مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۱ شماره ۳/ سال ۱۴۰۰/ صفحات ۱۶۵ تا ۱۸۳

DOI: 10.22034/FR.2021.41830.1762

تأثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر تغییر خصوصیات شیمیایی و میکروبی زیتون طی عمر ماندگاری

ندا عبداللهی[۱] و مهرنوش تدینی[۲*]

تاریخ دریافت: ۴۰۰/۱/۲ تاریخ پذیرش: ۴۰۰/۳/۵

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

[۲] استادیارگروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران

[*]مسئول مکاتبه: Email: m.t.tadayoni@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: در طی سال‌های اخیر، استفاده از محصولات حاوی باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد آن‌ها گسترش چشمگیری یافت. **هدف**: در این مطالعه به تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، غلظت نمک و درصد اسید استیک بر خصوصیات شیمیایی و میکروبی زیتون طی ۹۰ روز و در دمای ۲۸ °C پرداخته شد. **روش کار**: به منظور اجرای این تحقیق ظروف ۱ کیلوگرم زیتون با دو تیمار (۸ درصد آب‌نمک+۰/۱ درصد استیک اسید) و (٦ درصد آب نمک و ۰/۳ درصد استیک اسید) پر شد. سپس در روز پنجم آزمون، تلقیح باکتری اسیدلاکتیکی صورت گرفت. از ظروف بدون باکتری به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. آزمایش‌های شیمیایی شامل اندازه‌گیری اسیدیته، pH، شوری، پراکسید و آزمایش‌های میکروبی شامل اندازه‌گیری باکتری‌های اسیدلاکتیکی، گرمادوست، مزوفیل، مخمر و قارچ مطابق با استاندارد ملی ایران در طی دوره نگهداری انجام شد. **نتایج**: نتایج نشان داد بار باکتری‌های اسیدلاکتیکی در تیمارهای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و شاهد با افزایش زمان نگهداری افزایش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). کمترین رشد باکتری‌های گرمادوست و بالاترین رشد مزوفیل، مخمر و قارچ در تیمار شاهد اندازه‌گیری شد ($p<۰/۰۵$). ویژگی‌های حسی و pH زیتون در هر دو تیمار شاهد و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* تحت تأثیر نوع اسیدیته و نمک قرار نگرفت ($p<۰/۰۵$). تیمار زیتون دارای باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بالاترین سطح اسیدیته را داشت. **نتیجه‌گیری نهایی**: با توجه به نتایج کاهش سطح نمک (٦ درصد) و افزایش سطح اسید استیک (۰/۳ درصد) در کنار تلقیح باکتری‌های لاکتیکی به خصوص *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* می‌تواند به عنوان روشی کارآمد در طی تخمیر زیتون به کار برده شود.

واژگان کلیدی: باکتری اسیدلاکتیک، زیتون، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، عمر ماندگاری

مقدمه

لاکتوباسیلوس پلانتاروم[1] یکی از گسترده‌ترین و مهم-ترین گونه از خانواده باکتری‌های اسیدلاکتیک است. این ویژگی به دلیل توانایی بالای آن در سازگاری و انطباق با شرایط متفاوت است. از اثرات سلامت بخش اثبات‌شده در مصرف فرآورده‌های غذایی حاوی این باکتری، می‌توان به کاهش عفونت دستگاه گوارش و خطر بیماری التهاب روده‌ای و اثرات تحریک کننده سیستم ایمنی اشاره کرد. پژوهش‌های انجام شده نشان دادند که این باکتری به‌عنوان بازدارنده طبیعی در غذاهای فراوری شده زیستی، از رشد باکتری‌های بیماری‌زا و میکروارگانیسم‌های عامل فساد در طول انبارداری ممانعت و طول عمر دورهٔ نگهداری محصول را افزایش می‌دهد (طباطبائی و نصیرایی ۱۳۹۰ و هاشمی و همکاران ۱۳۹۹). گونه‌های باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* هتروجنوس و تطبیق پذیرند، که اغلب در تخمیرهای گیاهی، لبنیات، گوشت و گندم مشاهده می-شوند و همچنین به طور طبیعی در دستگاه گوارش انسان و حیوان وجود دارند (دیکانگو و همکاران ۲۰۱۱). ، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به دلیل خواص پروبیوتیکی می‌تواند تأثیر مهمی علیه پاتوژن‌های غذایی مضر داشته و سبب آثارسلامتی بخش و افزایش طول عمر غذاهای تخمیری شود. در مطالعه‌ای که در زمینه تخمیر خیار توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* انجام شد، مشخص گردید با رشد مناسب *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا در نمونه، محصولی ایمن و یکنواخت تولید گردید (نیلچیان و همکاران ۱۳۹۲). در سال‌های اخیر با افزایش روند تقاضا در خصوص استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در مواد غذایی، استفاده از این میکروارگانیسم‌های مفید به‌منظور افزایش ارزش تغذیه‌ای و درمانی آنها در صنعت غذا رشد چشمگیری یافته است. از دیرباز محصولات لبنی به‌عنوان اولین منابع مواد غذایی پروبیوتیک شناخته شده‌اند (ریگوبلو ۲۰۱۲)، اما وجود رژیم‌های غذایی ویژه، از جمله گیاه‌خواری، عدم استفاده از ترکیبات گوشتی و محصولات لبنی، مشکلات حاصل از کلسترول بالای شیر و عدم تحمل لاکتوز در بعضی از افراد و...، تقاضا را برای تولید محصولات پروبیوتیک غیر لبنی افزایش داده و سبب شده که توسعه محصولات پروبیوتیک با پایه گیاهی اولویتی برای تحقیقات کلیدی بعدی باشد (اسپینوزا و همکاران ۲۰۱۰). در این زمینه می‌توان به تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه کینوا اشاره نمود (ابراهیمی جم و همکاران ۱۳۹۸). باکتری‌های اسیدلاکتیک از قابلیت تولید ترکیبات ضدمیکروبی متنوعی نظیر اسیدهای آلی، دی استیل استون، پراکسید هیدروژن، پپتیدهای ضدقارچی[2] و باکتریوسین‌ها برخوردار بوده، لذا در مقابل طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا و مولد فساد مؤثر می‌باشند (واکت ۲۰۱٤). زیتون از گیاهان مربوط به جنس olea است. جنس olea از اعضای خانواده اولیاسه[3]شامل تقریباً ۲۰ گونه در مناطق گرمسیری پراکندگی دارد. این میوه با دارابودن ترکیباتی مانند گلوکز، پکتین، مواد معدنی نظیر آهن، پتاسیم، هیدروکسی تیروزول و تیروزول نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی، نورودژنراتیو[4]و سرطان دارد (امام جمعه و همکاران ۱۳۹٦). در جریان تخمیر زیتون، به دلیل رشد و فعالیت میکروفلور طبیعی زیتون، خصوصیات عطری و طعمی جدیدی تولید می‌گردد. باکتری‌های اسیدلاکتیکی نقش مهمی در تخمیر و فرآوری زیتون دارند و ضمن بقا در آب‌نمک، سبب بهبود ویژگی‌های زیتون نیز می‌شوند. پژوهشگران در زمینه استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک و آغازگرهای لاکتیکی برای بهبود ماندگاری و افزایش

[1] *Lactobacillus plantarum*

[2] Antifungal peptides
[3] Oleaceae
[4] Neurodegenerative

ارزش تغذیه‌ای تحقیقات گسترده‌ای انجام داده‌اند. سلامی و همکاران (۱۳۹۰)، تأثیر استفاده از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به‌عنوان کشت آغازگر در پروسه تخمیر زیتون سبز با شرایط هوادهی را موردمطالعه قرارداد. نتایج نشان داد استفاده از این نوع باکتری منجر به بهبود کنترل پروسه میکروبی تخمیر، افزایش اسیدیته می‌گردد. عابد فر و همکاران (۱۳۹۶)، تأثیر درصد نمک، pH و دمای نگهداری بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر ویژگی‌های کیفی زیتون تخمیری را مورد بررسی قرارداد که نتایج نشان داد درصد نمک بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با افزایش دمای نگهداری و افزایش pH دارای تأثیر معنی‌داری است. لومباردی و همکاران (۲۰۱۸)، در پژوهشی به بررسی تأثیر شرایط متفاوت دمای نگهداری بر ماندگاری زیتون تیمار شده طبیعی و تیمار شده با سود پرداخت که نتایج مشخص کرد pH پایین و میزان فنول کل بالای زیتونهای تیمار شده طبیعی(بدون سود)، تأثیر مثبتی بر افزایش عمر ماندگاری زیتون داشت. در بررسی‌های انجام‌شده روی سویه‌های مختلف باکتری‌های لاکتیکی مشخص شده است که این سویه‌ها به آسانی با شرایط تخمیر سازگار شده و قادر به رشد در شرایط اسیدی و نمک بالا می‌باشند؛ لذا هدف از این تحقیق بررسی تأثیر باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* پروبیوتیک بر تغییر خصوصیات شیمیایی و میکروبی زیتون طی عمر ماندگاری بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از زیتون‌های واریته مانزانیلا استفاده شد. زیتون‌ها بعد از قرارگیری در آب نمک در ظروف ۱ لیتری توزین شدند. باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (PTCC 1608) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و پس از فعال‌سازی در محیط کشت MRS Broth (گرمخانه گذاری به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷°C) باکتری مذکور با جمعیت نهایی مشخص (در مقایسه با لوله ۰/۵ مک فارلند) با سانتریفیوژ زیست‌توده تولید در ۵۰۰۰ rpm و در دمای٤°C و به مدت ۱۵ دقیقه از محیط کشت جدا شد (خانی و همکاران ۲۰۱۲). سپس سویهٔ پروبیوتیک فعال *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در هر گرم زیتون در یک حجم مشخص آب‌نمک به نمونه‌های زیتون اضافه شد.

روش کار

ظروف حاوی ۱ کیلو زیتون و نیز ۱ لیتر آب نمک ۸ درصد و ۰/۱ درصد اسید استیک و ظروف حاوی ۱ کیلوگرم زیتون با ۱ لیتر آب نمک ٦ درصد و ۰/۳ درصد اسید استیک پر شدند. در روز پنجم تخمیر، تلقیح (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) انجام شد. از ظروف بدون باکتری به عنوان نمونه شاهد استفاده شد. در طول انجام آزمایش هوادهی نیز انجام و نمونه‌ها در دمای نگهداری۲۸°C نگهداری شدند (سانچز و همکاران ۲۰۰۰). شایان ذکر است که مدت زمان آزمایش ۹۰ روز و آزمایشات در روزهای ۰، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ٦٠، ۷۵ و ۹۰ انجام شد.

آزمایشات شیمیایی

اندازه‌گیری اسیدیته و شوری مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۹۸۷ و اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pH متر مدل MI150 (شرکت میلواکی مارتینی ایتالیا) انجام پذیرفت. میزان پراکسید با استفاده از روش AOAC, 1990 انجام گرفت بدین گونه که از زیتون‌ها به روش سرد (به صورت میکانیکی) روغن‌گیری انجام گرفت. سپس ۵ گرم نمونه روغن به همراه ۳۰ میلی‌گرم محلول اسید استیک – کلروفرم با یدور پتاسیم اشباع مخلوط و با استفاده از هیپوسولفیت سدیم مصرفی، میزان پراکسید تعیین شد.

آزمایشات میکروبی

شمارش جمعیت کپک و مخمر

برای شمارش کپک و مخمر از محیط کشت سابورودکستروزکلرامفنیکل آگار SDA با ۰/۰۱ درصد اکسی‌تتراسیکلین استفاده شد. بعد از آماده‌سازی محیط کشت، ابتدا ۲ میلی‌لیتر از آب ظروف زیتون به دو لوله حاوی ۱ میلی‌لیتر OSB[1]اضافه و مخلوط شدند. سپس لوله‌ها در دمای۲۵°C به مدت ۳ روز گرم‌خانه گذاری شدند. پس از پایان دوره گرم‌خانه گذاری لوله‌ها از نظر کدورت و تغییر رنگ بررسی و با استفاده از لوپ سترون بر روی محیط کشت SDA کشت خطی داده شد. پس از گرم خانه گذاری پلیت‌ها در دمای۲۵°C به مدت ۵ روز، آن‌ها از نظر رشد کلنی بررسی و تعداد باکتری‌ها بر اساس لگاریتم کلنی فورمینگ یونیت بر میلی‌لیتر (log cfu/ml) گزارش شد (استاندارد ملی ایران، شماره ۹۸۷ و ۲۳۲۶).

شمارش باکتری‌های اسید لاکتیکی

برای شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیکی از محیط ام آر اس آگار[2] به همراه ۰/۰۲ درصد سدیم آزاید برای جداسازی باکتری‌های اسیدلاکتیکی استفاده و پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰°C انکوبه شدند. برای این کار از تکنیک استاندارد پلیت برای شمارش میکروارگانیسم‌ها استفاده و تعداد باکتری‌ها بر اساس لگاریتم کلنی فورمینگ یونیت بر میلی‌لیتر (log cfu/ml) گزارش شد (سلامی و همکاران ۱۳۹۰).

شمارش جمعیت باکتری‌های گرمادوست

برای شمارش باکتری‌های گرمادوست از محیط کشت ترمواسیدورانس‌آگار TAA استفاده شد. در ابتدا ۲ میلی‌لیتر از آب بطری زیتون به محیط کشت OSB اضافه شد. سپس لوله‌ها در شرایط هوازی و در دمای ۵۵°C به مدت ۳ روز گرم‌خانه گذاری و پس از پایان این دوره لوله‌ها از نظر کدورت و تغییر رنگ بررسی شدند. پس از کشت باکتری به‌صورت خطی، پلیت‌ها در دمای ۵۵°C به مدت ۴۸ ساعت گرم‌خانه گذاری و از نظر رشد کلنی بررسی و تعداد باکتری‌ها بر اساس لگاریتم کلنی فورمینگ یونیت بر میلی‌لیتر (log cfu/ml) اندازه‌گیری شد (استاندارد ملی ایران، شماره ۹۸۷ و ۲۳۲۶).

ارزیابی باکتری‌های مزوفیل

برای شمارش باکتری‌های مزوفیل از محیط اورنج سرم براث OSB استفاده شد. بررسی رشد باکتری‌های مزوفیل نیز همانند باکتری‌های گرمادوست بود و مراحل کار نیز همانند آن انجام شد. لازم به ذکر است که کشت خطی باکتری‌های مذکور بر روی محیط کشت اورنج سرم آگارOSA صورت گرفت. در پایان پلیت‌ها از نظر رشد کلنی بررسی و تعداد باکتری‌ها بر اساس لگاریتم کلنی فورمینگ یونیت بر میلی‌لیتر (log cfu/ml) گزارش شد (استاندارد ملی ایران، شماره ۹۸۷ و ۲۳۲۶).

ارزیابی حسی

ارزیابی ویژگی‌های حسی و ظاهری با استفاده از فرم‌های ارزیابی حسی به کمک ۵ ارزیاب آموزش‌دیده در رده سنی ۲۵-۴۰ سال و به روش هدونیک ۹ نقطه‌ای صورت گرفت. در این آزمون زیتون‌ها از لحاظ فاکتورهای بو، رنگ، مزه و بافت مورد ارزیابی قرار گرفت (نوردهی و همکاران ۱۳۹۶).

تجزیه و تحلیل آماری

از آنالیز واریانس یک و دوطرفه و نیز تست تکمیل-T test برای تعیین میانگین و سطح اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و شاهد در نرم‌افزار SPSS23 استفاده شد. همچنین تمامی تیمارها دارای ۳ تکرار بودند و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۰ رسم گردید.

نتایج و بحث

بررسی خصوصیات میکروبی زیتون

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های اسیدلاکتیکی در زیتون

[1] Orange serum broth
[2] MRS agar

نتایج نشان داد افزودن استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* باعث افزایش جمعیت باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک در مقایسه با نمونه شاهد می‌شود. این در حالی است که بار باکتری‌های اسیدلاکتیکی در تیمارهای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و شاهد با افزایش زمان نگهداری افزایش معنی‌داری را داشت ($p<۰/۰۵$). بر اساس نمودارهای ۱ و ۲ اوج رشد باکتری‌های اسیدلاکتیکی در دو تیمار *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *شاهد* در روز ٦۰ آزمون و کمترین میزان رشد در ابتدای دورهٔ نگهداری (روز صفر) مشاهده شد. تاکور و جوشی (۲۰۱۷) در بررسی تخمیر لاکتیکی سیب و پریرا و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی فرایند تخمیر سیب با استفاده *لاکتوباسیلوس کازئی*[1] افزایش جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیکی را طی فرایند تخمیر گزارش کردند. همچنین در هر دو تیمار مورد بررسی در این مطالعه کاهش غلظت نمک به ٦ درصد و افزایش اسید استیک به ۰/۳ درصد رشد بالاتر باکتری‌های اسیدلاکتیکی را به دنبال داشت ($p<۰/۰۵$). عابد فر و همکاران (۱۳۹٦) در ارزیابی تأثیر درصد نمک، pH و دمای نگهداری بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* کاهش درصد نمک و افزایش pH را عامل تأثیر گذاری بر افزایش رشد باکتری‌های اسیدلاکتیکی گزارش کردند. اوزی و بورکاخ (۱۹۹٦) افزایش میزان باکتری‌های اسیدلاکتیکی زیتون را در اثر افزایش میزان شوری گزارش کردند که با یافته‌های مطالعهٔ حاضر مغایرت دارد. تغییرات غلظت نمک با تأثیر بر تبادل یونی بین میوه زیتون و آب‌نمک و به‌موازات کاهش pH به‌واسطهٔ مصرف ترکیبات قندی آزاد شده از میوه توسط باکتری و افزایش تولید اسید در طی تخمیر، به شکل معنی‌داری بر پایداری و زنده‌مانی لاکتوباسیلوس‌های تلقیح شده به زیتون مؤثر است ($p<۰/۰۵$) (سلامی و همکاران ۱۳۹۰) که با یافته‌های مطالعهٔ حاضر همخوانی دارد. بر اساس نتایج مطالعهٔ حاضر، اسیدیته و نمک در فرآوری تخمیری به‌عنوان یک هاردل عمل کرده و با حفظ و افزایش بقای باکتریایی، کیفیت زیتون را افزایش داده‌اند.

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های گرمادوست در زیتون

براساس نمودارهای ۳ و ٤، جمعیت باکتری‌های گرمادوست در تیمار باکتریایی و تیمار شاهد، در طول ۹۰ روز نگهداری روندی افزایشی داشت ($p<۰/۰۵$). در تمام روزهای نگهداری کمترین رشد این باکتری‌ها در هر دو تیمار با درصدهای مختلف نمک و اسید استیک در تیمار باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و بالاترین رشد باکتری‌های گرمادوست در تیمار شاهد مشاهده شد ($p<۰/۰۵$). در واقع تغییر سطح نمک و اسید استیک اختلاف معنی‌داری در سطح باکتری‌های گرمادوست بین تیمارها ایجاد نکرد ($p>۰/۰۵$). یکی از مهم‌ترین و دارای قابلیت فوق العاده میکروارگانیسم‌ها باکتری‌های گرمادوست هستند. این باکتری‌ها، باکتری‌های هستند که دمای بهینه رشد آنها، ۵۵°C است (استاندارد ملی ایران ۱۳۹۵). تأثیر جمعیت‌های لاکتوباسیلوسی در کاهش جمعیت سایر گروه‌های لاکتوباسیلوس‌های وحشی[2] و نیز جمعیت‌های دیگر نظیر باکتری‌های مزوفیل و ترموفیل در مطالعات مختلف از جمله نیلچیان و همکاران (۱۳۹۱)، در بررسی تأثیر تخمیر بر روی رشد باکتری‌ها اسیدلاکتیکی و سانچز و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی تأثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی تخمیر زیتون سبز گزارش شده است. لیندگرن ودوبروگوز (۱۹۹۰) گزارش کردند که باکتری‌های اسیدلاکتیکی با داشتن مواد ضدباکتریایی نظیر اسیدهای آلی، دی‌استیل، پراکسید هیدروژن و پروتئین‌های باکتریوسین یا باکتریسیدل در جریان تخمیر لاکتیکی مانع از رشد سایر گروه‌های باکتری‌های گرمادوست می‌شوند ($p<۰/۰۵$).

[1] *Lactobacillus casei*

[2] Wild Lactobacillus strains

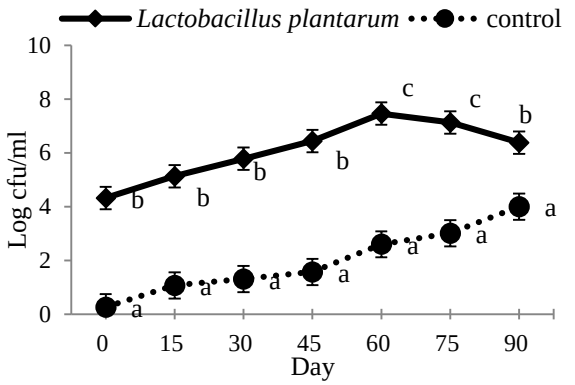
بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های مزوفیلیک در زیتون

طبق نتایج به‌دست‌آمده در هر دودسته تیمار (نمک ۸ درصد + استیک اسید ۰/۱درصد) و (نمک ٦ درصد +استیک اسید ۰/۳درصد) روندی افزایش جمعیت بار باکتریایی تا روز ٦۰ ادامه داشت سپس روندی کاهشی در پیش گرفت ($p<۰/۰۵$). در سطوح مشابه نمک و استیک اسید تیمار شاهد بیشترین جمعیت باکتریایی و تیمار باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* کمترین بار باکتری‌های مزوفیلیک را به خود اختصاص داد ($p<۰/۰۵$). طبق استاندارد ملی ایران دمای بهینه رشد باکتری‌های مزوفیلیک۳۰°C-۳۵ است (استاندارد ملی ایران ۱۳۹۵). نتایج بیان‌کننده تأثیر معنادار کاهش سطح نمک و افزایش سطح استیک اسید بر افزایش رشد باکتری‌های مزوفیلیک بود. اسیدهای آلی تولیدشده توسط باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نظیر لاکتیک، استیک و پروپیونیک اسید نقل‌وانتقال از طریق دیوارهٔ سلولی را متوقف می‌کنند، pH درون‌سلولی را کاهش می‌دهند و درنهایت فعالیت‌های متابولیک کاهش می‌یابد (تاکور و جوشی ۲۰۱۷) که این امر کاهش رشد باکتری‌های مزوفیلیک را توجیه می‌کند. نیلچیان و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعهٔ تأثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر جمعیت میکروبی خیار، بار باکتری‌های مزوفیل حاوی ۷ درصد نمک را کمتر از میزان باکتری‌های تیمار دارای ۵ درصد نمک گزارش کردند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد. طبق نظر برخی محققین افزایش سطح نمک تأثیر نامناسبی بر روی رشد میکروارگانیسم‌های نامناسب دارد (چامن و همکاران ۲۰۰۵). در این راستا تاکور و جوشی (۲۰۱۷) کاهش جمعیت باکتری‌های مضر در جریان تخمیر سیب با استفاده از باکتری *باسیلوس استئاروترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را مورد تأیید قرارداد.

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار مخمر وکپک در زیتون

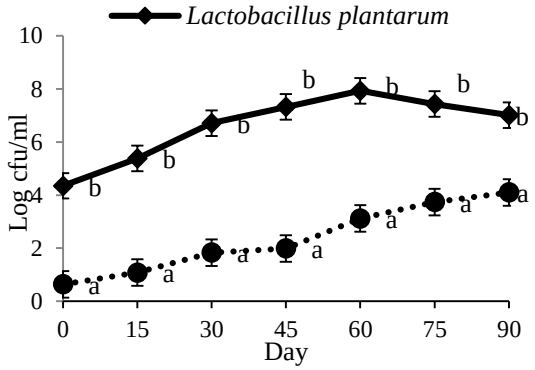
نتایج این بخش از مطالعه گواه این واقعیت بود که روند افزایش بار مخمر و کپک با زمان در هر ٤ تیمار معنی‌دار بود است ($p<۰/۰۵$). مقایسه بین تیمارها نشان داد که در هر دو تیمار نمک ۸ درصد + استیک اسید ۰/۱درصد و نمک ٦ درصد + استیک اسید ۰/۳ درصد) تیمار باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به‌خصوص در روزهای ٦۰، ۷۵ و ۹۰ بار کپک و مخمری کمتری در مقایسه با تیمار شاهد داشت ($p<۰/۰۵$). در روزهای ابتدایی بین دو تیمار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$). اما در روز ٤۵ تیمار *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به طور معنی‌داری در مقایسه با نمونه شاهد بالاترین جمعیت مخمر و کپک را در برداشت. ($p<۰/۰۵$). در مطالعهٔ آریوو و همکاران (۲۰۰۵) در ارزیابی رشد مخمر پیشیا آنومالا[1]کاهش pH و نمک را عامل افزایش رشد مخمر گزارش کردند. تاکور و جوشی (۲۰۱۷) در بررسی فرایند تخمیر سیب با استفاده از دو باکتری *باسیلوس استئاروترموفیلوس*[2] و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* کاهش رشد مخمرها و کپک‌ها با افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتیکی را گزارش کردند. اوزی و بورکاکلی (۱۹۹٦) رشد باکتری‌های لاکتیکی در محدودکردن اثرات منفی مخمرهای فساد را بر روی کیفیت محصول را مورد تأیید قرار دادند اما این رشد تحت تأثیر شوری و زمان نگهداری قرار نداشت که با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد. با توجه به اینکه جمعیت بالای مخمر با تولید شدید دی‌اکسید کربن، سبب نفوذ این گاز به درون زیتون و تخریب آن می‌شود. زیتون‌های نمونه‌های دارای استارترهای لاکتیکی، مدت ماندگاری بالاتری دارند.

[1] Yeast Pichia anomala
[2] B. stearo thermophilus



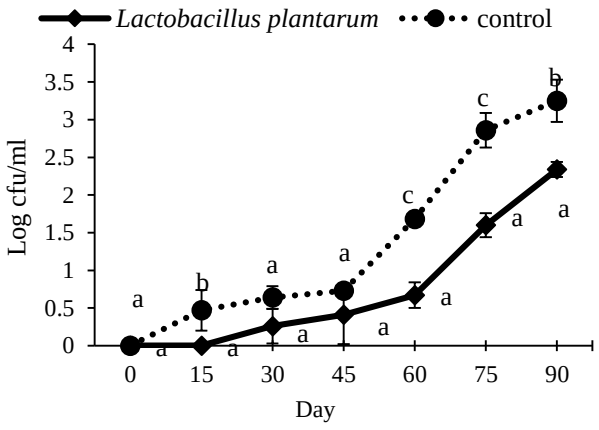
شکل ۱- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک در زیتون (نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 1- Effect of lactic acid starter on the load of lactic acid producing bacteria in olive (NaCl 8% + Acetic acid 0.1%)



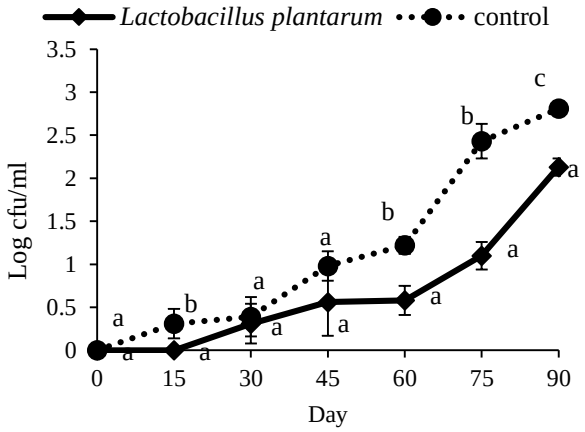
شکل ۲- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک در زیتون (نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 2- Effect of lactic acid starter on the load of lactic acid producing bacteria in olive (NaCl 6%+ Acetic acid 0.3%)



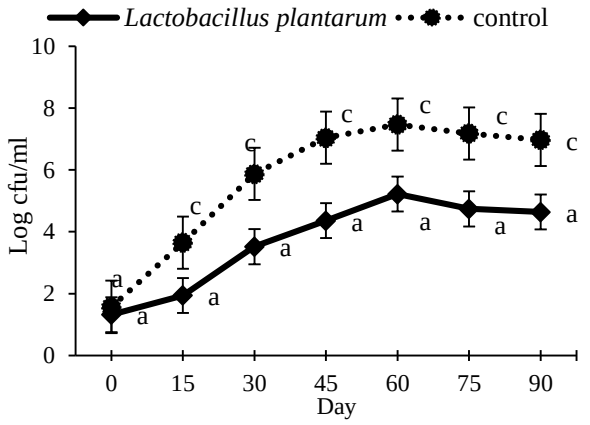
شکل ۳- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های گرمادوست در زیتون (نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 3-The effect of lactic acid starter on the load of thermophilic bacteria in olive (NaCl 8%+ Acetic acid 0.1%)



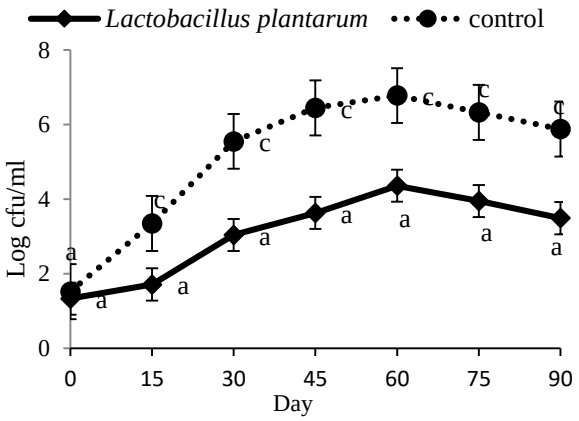
شکل ۴- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های گرمادوست در زیتون(نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 4- The effect of lactic acid starter on the load of thermophilic bacteria in olive (NaCl 6% + Acetic acid 0.3%)



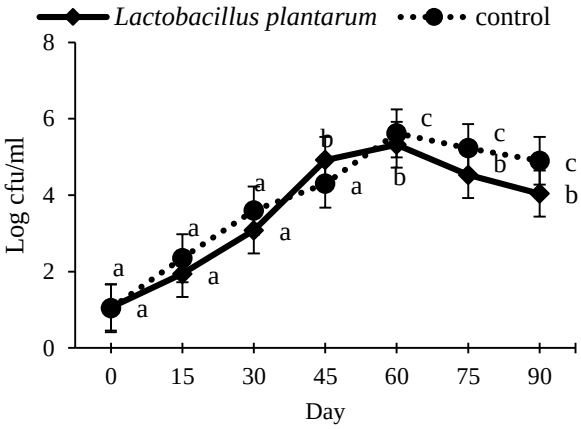
شکل ۵- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های مزوفیلیک در زیتون (نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 5-The effect of lactic acid starter on the load of Mesophilic bacteria in olive (NaCl 8%+ Acetic acid 0.1%)



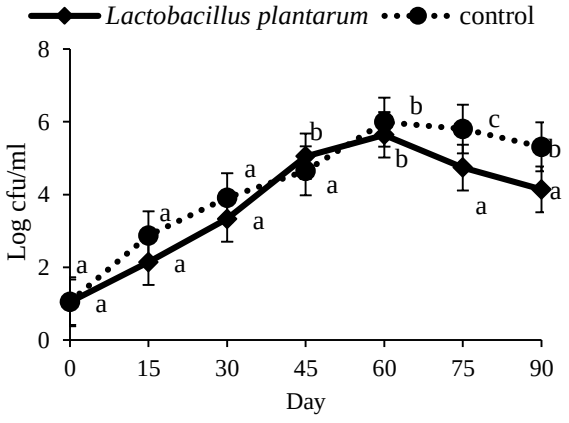
شکل ۶- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار باکتری‌های مزوفیلیک در زیتون (نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 6-The effect of lactic acid starter on the load of Mesophilic bacteria in olive (NaCl 6%+ Acetic acid 0.3%)



شکل ۷- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار مخمر وکپک در زیتون(نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 7-The effect of lactic starter on yeast and mold load in olive (NaCl 8% + Acetic acid 0.1%



شکل ۸- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر بار مخمر و کپک در زیتون (نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 8-The effect of lactic starter on yeast and mold load in olive (NaCl 6% + Acetic acid 03%

Lowercase letters mean a significant difference between treatments per day (P <0.05).

بررسی خصوصیات شیمیایی زیتون

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر اسیدیته زیتون

طبق نتایج به‌دست‌آمده در نمودارهای ۹ و ۱۰ درصد اسیدیته بین تیمار باکتریایی و شاهد در تمامی روزهای آزمون دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). بر اساس استاندارد حداقل مقدار اسیدیته ۰/٤درصد تعیین شده است که در همهٔ تیماری‌های مورد آزمایش با گذشت زمان، اسیدیته افزایش چشمگیری داشت در این راستا تاکور و جوشی (۲۰۱۷)، یون و همکاران (۲۰۰۵) و شارما و جوشی (۲۰۰۹) به ترتیب در بررسی تخمیر سیب، چغندر و هویج نیز کاهش pH و افزایش اسیدیته را با افزایش زمان تخمیر گزارش کردند. اوزی و بورکاکلی (۱۹۹٦) عدم تغییر در میزان اسیدلاکتیک زیتون سیاه را ناشی از رشد میکروبی در اثر شوری عنوان کردند و بالاترین میزان اسیدلاکتیک در ظروف زیتون حاوی کمترین میزان شوری بود اما افزودن اسید استیک، سبب افزودن اسیدیته شد که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد. تفاوت در نوع زیتون مورداستفاده، مراحل تخمیر، نوع باکتری و نیز درصدهای متفاوت شوری و اسید استیک از جمله دلایل این مغایرت است. در سطوح مشابه اسید استیک و نمک اسیدیته در تیمار زیتون دارای باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بالاترین سطح و تیمار شاهد کمترین سطح اسیدیته را داشت. افزایش اسیدیته در تیمارهای دارای باکتری، بخصوص در انتهای دورهٔ نگهداری، به دلیل افزایش باکتری‌های اسیدلاکتیک و مصرف بالای قندها و تولید اسیدلاکتیک است. در مطالعهٔ سلامی و همکاران (۱۳۹۰) بالاترین میزان اسیدیته را در

انتهای دوره ناشی توانایی لاکتوباسیلوس‌های تلقیح شده در جلوگیری از رشد لاکتوباسیلوس‌های وحشی به‌ویژه جمعیت کوکسی‌های اسیدلاکتیک عنوان کردند که سبب شد جمعیت باکتری‌های تخمیری به جمعیت غالب تبدیل شده و با تبدیل قندها به متابولیت‌های ثانویه توسط میکروب‌ها تا انتهای دوره سبب افزایش اسیدیته شوند. از دلایل پایین بودن اسیدیته و pH می‌توان به فعالیت مخمرها اشاره کرد که با توجه به سطح بالاتر میزان مخمرها در تیمار شاهد این موضوع قابل تأیید است.

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر شوری زیتون

بر اساس نتایج به دست آمده درصد شوری در تیمارهای مورد آزمون با گذشت زمان نگهداری به طور معناداری افزایش یافت. این روند در تمام روزهای آزمون به جز روز صفر بین ۲ تیمار *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و شاهد دارای اختلاف معنی‌داری بود ($p<۰/۰۵$). شوری در تیمارهای با غلظت بالاتر نمک و سطوح کمتر اسید استیک، میزان بالاتری داشت ($p<۰/۰۵$). در ابتدای تخمیر به دلیل تبادل یون بین میوه و آب‌نمک، سطح شوری مقدار کمی را نشان می‌دهد اما با ادامهٔ زمان نگهداری، میزان نمک ورودی به آب افزایش می‌یابد که این امر سبب بالارفتن درصد شوری خواهد شد. پویانا و رومئو (۲۰۰۶) افزایش میزان شوری از ۵ به ٦ درصد پس از ۷۵-٦۰ روز و ۷ درصد بعد از ۹۰ روز گزارش کردند که با روند افزایش درصد شوری در مطالعهٔ حاضر همخوانی دارد. بالاترین سطح شوری در تیمار شاهد و پایین‌ترین آن به تیمار *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* متعلق بود. بر اساس استاندارد ملی ایران (۱۳۹٤)، میزان شوری در کنسرو زیتون فرآیندشده، ۵ درصد وزنی تعیین شده است که با توجه به نتایج شوری در تیمارهای (نمک ۸ درصد + استیک اسید ۰/۱ درصد) باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و شاهد از حد مجاز عبور کرد اما در تیمارهای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، دارای (نمک ٦ درصد+ استیک اسید ۰/۳ درصد) تا روز ۹۰ و در تیمار شاهد تا روز ۷۵ در محدودهٔ مجاز قرار داشت (استاندارد ملی شماره ۱۹۹۱۷ ایران).

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر pH زیتون

همان گونه که در نمودارهای ۱۳ و ١٤ مشخص است pH زیتون در طول ۹۰ روز نگهداری در سطوح مختلف غلظت نمک و اسید استیک کاهش معناداری یافت ($p<۰/۰۵$). اما مقدار pH در تیمارهای مورد بررسی تحت تأثیر اسیدیته و نمک قرار نگرفت ($p<۰/۰۵$). این نتایج هم راستا با نتایج دیگر محققین است (تاکورو جوشی ۲۰۱۷). در غلظت مشابه نمک و اسید استیک، کمترین و بیشترین مقدار pH به ترتیب در تیمارهای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و شاهد مشاهده شد. مقاومت این باکتری‌ها به pH پایین می‌تواند به علت تولید ترکیباتی مانند پلی‌ساکاریدها در دیواره سلولی باشد که از مانع از تأثیر اسید بر روی غشای سلولی می‌شود. سلامی و همکاران (۱۳۹۰) افزایش اسیدیته و افزایش تولید اسیدلاکتیک را در اثر فعالیت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را گزارش کردند که با یافته‌های مطالعهٔ حاضر همخوانی دارد.

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر پراکسید زیتون

حد بیشینه عدد پراکسید طبق استاندارد ملی و شورای بین‌المللی زیتون ۲۰ میلی اکی‌والان در کیلوگرم می‌باشد که با توجه به نمودارهای مربوطه هیچ یک از تیمارها از محدودهٔ مجاز تعیین شده عبور نکردند. هماپور و همکاران (۱۳۹۳) عدد پراکسید زیتون زرد شیراز، روغنی شیراز، زرد کارون و روغنی کارون را به ترتیب ۱۹/۷۳، ۲۱/٦۰، ۱۹/۸۵ و ۲۹/٤۵ میلی اکی‌والان بر کیلوگرم گزارش کردند که از اعداد به‌دست‌آمده در مطالعهٔ حاضر بسیار بالاتر است. میزان پراکسید به‌عنوان شاخص اکسیداسیون اولیه در تیمارهای (نمک ٦ درصد +استیک اسید ۰/۳ درصد) بالاتر از تیمارهای (نمک ۸ درصد +

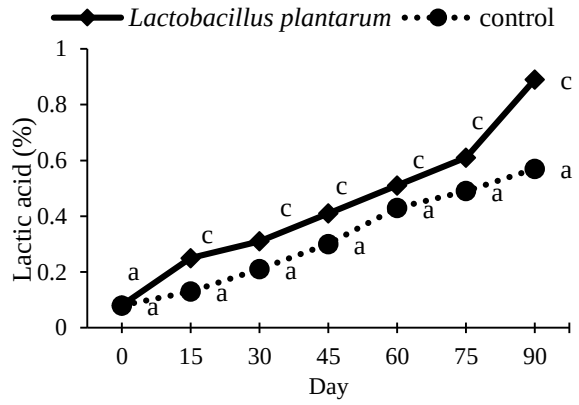
استیک اسید ۰,۱ درصد) بود. در هر دو دستهٔ (نمک ۸ درصد + استیک اسید ۰/۱ درصد) و (نمک ٦ درصد +استیک اسید ۰,۳ درصد) بین تیمار باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و شاهد در روزهای ٤٥، ٦٠، ۷۵ و ۹۰ اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p<۰/۰۵$). در طول دورهٔ نگهداری در هر دو نمودار، تیمار شاهد کمترین میزان پراکسید و تیمار باکتریایی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بالاترین میزان پراکسید را دارا بود ($p<۰/۰۵$). بالاترین سطح پراکسید در روز ۹۰ و کمترین آن در روز صفر اندازه‌گیری شد.

بررسی اثر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی ویژگی‌های حسی زیتون

بررسی استارترهای لاکتیکی بر روی ویژگی‌های حسی زیتون بین تیمارهای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، و شاهد در جدول ۱ در غلظت‌های متفاوت نمک و استیک اسید نشان‌داده‌شده است. بر اساس هر دو نمودار، بالاترین امتیاز حسی به تیمار *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* تعلق داشت ($p<۰/۰۵$) و تیمار شاهد با اختلاف معنی‌دار با هر دو گروه باکتریایی کمترین امتیاز حسی را به خود اختصاص داد ($p<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که بررسی خصوصیات حسی زیتون در تیمارهای موردمطالعه تحت تأثیر نوع اسیدیته و نمک قرار نگرفت ($p<۰/۰۵$). افزایش فعالیت سویه‌های پروبیوتیک در زیتون تخمیری، سرعت مصرف قند احیاکننده را افزایش داده که این امر تأثیر مستقیمی بر روی بهبود ارزیابی‌های حسی محصول تولید می‌گذارد (فرناندز و همکاران ۱۹۸۳). گارسیا و همکاران (۱۹۸۵) گزارش کردند که حضور *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس بروویس*[1] موجود در آب‌نمک با تولید اسیدلاکتیک و اسید استیک و افزایش اسیدیته با بروز طعمی ملایم پذیرش کلی محصول را افزایش می‌دهد. همچنین هورتادو و همکاران (۲۰۱۰) افزایش حضور *لاکتوباسیلوس پنتوس*[2] در زیتون را عامل کاهش زنده‌مانی سویه‌های انتروباکتریاسه و بهبود ویژگی‌های حسی گزارش کردند. عابدفر و همکاران (۱۳۹٦) نیز تأثیر متقابل افزایش دمای نگهداری با کاهش درصد نمک و افزایش جزئی pH را عامل افزایش پذیرش کلی محصول تولیدی با تلقیح *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در زیتون تخمیری را گزارش کردند. مطالعات نشان داده است که در میان گونه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به‌عنوان عادت‌پذیرترین گونه شناخته شده است .ژنوم بزرگ و توانایی آنزیمی قوی باعث شده است تا این باکتری در منابع زیستی متفاوت با شرایط زیستی مختلف حضور داشته باشد (تونگ دن و همکاران ۲۰۱۹).

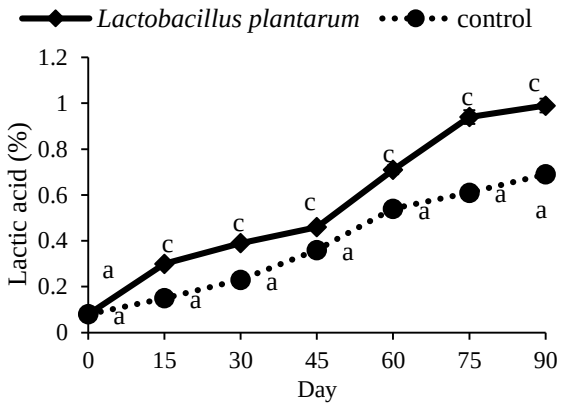
[1] Lactobacillus brevis

[2] Lactobacillus pentus



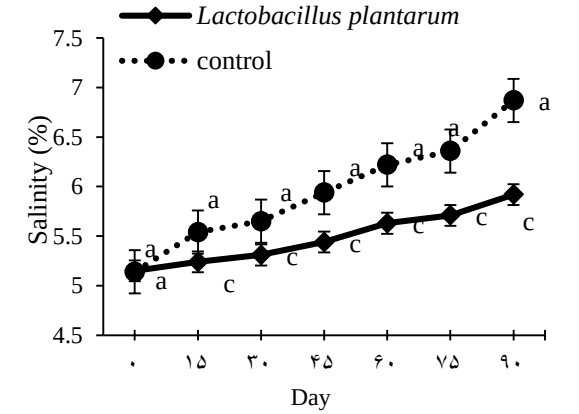
شکل ۹- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*
بر روی اسیدیته زیتون(نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 9- Effect of lactic acid starter on olive acidity (NaCl 8% + Acetic acid 0.1%)



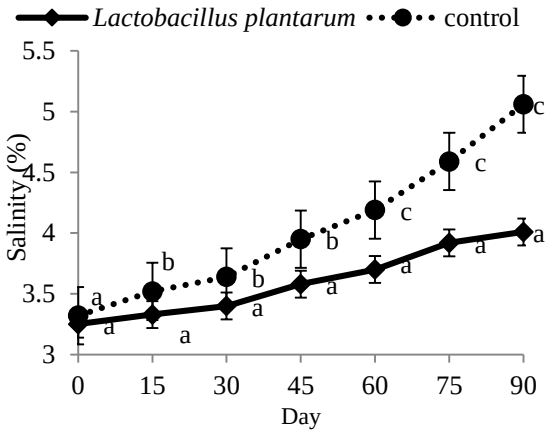
شکل ۱۰- تأثیراستارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*
بر روی اسیدیته زیتون(نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 10 - Effect of lactic acid starter on olive acidity (NaCl 6% + Acetic acid 0.3%)



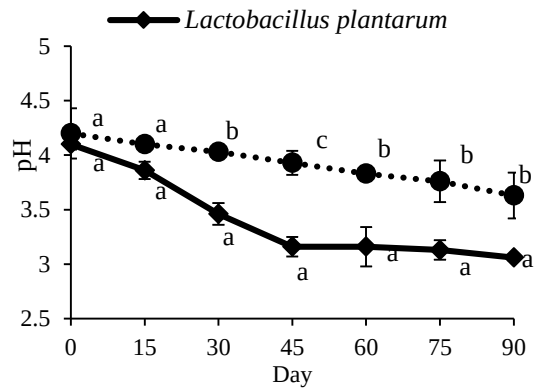
شکل ۱۱- تأثیر استارتراکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*
بر روی شوری زیتون(نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 11- Effect of lactic acid starter on olive salinity (NaCl 8% + Acetic acid 0.1%)



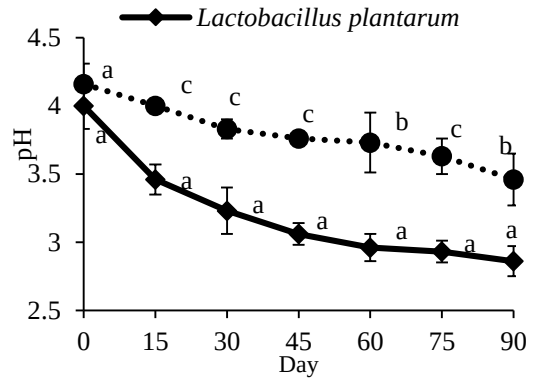
شکل ۱۲- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*
بر روی شوری زیتون (نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 12- Effect of lactic acid starter on olive salinity (NaCl 6% + Acetic acid 0.3%)



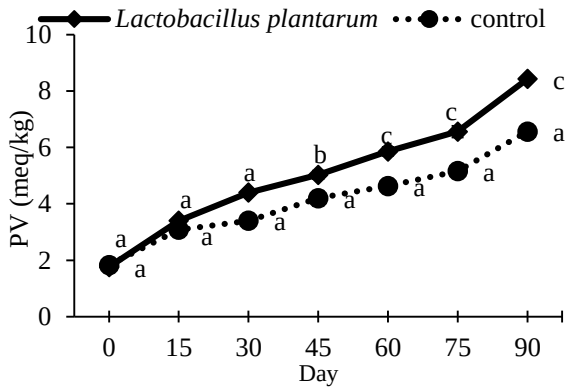
شکل ۱۳- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*
بر روی pH زیتون(نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 13- Effect of lactic acid starter on olive pH (NaCl 8% + Acetic acid 0.1%)



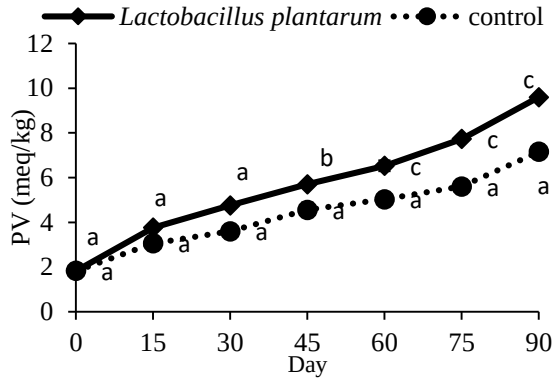
شکل ۱۴- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*
بر روی pH زیتون(نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 13- Effect of lactic acid starter on olive pH (NaCl 6% + Acetic acid 0.3%)



شکل ۱۵- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی پراکسید زیتون (نمک ۸٪ + استیک اسید ۰,۱٪)

Figure 15- Effect of lactic acid starter on olive peroxide (NaCl 8% + Acetic acid 0.1 %)



شکل ۱۶- تأثیر استارتر لاکتیکی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر روی پراکسید زیتون (نمک ۶٪ + استیک اسید ۰,۳٪)

Figure 16- Effect of lactic acid starter on olive peroxide (NaCl 6% + Acetic acid 0.3%)

جدول ۱- تاثیر استارتر لاکتیکی لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر ویژگی‌های حسی زیتون (نمک ۸٪+ استیک اسید ۰,۱٪) و (نمک ۶٪+ استیک اسید۰,۳٪)

Table1. The effect of lactic acid starter on the sensory properties of olive (NaCl 8% + Acetic acid 0.1%) and (NaCl 6%+ Acetic acid 0.3%)

Aroma		Texture		Color and appearance		Sensory properties
control	*Lactobacillus plantarum*	control	*Lactobacillus plantarum*	control	*Lactobacillus plantarum*	Treatment
5.8^{a}	7.6^{c}	5.7^{a}	7^{c}	4.6^{a}	6.4^{c}	NaCl 6% + Acetic acid 0.3%
5.2^{a}	7.2^{c}	4.8^{a}	6.2^{c}	4^{a}	6.8^{c}	NaCl 8% + Acetic acid 0.1%

نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت و مزایای گسترده استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در زندگی و سلامت انسان، بهتر است از این میکروارگانیسم‌ها در طیف گسترده‌تری از محصولات غذایی از جمله زیتون بهره برد. باکتری‌های اسید لاکتیک نقش اساسی در مهار فعالیت میکروارگانیسم‌های ناخواسته ایفا می‌کنند، همچنین در تجزیه الئوروپین و تلخی‌زدایی از زیتون مورداستفاده قرار می‌گیرند؛ بنابراین افزایش جمعیت این گروه از باکتری‌ها منجر به افزایش ارزش پروبیوتیکی محصول تولیدی می‌شود. در مطالعهٔ حاضر رشد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در شرایط شوری و اسیدی مورد آزمایش در مقایسه با *نمونه شاهد* عملکرد بهتری ایفا کرد. همچنین نتایج نشان داد که تیمارهای زیتون با ٦ درصد نمک و ۰/۳ درصد استیک اسید از نظر کاهش رشد مخمرها و سطح اسیدیته و شوری، شرایط مناسب‌تری را برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیکی فراهم می‌کند.

منابع مورد استفاده

ابراهیمی جم س، زرین قلمی س و گنجلو ع، ۱۳۹۸، تولید نوشیدنی تخمیری بدون گلوتن بر پایه کینوا توسط باکتریهای پروبیوتیک، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹(۱)، ٤۲-۲۷.

استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۲٦، ۱۳۹۵، میکروبیولوژی مواد غذایی کنسرو شده- سترونی تجاری- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.

استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۹۱۷، ۱۳۹٤، افزودنی‌های خوراکی- میزان نمک خوراکی در فرآورده‌های غذایی، حدود مجاز.
استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۷، ۱۳۹٤، زیتون شور، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.
امام جمعه ع، شهنوازی پ و حسنین پ، ۱۳۹٦، بررسی اثرات فیزیولوژیک زیتون از دیدگاه قرآن و تغذیه، مجلهٔ طب سنتی اسلام و ایران، ۸ (۱)، ۷٤-٦۷.
سلامی ف، اصفهانی بلند بالایی ز و علی نسبت ل، ۱۳۹۰، ارزشیابی حسی زیتون در پروسه تخمیر زیتون سبز با شرایط هوادهی (با استفاده از *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به عنوان کشت آغازگر)، هفتمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران.
سلامی ف، راشدی ح و مهدیان ناصر ح، ۱۳۹۰، استفاده از لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌عنوان کشت آغازگر در پروسه تخمیر زیتون سبز با شرایط هوادهی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۸ (۲۸)، ۱۰٦-۹۹.
صادقی ع و ابراهیمی م، ۱۳۹۵، جداسازی، شناسایی مولکولی و ارزیابی ویژگی‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس‌های غالب در خمیرترش آرد کامل گندم، مجله دنیای میکروب‌ها، ۲، ۱٤٤-۱۳۳.
طباطبایی ف و نصیرایی ل،۱۳۹۰، جداسازی و شناسایی باکتری‌های خانواده اسیدلاکتیک فلور میکروبی شیر مادر به روش سکوئنس DNA در ناحیه S۱٦ ریبوزومی، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲ (۲)، ۱۷۷-۱٦۷.
عابدفر ع، ابراهیمی م، صادقی ع و غلامحسین پور ع، ۱۳۹٦، ارزیابی تأثیر درصد نمک، pH و دمای نگهداری بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ویژگی‌های کیفی زیتون تخمیری به روش سطح پاسخ، فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی، ۲(٤)، ۱۷-۱.
نوردهی م، فرمانی ج و باقری ر، ۱۳۹٦، مطالعه ارتباط بین صفات حسی و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن زیتون فرابکر، مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱٤ (۷۲)، ۷۸-٦۷.
نیلچیان ز، رضوی س و رحیمی ا، ۱۳۹۱، تأثیر لاکتوباسیلوس پلانتاروم بر جمعیت میکروبی خیارهای تخمیری ایرانی، مجله بهداشت مواد غذایی، ۲، ۱۰٤-٦۹.
هاشمی ب، جعفرپور د، زرین پور بالایی م و عطایی پ، ۱۳۹۹، کاربرد لاکتوباسیلوس پلانتاروم در تولید فرآورده‌های تخمیری غذایی، چهارمین کنفرانس بین المللی علوم صنایع غذایی، کشاورزی و امنیت غذایی.
هماپور م، حامدی م، مصلحی‌شاد م و صفافر ح، ۱۳۹۳، بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی دو رقم زیتون زرد و روغنی شهرهای شیراز و کازرون. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۹، ۱۳۰-۱۲۱.
Arroyo FN and Garrido Fernandez A, 2005. Evalution of primary models to describe the growth of Pichia anomala and study of temperature by response surface methodology, Journal of Food Protection 68: 562-570.
Chammem N, Kachouri M, Mejri M, Peres C, Boudabous A and Hamdi M, 2005. Combined effect of alkali pretreatment and sodium chloride addition on the olive fermentation process, Journal of Bioresource Technology 96: 1311-1316.
DiCagno R, Surico RF, Mnrini G, Rizzello CG, Lovino R, Sevili M, Taticchi A, Urbani S and Gobbetti M, 2011. Exploitation of sweet cherry (Prunus avium L.) puree added by stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria, Food Microbiology 28: 900–909.
Fernandez Diez MJ, 1983. Olives p, 379- 397. In G. Reed (ed.), Food and feed production with microorganusms, Verlag Chemie, Deerfield Beach, Fla
Garcia Garcia P, Quintana C, Balbuena B and Fernandez G, 1992. Lactic fermentation during the storage of Alorena cultivar untreated green table olives, Journal of Applied Bacteriology 73: 324-330.
Hurtado S, Cuellar M, Guillermo-Wann C and Velasco P, 2010. Empirically defining validation, sense of belonging and navigational actions for students in diverse institutional actions for students in diverse institutions: The diverse learning environments survey. In 50th annual forum for the association for institutional research. May 31, Chicago, USA. 44.
Joshi VK and Sharma S,. 2009. Lactic acid fermentation of Radish for shelf –stability and pickling, Natural Product Radiance 8(1): 19-24.

Khani S, Motamedifar M, Golmoghaddam H, Mahmoodzadeh Hosseini H and Hashemizadeh Z, 2012. In vitro study of the effect of a probiotic bacterium Lactobacillus rhamnosus against herpes simplex virus type 1, The Brazilian Journal of Infectious Diseases 16(2): 129-35.

Lindgren SW and Dobrogosz WJ, 1990. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations, FEMS Microbiology Reviews 87: 149-164.

Lombardi SJ, Macciola V, Iorizzo N and DE Leonardis A, 2018. Effect of different storage conditions on the shelf life of natural green table olives, Italian Journal of Food Science 30: 414-427.

Ozay G and Borcakli M, 1996. Effect of brine replacement and salt concentration on the fermentation of naturally black olives, Food Research International 28: 553-559.

Pereira AL, Maciel TC and Rodrigues S, 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*, Food Research International 44: 1276- 1283.

Poiana M and Romeo FV, 2006. Changes in chemical and microbiological parameters of some varieties of Sicily olives during natural fermentation, Grasas Y Aceites 57: 402- 408.

Rigobelo EC, 2012. Probiotis, UNESP Uni Estadual Paulista, Brazil, 600pp.

Rivera-Espinoza Y and Gallardo-Navarro Y, 2010. Non-dairy probiotic products, Food Microbiology 27(1): 1- 11.

Sanchez I, Palop L and Ballesteros C, 2000. Biochemical characterization of lactic acid bacteria isolated from spontaneous fermentation of 'Almagro' eggplants, International Journal of Food Microbiology 59: 9-17.

Vega Leal-Sanchez M, Ruiz-Barba JL and Sanchez AH, 2003. Fermentation profile and optimization of green olive fermentation using Lactobacillus plantarum LPCO10 as a starter culture, Journal of Food Microbiology 20: 421- 430.

Thakur A and Joshi K, 2017. Preparation of Probiotic Apple Juice by Lactic Acid Fermentation, International Journal of Food Fermentation Technology 7: 67- 85.

Dan T, Chen H, Li T, Tian J, Ren W, Zhang H and Sun T, 2019. Influence of Lactobacillus plantarum P-8 on Fermented Milk Flavor and Storage Stability, Frontier in Microbiology 9: 1- 14.

Wackett LP, 2014. Antibiosis in the environment, Environmental Microbiology Reports 6 (5): 532- 533.

Yoon KY, Woodams EE and Hang YD, 2005. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria, Lebensmittel- Wissenschaft und Technologie 38(1): 73− 75.

Journal of Food Researches/vol.31 No.3 2021/pp 165-182
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir
DOI: 10.22034/FR.2021.41830.1762

Effect of *Lactobacillus plantarum* on the changes of chemical and microbial properties of olive during shelf life

N Abdolahi[1] and M Tadayoni[2*]

Received: March 22, 2021 Accepted: May 26, 2021
[1]MSc Graduate, Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.
[*]Corresponding Author: m.t.tadayoni@gmail.com

Introduction: One of the most critical factors affecting the health of any individual is nutrition. Patterns of food consumption play an important role in causing or preventing diseases. Functional Foods refer to products that, in addition to nutritional content, affect their consumers' health. Probiotic foods are considered to be viable products that contain sufficient quantities of probiotic microorganisms. Probiotics are live microorganisms (bacteria or yeast), which should be metabolically stable and remain active in the product; along the pathway before the digestion process, a large number of survivors reach the intestinal epithelial cells, colonize and leave beneficial effects on the host intestine, all of which can lead to increased host life. One of the types of probiotic bacteria is lactic acid bacteria. These bacteria can produce organic acids and bacteriocins and have antimicrobial activity (Tsai et al., 2010; Bonatsou et al., 2017). These microorganisms are easily adapted to fermentation conditions and can grow in high acid and salt conditions. These bacteria are non-pathogenic and capable of lowering pH through metabolic activities (Bonatsou et al., 2015). Dairy products are the best matrices for the delivery of probiotic bacteria but due to the larg number of lactose-intolerance cases, high fat and cholesterol conten of dairy product and growing tendency to vegetarianism researcher in search for non dairy probitic products. With regard to increased awareness of consumer to health prompting effect of probiotic product their market is growing. Application of non dairy matrices including vegetable, cereal and fruit have been studied to delivery of probiotic bacteria (Aspri et al., 2020). These lactic acid bacteria also reduce phenolic compounds and create a pleasing odor in the final product by creating volatile compounds (George-John &Nychas, 2017). The selection of starter cultures depends on several aspects, such as type of studied medium, growth potential, acidifying capacity, salt and pH tolerance, probiotic potential, metabolic capacity. The microbial debittering property of the selected starter is fundamental, and this route could be an alternative to chemical debittering. *Lactobacillus plantarum* is one of the most common bacteria of the genus Lactobacillus. This gram-positive bacterium can hydrolyze gelatin and grow well at 15° C but cannot grow at 45 °C. Production of antimicrobial agents by *Lactobacillus plantarum* helps the species survive in the plant. Today, the use of these bacteria in various foods is remarkable because of their prominent properties. Fermented green olive one of the desirable agriculture food that are cosumed in the world. Application of probiotic lactic acid bacteria in fermented olive due to acidity, storage condition and evaluation of their effect on sensory attribute and shelf life of product represent great challenges. Therefore, the aim of this study was to evaluare the effect of *Lactobacillus plantarum* starter, salt concentration, and acetic acid percentage on chemical and microbial properties of fer mented green olives over 90 days at 28 ° C.

Material and methods: To carry out this study, 1 kg of olive pots were filled with two treatments (8% Nacl+ 0.1% acetic acid) and (6% NaCl +0.3% acetic acid). Then, on the fifth day of the test, the *Lactobacillus Plantarum* was inoculated. Bacteria-free containers were used as controls. Chemical tests, including acidity, pH, salinity, and peroxide measurements, were performed by the national standard of Iran. Microbial tests, including yeast and mold measurements using Sabourod Dextrose chloramphenicol agar medium, lactic acid bacteria measurement using MRS agar medium, and Thermophilus Bacteria, were performed using Thermosidorescent Agar medium, and Mesophilic Bacteria was measured using Orange Broth Serum. All treatments had three replications. One-way and two-way ANOVA and T-test tests were used to determine the mean and level of significant differences between treatments and controls in SPSS 23 software.

Results and discussion: The results showed that the burden of bacteria in *Lactobacillus plantarum* and control were significantly increased with increasing maintenance time ($p<0.05$). In all two treatments, the decrease in NaCl level was 6% and increased acetic acid to 0.3% higher growth of lactic acid bacteria and mesophilic ($p<0.05$). However, changes in NaCl and acetic acid levels did not cause a significant difference in the levels of thermophilic bacteria and yeast and fungi($p>0.05$). The lowest growth of thermophilic bacteria and the highest growth of mesophilic and yeast and fungi were measured in the control treatment ($p<0.05$). The highest growth of lactic acid and mesophilic bacteria and the lowest fungi and yeast were measured in *Lactobacillus plantarum* bacterial treatment. The results showed that none of the treatments were allowed to pass through the specified bacterial limit. The sensory and pH characteristics of olives were not affected by acidity and NaCl in all two *Lactobacillus plantarum* and control ($p<0.05$). Comparison between treatments showed that the control treatment had the lowest sensory specificity, and *Lactobacillus plantarum* had the highest sensory score of olive ($p<0.05$). *Lactobacillus plantarum* had the lowest pH level in similar NaCl and acetic acid levels, and control treatment had the highest level of this parameter. Acidity influenced the acetic acid level from the day 45 maintenance between the two NaCl treatments of 8% + Acetic acid 0.1% and NaCl 6% + Acetic acid 0.3% had a significant difference, and the treatment of olive with Lactobacillus bacteria had the highest level, and control treatment had the lowest acidity. The highest salinity level was observed in the control treatment, and the lowest was in *Lactobacillus plantarum*. According to the Iranian National Standard, the salinity of processed olives was 5% by weight, which exceeded the permissible limit for NaCl 8% + Acetic acid 0.1% bacterial *Lactobacillus plantarum* and control. The amount of peroxide as the primary oxidation index in NaCl treatments was 6% + Acetic acid 0.3% higher than 8% + Acetic acid 0.1%. The maximum number of olive peroxide is 20 mm Eq /kg, and none of the treatments were passed from the designated range.

Conclusion: Based on the findings of this study, it can be concluded that the use of lactic acid bacteria in the production of various types of food can help improve its nutritional and health characteristics. *Lactobacillus plantarum* is a probiotic bacterium in olive resulted in reduced microbial load and increased storage time in olive.

Keywords: Lactic acid bacteria, Olive, *Lactobacillus plantarum*, Shelf life