزاید برای جداسـازی باکتریهـای لاکتیـک اسـتفاده شـد [۱۷] و پلیت ها به مدت ٤۸ ساعت در ۳۰°C اینکوبه شدند.

تکنیک استاندارد پلیت برای شمارش میکروارگانیسم ها استفاده شد [۱۸] و تعداد باکتریها بر اساس لگـاریتم کلنـی فورمینـگ یونیت بر میلی لیتر (log cfu/ml) گزارش شد.

۳- نتایج و بحث

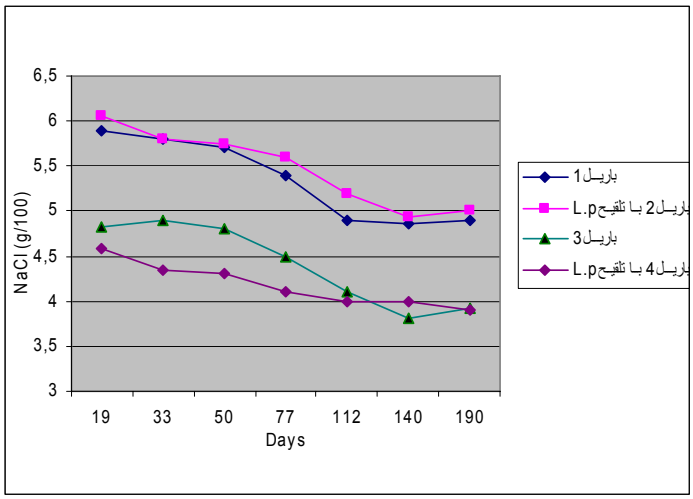
اسیدیته اندازه گیری شده از ۰/۱ تا ۰/٦ در صد نوسان داشـت تفـاوت در پروسـه اسـید سـازی(acidification) در بـین تیمارها مشاهده شد. که در تیمارهای تلقیح نشده ۱و۳ ماکزیمم اسیدیته در روز پنجاهم تخمیر بدلیل افـزایش باکتریهـای اسـید لاکتیک ومـصرف بـالای قنـدها وتولیـد اسـید لاکتیـک نتیجتـاً افزایش اسیدیته در این تاریخ مشاهده شـد ولـی در تیمارهـای تلقیح شده ۲ و٤ ماکزیمم اسیدیته در حدود روز هفتادم تخمیر مشاهده شد واین بدلیل این است که سویه های تلقیح شـده در این تیمارها ابتدا از رشد لاکتوباسیلهای وحشی بـویژه جمعیـت کوکسیهای اسید لاکتیـک جلـوگیری مـی کنـد وپـس از آن بـه عنوان جمعیت غالب میکروارگانیسمهای تخمیـری بعـد از روز هفتادم تخمیر ثابت می شوند و تا انتهای تخمیر باقی می ما نـد. غلظـت اسـید لاکتیـک نهـایی در فرمانتورهـای تلقیحـی بـا لاکتوباسیل پلانتاروم ها بالاترین میزان بود (شکل۱).



شکل ۱ تغییرات اسیدیته در آب نمک در طی تخمیر

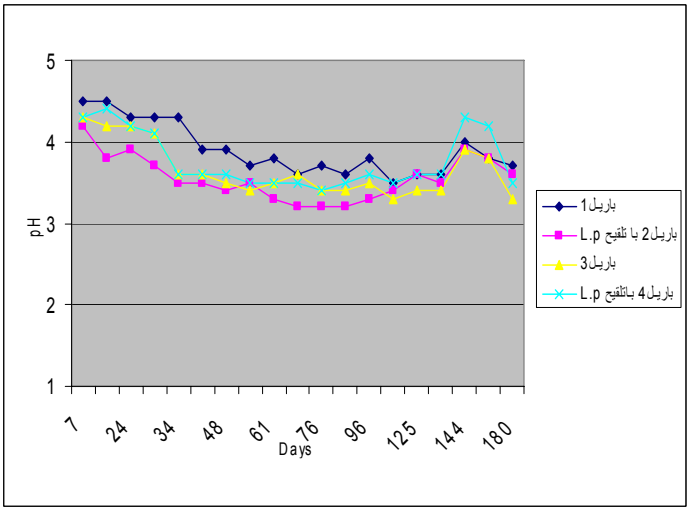
غلظت نمـک در آب نمـک تیمارهـا نوسـان دارد در محـدوده سطوح ٤تا ٦ ٪ و در نهایت در باریـل ۱و۲ بـه حـدود ۵٪ مـی رسد و در باریل ۳و٤ به حدود ٤٪ می رسد. و غلظت نمک در سراسر تخمیر در تمام آب نمکهای تخمیری مشابه بود یعنی در باریل ۲و۱ در انتهای تخمیر بـه حـدود ۵٪ ودر باریـل ۳و٤ در انتهای تخمیر به حـدود ٤٪ رسـیدو در تیمارهـای تلقـیح شـده وتلقیح نشده یکسان بود. تغییرات نمک در آب نمک نـشان داد که نمک معمولاً در ابتدای تخمیر به دلیل مبادله یونها بین میوه و آب نمک که آن را احاطه کرده است کاهش پیدا مـی کنـد و بتدریج میزان نمک به یک تعادل ثابتی می رسد(شکل۲).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]



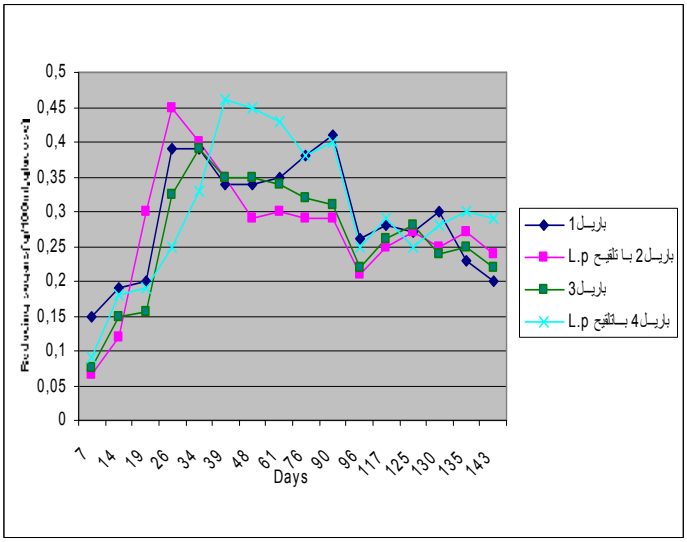
شکل ۲ تغییرات مقدار نمک در آب نمک در طی تخمیر

پارامترهای فیزیکی و شیمیایی در آب نمک های زیتون، یک کاهش مشابه درpH در سراسر تخمیر در آب نمکهای تلقیح شده و نشده و رسیدن به حدود ۳/٦ در پایان پروسه مشاهده شد(شکل۳).



شکل ۳ تغییرات PH در آب نمک در طی تخمیر

همچنین تعادل بین آزاد شدن گلوکز از میوها به آب نمک و استفاده از آن بوسیله میکروفلورهایی که مشابه بودند در نمونه ها مشاهده شد و غلظت نهایی گلوکز در نهایت به ۰/۱۳درصد در باریل ها ی۱و۲ ودر باریل های ۳و٤ به ۰/۱۱درصد رسید که در تیمارهای تلقیح شده و نشده تقریباً مشابه بود. تغییرات گلوکز در آب نمک نشان داد که قندها به وسیله میکروارگانیسم ها استفاده می شوند پس میزان قندها در حین تخمیر کاهش پیدا می کند و بتدریج که پروسه تخمیر پیش می رود به دلیل کاهش قندها در آب نمک، طبیعتاً مصرف آنها هم کم خواهد شد(شکل ٤).



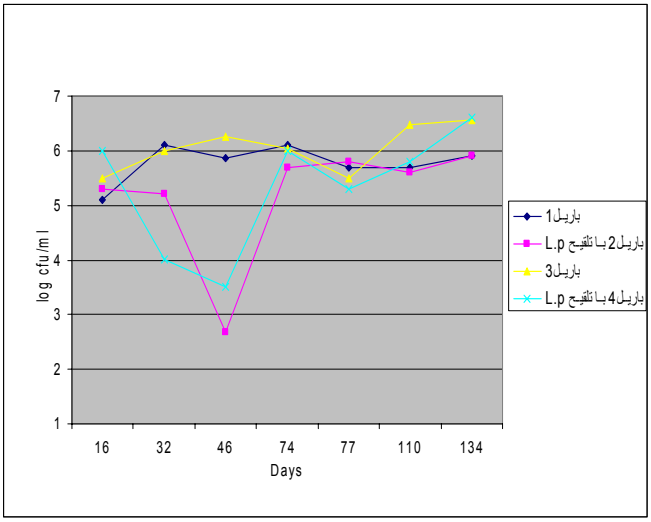
شکل ٤ تغییرات مقادیر قند احیا کننده در آب نمک در طی تخمیر

ترکیب شیمیائی زیتون مانزانیلاقبل از تخمیر در جدول ۱ نشان داده شده است. همچنین ترکیبات شیمیائی زیتون مانزانیلا در انتهای تخمیر تحت عنوان نمونه۱ (زیتون باریل۱ با ۸٪ نمک) ونمونه۲ (زیتون باریل۲ با ۸٪ نمک وتلقیح لاکتوباسیل پلانتاروم) نمونه ۳ (زیتون باریل۳ با٦٪ نمک) ونمونه ٤ (زیتون باریل٤با٦٪ نمک وتلقیح لاکتوباسیل پلانتاروم) در جدول ۲ نشان داده شده است. همانطور که در جداول ۱ و ۲ مشاهده می شود مقدار پروتئین زیتون در انتهای تخمیر تقریبا" در حدود ۰/۲٪ افزایش پیدا کرده است. درصد چربی زیتون تقریبا" در حدود ۲٪ کاهش پیدا کرده است. اسیدیته تقریبا" در حدود ۰/۰۲٪ افزایش پیدا کرده است و درصد رطوبت تقریبا" در حدود ۵-۲٪ افزایش پیدا کرده است و درصد خاکستر تقریبا" در حدود ۵-٤٪ افزایش پیدا کرده است و درصد نمک٤-۳٪ افزایش پیدا کرده است .باید توضیح داد که این تغییرات ترکیبات شیمیائی زیتون بعد از تخمیر به دلیل تخمیر حساس و دقیقی است که در طی آن تبدیل قندها به متابولیت های ثانویه توسط میکروبها انجام می گیرد و در طی این تبدیل محصول نهایی با اسیدیته خاصی که تدریجا" به وجود آمده است همراه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

طعم ویژه ایجاد می شود.بررسی نتایج بعد از تخمیر نشان داد که زیتون بعد از تخمیر ارزش غذائی خود را حفظ میکند و از نظر کیفیت تغییر نمیکند.

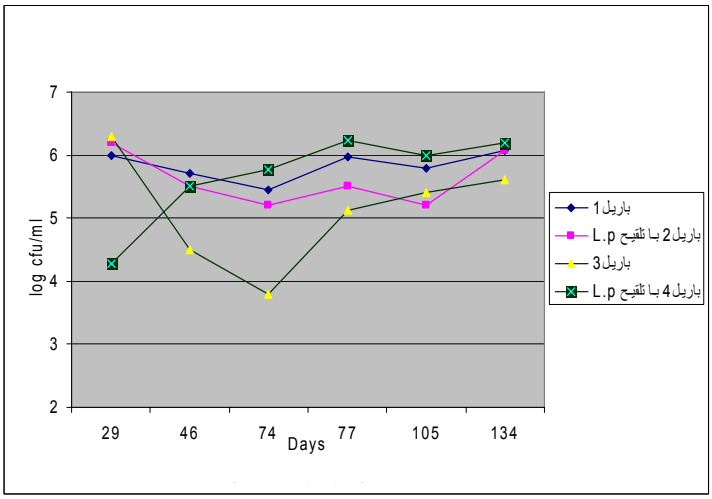
رشد باکتریهای لاکتیک در باریل های ۱ و ۲ با ۸٪ نمک و در باریل های ۳ و ٤ با ٦٪ نمک به ترتیب در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵ تغییرات شمارش باکتریهای لاکتیک در آب نمک در طی تخمیر

همانطور که نمودارها نشان می دهد ماکزیمم رشد باکتریهای لاکتیک در باریل های ۱و۳ حدودا" از روز ٤۰ تخمیرشروع می شودو ماکزیمم رشد حدود روز پنجاهم تخمیر می باشد یعنی زمانی که تخمیر به طور فعال صورت می گیرد و از این تاریخ به بعد به تدریج تعداد آنها کاهش می یابد.ولی در باریل های ۲و٤ به دلیل تلقیح لاکتو باسیل پلانتاروم، در روز پنجاهم تخمیر یک کاهش چشمگیری در تعداد باکتریهای لاکتیک مشاهده میکنیم که این به دلیل این است که سویه های تلقیح شده در این تیمارها ابتدا از رشد لاکتوباسیل های وحشی بویژه جمعیت کوکسیهای اسید لاکتیک جلوگیری میکند وپس از آن به عنوان جمعیت غالب میکروارگانیسم های تخمیری بعد از روز هفتادم تخمیر ثابت می شوند وتا انتهای تخمیر باقی می مانند.

همانطور که در شکل ٦ مشاهده می شودنمودار رشد مخمرها در تمام باریل های ۱، ۲، ۳ و ٤ در طول تخمیر دیده شده است و مقدار آنها بالای ۳log CFU/ml در طول تخمیر بوده است هیچ تفاوت معنا داری بین تیمارهای تلقیحی و تیمارهای غیر تلقیحی دیده نشد. و به طور کلی می توان گفت مخمرها به همراه باکتریهای اسید لاکتیک در تمام طول تخمیر دیده می شوند همچون نتیجه ای که گارسیا گارسیا[1] ودوران[2] در سال ۱۹۹۲ گرفتند[۱۹].



شکل ٦ تغییرات شمارش مخمرها در آب نمک در طی تخمیر

جدول۱ ترکیب شیمیائی زیتون مانزانیلا قبل از تخمیر

٪۳/٤	پروتئین (%w/w)
٪۱۵/۵	چربی (%w/w)
٪۰/۰۸	اسیدیته (%w/w)
٪٦۷/۹٦	درصد رطوبت (%w/w)
٪۱/۱۳	درصد خاکستر (%w/w)
٪۰/۰۵ .	نمک (%w/w)

1. Garcia Garcia
2. Duran

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

جدول۲ ترکیب شیمیائی زیتون مانزانیلا در انتهای تخمیر

ترکیبات شیمیائی	نمونه۱	نمونه۲	نمونه۳	نمونه٤
پروتئین (%w/w)	۳/٦	۳/٤	۳/٤	۳/٥
چربی (%w/w)	۱۳/٥–۱٤/۹۸	۱۳/۸–۱٤/۳	۱٤–۱٤/٥	۱۳/٥–۱٥
اسیدیته (%w/w)	۰/۱٥–۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱	۰/۱۷
رطوبت (%w/w)	٦۹/۱–۷۰/٦	٦۹/۸–۷۰/٦	۷۲/۱–۷۳/۹٦	۷۳/٤–۷٤/٥۳
خاکستر (%w/w)	٦/۱–٦/۳	٦/۲–٦/٦	٥/٥–٥/۷	٥/٤۲
نمک (%w/w)	٤/۲–٤/۳	٤/۱–٤/۳	۳/۲–۳/٤	۳/۲–۳/٥

در مورد شمارش باکتریهای گرم منفی باید توضیح داد که پس از کشت آب نمک باریل های ۱، ۲، ۳ و ٤ بر روی محیط ویولت رد بایل دکستروز اگار[3] پس از ۲٤ ساعت هیچ رشدی مشاهده نشد ولی بعد از ٤۸ ساعت رشد کمی از خود نشان دادند ولی مقالات رشد ۲٤ ساعته را برای شمردن باکتریهای گرم منفی ذکر کردند و فقط رشد آنها را در ابتدای تخمیر اندک ذکر کردند.پس در مورد رشد باکتریهای گرم منفی در کشت ۲٤ ساعته بعد از ۲۰ روز از شروع تخمیر که نمونه برداری ما انجام شد، هیچ رشدی دیده نشد ولی در کشت ٤۸ ساعته رشد باکتریهای گرم منفی را به مقدار خیلی کمتر از باکتریهای اسید لاکتیک و مخمرها مشاهده کردیم.

به عبارت دیگر در این تحقیق تلقیح استارترکالچر کنترل میکروبیولوژی عملکرد آن در تخمیرزیتون بهینه سازی صورت پذیرفت. تحقیق در مورد پیدا کردن بهترین گونه استارتر هنوز در دنیا دردست مطالعه و بررسی می باشد. ولی به طور روشنی باید ذکر کرد که با وجود نقش اساسی باکتری های لاکتیکی در تخمیر زیتون، استفاده از فقط یک گونه برای تولید زیتون رومیزی با کیفیت مطلوب مناسب نیست. به خصوص در زیتون های سبز، یک جمعیت مخلوط باکتری های اسید لاکتیک را نیاز داریم تا استاندارد خواسته شده را بدست آوریم.

در تفسیر نتایج این تحقیق باید گفت که مخمرها در تمام طول پروسه تخمیر مشاهده گردیدند و باید گفت وجود مخمرها در طول تخمیر زیتون های سبز، در ابتدایی ترین مطالعات این محصول در سال ۱۹٦٥ توسط گنزالس کنچو گزارش شده بود[۱٦].

در تمام طول تخمیر وجود مخمرها مشاهده شد و جمعیت آنها بین LogCFU/ml ٦-٤ مشاهده گردید. همچون نتیجه ای که گارید و فرناندز در سال ۱۹۹۷ گزارش داد یعنی تخمیر توسط باکتری های لاکتیک انجام می شود ولی مخمرها در طی پروسه وجود دارند و جمعیت آنها بین LogCFU/ml ٦-٤ می باشد. باید توضیح داد در طی تخمیر زیتون مسئله مهم این است که رشد مخمرها از LogCFU/ml ۷ بالاتر نرود زیرا همانطور که در سال ۱۹۸٥ فرناندز توضیح داد اگر در طی تخمیر زیتون ها تعداد مخمر از LogCFU/ml ۷ بیشتر شود می تواند باعث تولید شدید CO_2 شود که ممکن است به زیتون ها نفوذ کند و میوه ها را خراب کند. در این بررسی نیز همواره رشد مخمرها زیر LogCFU/ml ۷ بوده است که سلامت زیتون ها را در طی تخمیر تضمین می کند.

به طور کلی باید در تفسیر نتایج گفت در سال ۱۹۷۹ دوران کوینتانا گزارش داد تخمیر لاکتیکی در زیتون هائی که به طور مستقیم در آب نمک قرار می گیرند به ندرت دیده می شود[۹]. ولی در سال۱۹۸٥ گارسیا گارسیا گزارش داد اگر شرایط فیزیکوشیمیائی مناسب برای زیتون هائی که به طور مستقیم در آب نمک قرار می دهیم فراهم باشد، در آنها هم می توانیم تخمیر لاکتیکی مشاهده کنیم که یکی از مهمترین این شرایط پائین آوردن pH با اسید استیک و همچنین برقرار کردن شرایط هوادهی می باشد[۳]. نتایج این تحقیق هم نشان داد که تخمیر لاکتیکی در تخمیر طبیعی زیتون ها (بدون تیمار سود) با فراهم کردن شرایط فیزیکوشیمیائی مناسب اتفاق می افتد. همچنین اضافه کردن لاکتوباسیلوس پلانتاروم در روز پنجم تخمیر باعث می شود توتال اسیدیته در طول تخمیر بالا رفته و pH در طول تخمیر کنترل شود. همچون نتایجی که دوران کوینتانا و گارسیا در سال۱۹۹۳ گرفتند [۲۰].

با تلقیح سویه های آنالیز شده لاکتوباسیل پلانتاروم در پروسه تخمیر به عنوان استارتر، پروسه فرآوری زیتون استاندارد شده بنابراین کنترل مراحل تخمیر با اضافه کردن لاکتوباسیل

3. VRBD

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

پلانتاروم ها سبب جلوگیری از ضایعات می شـود و محـصولی با کیفیت بالا را فراهم می کنـد. هـیچ ضـایعه ایـی در زیتونهـا مشاهده نشد از نظر بافت و مزه تیمارهایی کـه بـا لاکتوباسـیلها فرآوری شده بودند به طـور معنـا داری از بقیـه تیمارهـایی کـه بدون تلقیح لاکتوباسیل ها تیمار شده بودند بهتر بودند.

٤- منابع

[1] V.Marsilio, B.Lanza and N.Pozzi. 1996. Progress in table olive debitlering. JAOCS. Vol.73. No. 5(593-597).

[2] Garrido Fernandez, A., Duran Quintana (1979). Aceitunas negras al natural en salmuera. Grasas y Aceites 30, 301-307..

[3] Garcia Garcia, P., Dura Quintana (1985). Fermentacion de aceitunas negras maduras en salmuera. Grasas y Aceites 36, 14-20.

[4] M.C.Duran, P.Garcia, 1993. Induced lactic acid fermentation during the preservation stage of ripe olives from Hojiblanca cultivar, Journal of Applied Bacteriology 1994. 76, 377-382.

[5] Fernandez Diez,M.J.1983.Olives,p.379-397. In G. Reed(ed.),Food and feed production with microorganusms. Verlag Chemie, Deerfield Beach,Fla.

[6] Vaughn, R. H. 1954. Lactic acid fermentation of cucumbers, sauerkraut and olives, p. 417-478. In L.A. Underkofler and R. J. Hickey (ed), Industrial fermentations, vol. 2. Chemical Publishing Co.,Inc., New York.

[7] Vaughn, R. H., H. C. Douglas, and R.Gililland. 1943. Production of Spanish type green olives. Calif. Agric. Exp. Stn. Bull. 678.

[8] Bobillo, Mercedes and Marshall, Valerie, 1991. Effect of salt and culture aeration on lactate and acetate production by lactobacillus plantarum. Food Microbiology, 8, 153-160.

[9] Duran Quintana, Gonzalez Cancho, 1979, Aceitunas negras al natural en salmuera. IX Ensayos de produccion de 'alambrado' por incubacion de diversos microorganismos aislados de salmueras de fermentacion, Grasa y Accites 30, 361-367.

[10] Vega Leal-Sanchez M. , Ruiz-Barba.J.L. ,Sanchez A.H.Fermentation profile and optimization of green olive fermentation using Lactobacillus plantarum LPCO10 as a starter culture, Journal of Food Microbiology 20(2003)421-430.

[11] Institute of standards & Industrial research of Iran,1371, Processed olive Specifications and test methods,number 987(17,18,19).

[12] Majadi ,Mohsen ,1373,chemical analysis of food (140-141)(161-169)(223-227).

[13] Pearson, Daivid. (1981), Chemical analysis of foods. (11-13,15-22).

[14] Guner Ozay & Mehlika Borcakli, 1996. Effect of brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally balck olive. Food Research International. Vol 28, No.6. pp. 553-559.

[15] ICMSF, 1983. Microorganismos de los alimentos. Volumen 1. technicas de analisis microbiologica. Zaragoza : Editorial Acribia, Spain.

[16] Gonzalez Cancho, F. 1956. Poblacion microbiana de las salmueras de aceitunas. Grasas y Acetes 7, 81-88.

[17] Harrigan & Mccance, 1979. Culture media composition. In laboratory methods in microbiology, pp. 46-54. Leon : Editorial Academic, Spain.

[18] Anon. 1983, International commission on microbiological specifications for food (ICMSF) tecnicas de analysis. Microbiologicos. Vol.I.Zaragoza, Spain : Acribia.

[19] P.Garcia Garcia, M.Duran, 1992. Lactic fermentation during the storage of alorena cultivar untreated green table olives. Journal of Applied Bacteriology 73. 324-336.

[20] - Duran,M.C.,Garcia,P.,1993. Induced lactic acid fermentation during the preservation stage of ripe olives from Hojiblanca cultivar, Journal of Applied Bacteriology 1994. 76, 377-382.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]

Use of *Lactobacillus plantarum* starter culture during green olive fermentation processing with aerated condition

Salami, F. [1 *], Rashedi, M. [2], Mahdian Naser, M. [3]

1. M.Sc. in Microbiology and Biotechnology , Iranian Research Organization of Science & Technology
2. Asistant professor of department of chemistry science ,Tehran university
3. M.Sc. in Microbiology and Biotechnology, Iranian Research Organization of Science &Technology

(Received:89/6/23 Accepted: 89/7/22)

4 lactobacillus plantarum, strains isolated from natural olive fermentation, was used as a starter culture for aerated olive (Manzanilla green olive) fermentation.

Lactic acid bacteria are essential microorganisms in green olive fermentation. Inoculation with a starter culture of *lactobacillus plantaru* 5 – 7days after brining could standardize olive proccessing. This *lactobacillus plantarum* must isolated from olive fermentation that is tolerated to high levels of lactic and acetic acids and high level Nacl concentration and also oleuropein 1%.

Fermentation took place in 4 glass baril (15 L) with 7 kg of olives and 7 L of brine. Baril 1,baril 2 that were treated with 8% salt and 0.1% acetic acid. Baril 3,baril 4 that were treated with 6% salt and 0.3% acetic acid. Inoculation took place in 5 days after brining for baril 2,4. Aerated condition for barils were supplied with aeration column for approximately 190 days and incubated in 28°C. The samples (olives and brines) were taken at different fermentation phases. Physical and chemical analyses of olive during the fermentation were including salt, protein, fat, acidity, moisture,ash and in brine olive were including acidity, salt, reducing sugar, pH.

In this research, the use of suitable *lactobacillus plantarum* starter cultures has the potential to improve the microbiological control of process, increase the lactic acid yield and, accordingly, increasing acidity in brine olive and provide the production of natural fermented green olives of consistently high quality. Thus use of inoculation lactic acid bacteria can applied as a new technology during the olive fermentation.

Key word: *lactobacillus plantarum*, *lactic acid bacteria* ,olive fermentation

* Corresponding Author E-Mail address: farzaneh_salami@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-24]