Ricerche e innovazioni nell'industria alimentare

volume VII



Consiglio Nazionale delle Ricerche

Mastertaste

a cura di
Sebastiano Porretta

CHIRIOTTI EDITORI

ANTONIO PIGA, ALESSANDRA DEL CARO, IVO PINNA

EVOLUZIONE DEI PRINCIPALI ACIDI ORGANICI IN SALAMOIE DI OLIVE DA MENSA PREPARATE AL NATURALE

Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi, Viale Italia 39, 07100 Sassari

INTRODUZIONE

La fermentazione è una delle più antiche tecnologie di trasformazione e conservazione degli alimenti conosciute dall'uomo. Tale intervento permette il controllo della crescita microbica e l'ottenimento di caratteristiche uniche dal punto di vista sensoriale, nutrizionale ed igienico-sanitario. Tra il settore dei prodotti fermentati di origine vegetale un posto predominante per alcuni paesi del Mediterraneo, tra cui anche l'Italia, è occupato dalle olive da mensa. La trasformazione viene effettuata avvalendosi, principalmente, di tre sistemi: a) Sivigliano; b) Californiano; c) Al naturale (olive nere). Nei primi due sistemi è previsto l'uso della soda per la deamarizzazione del prodotto (1, 2), mentre nel terzo caso la perdita dei composti amari avviene principalmente per diffusione delle sostanze polifenoliche dalle drupe alla salamoia durante un periodo più o meno lungo, comunque variabile dai 6 ai 12 mesi. (3). Anche il fenomeno fermentativo è differente, in quanto è governato da batteri lattici nei primi due casi, mentre i lieviti predominano nella trasformazione al naturale. Le olive al naturale rappresentano una delle preparazioni più diffuse nel sud Italia. Le olive vengono raccolte ad uno stadio di maturazione corrispondente ad una colorazione verde o nera, seguono la selezione, la calibratura e la fermentazione in salamoie con concentrazioni variabili dall'8 al 14%. La trasformazione viene operata normalmente da piccoli produttori, più raramente a livello industriale. Il problema principale è il valore di pH della salamoia, che è quasi sempre superiore a 4,5, in quanto la fermentazione è condotta fondamentalmente da lieviti. In studi recenti sono state valutate le principali variazioni chimico-fisiche delle salamoie (4), ma non esistono in letteratura dati riguardanti l'evoluzione degli acidi organici per questa preparazione, ma solo per altri tipi di trasformazione (5, 6, 7, 8, 9).
Nel presente studio è stato monitorato, tramite analisi HPLC, il profilo degli acidi organici e dell'etanolo, oltre che le variazioni di tutti gli altri parametri chimico-fisici, durante la fermentazione al naturale di olive verdi della varietà "Nocellara". Il piano sperimentale prevedeva una tesi acidificata a pH 4 ed una tesi di controllo.

MATERIALI E METODI

Sono state utilizzate olive della varietà "Nocellare del Belice" raccolte manualmente allo stadio verde. Dopo la calibratura le drupe sono state lavate e poste in fermentatori di

plastica della capacità di 20 litri (rapporto olive/salamoia 1,1/0,9). Sono state preparate due tesi: a) Controllo (CTR); b) acido lattico (AL). La tesi CTR è stata fatta fermentare con una salamoia alla concentrazione dell'8% in cloruro di sodio, mentre quella AL mediante aggiunta alla salamoia madre di acido lattico in quantità sufficiente a portare il pH di partenza a 4. Durante i primi 20 giorni di fermentazione, il coperchio dei contenitori è stato lasciato leggermente svitato per permettere la fuoriuscita dei gas liberatisi in seguito alla fermentazione della massa. Tutte le fasi della trasformazione sono state condotte a temperatura ambiente. Per ogni tesi sono stati utilizzati due fermentatori. Ad intervalli stabiliti sono stati determinati sulle salamoie secondo le metodologie riportate in (10): pH, acidità libera (%) e combinata (mEq/L) e cloruri (%). Gli acidi organici e l'etanolo sono stati determinati mediante HPLC (Hewlett-Packard serie 1090 e DAD serie 1050) secondo le metodologie riportate in (5,6), utilizzando una colonna Spherisorb ODS-2 (5 mm, 25 cm x 4 mm). Sulla polpa del prodotto fresco sono state rilevate, inoltre, le caratteristiche chimico-fisiche ed in particolare (10): pH, acidità (% di ac. citrico), sostanza secca (11) e attività dell'acqua (a_w), mediante igrometro elettrico. Ad ogni campionamento si aveva cura di ripristinare il livello iniziale di cloruri ed il pH di 4 nella tesi AL. I dati ottenuti sono stati sottoposti, per ogni parametro considerato, ad analisi della varianza, utilizzando il software M-STATC (Michigan State University, 1991) e le medie, ove necessario, separate con il Duncan's Test per $P \leq 0{,}001$.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Le variazioni fisico-chimiche nelle salamoie e nelle olive sono state in pieno accordo con le esperienze precedenti (dati non mostrati) (4). In particolare le salamoie CTR hanno mostrato una rapida diminuzione sino a valori intorno a 5 nei primi 5 giorni, per poi progressivamente portarsi sino a 4,6 ai 180 giorni. Per le salamoie AL invece, è stato necessario un continuo aggiustamento del pH sino al terzo mese. I valori di acidità libera, combinata e volatile erano normali per questo tipo di preparazione. Chiaramente, i valori di acidità libera sono stati più alti nella tesi AL, rispetto a quelli del CTR.
La tab. 1 riporta i risultati dell'evoluzione degli acidi organici e dell'etanolo nelle salamoie delle due tesi. C'è da notare subito la mancanza della colonna dell'acido lattico. In realtà la presenza di acido lattico nella tesi AL è da ascrivere all'acido aggiunto, mentre nella tesi CTR non è mai stato evidenziato nei cromatogrammi. Questo risultato sembra escludere, come già riportato e dimostrato (4, 12, 13), la presenza di lattobacilli, a favore dei lieviti. A questo punto, inoltre, l'espressione dell'acidità libera in acido lattico in questo tipo di preparazione è sicuramente da rivedere. Le nostre analisi ci hanno permesso di rilevare, oltre al già citato acido lattico, tre acidi, il malico, l'acetico ed il citrico ed un alcool, l'etanolo. L'acido maggiormente rappresentato è il citrico, seguito dall'acetico e dal malico. Si può notare che, in generale, si nota un incremento degli acidi organici e dell'etanolo durante la fermentazione. Questi dati sono in accordo con quanto già notato durante la fermentazione di olive nere con il sistema "al naturale" e confermano ancora l'evoluzione fermentativa, dovuta fondamentalmente ai lieviti (7, 8). Infatti, l'alto contenuto in sale e in polifenoli e l'assenza di un trattamento di indebolimento dell'epidermide, che limita gli scambi di substrati, sfavoriscono la crescita dei lattobacilli, a tutto vantaggio di diverse specie di lievito che, a quanto si conosce, non sono in grado di utilizzare gli acidi citrico, lattico e acetico in condizioni anaerobiche (14). La tesi acidificata ha fatto registrare un contenuto significativamente superiore dei tre acidi e dell'etanolo. Nei nostri cromatogrammi, inoltre, non sono mai apparsi picchi riferibili ad altri acidi riscontrati, quali il formico, il tartarico ed il succinico (5, 6, 7, 8, 9).

Questo lavoro fornisce per la prima volta dati sull'evoluzione degli acidi organici e dell'etanolo nelle olive verdi fermentate al naturale. I dati hanno mostrato la presenza di acido citrico, acetico e malico, nonché di etanolo, mentre non si è evidenziata la presenza di acido lattico nella tesi non acidificata. La tesi AL, al contrario, ha mostrato una maggiore produzione di acidi organici e di etanolo. I risultati ottenuti sembrano ulteriormente confermare che la fermentazione di questa particolare tipologia di olive è attuata fondamentalmente da lieviti.

Tabella 1 - Influenza del tipo di salamoia e del periodo di fermentazione sull'evoluzione degli acidi organici e dell'etanolo nelle salamoie di olive.

Fattore	Componenti (acidi – alcoli)			
	Malico (mM)	Acetico (mM)	Citrico (mM)	Etanolo (mM)
Tecnologia				
CTR	4,45b	6,92b	13,91b	68,82b
AL	5,60a	10,73a	19,27a	83,68a
Periodo (giorni)				
15	4,36bc	3,55e	7,16d	25,02f
30	5,31abc	6,97cd	13,98c	57,97e
45	4,15c	5,98d	15,09bc	60,72e
60	6,34a	7,80c	17,14bc	73,99d
90	5,51ab	8,17c	16,67bc	88,73c
120	5,61ab	11,25b	19,30ab	98,60b
150	4,51b	12,39b	19,45ab	97,67b
180	4,28bc	14,48a	22,99a	107,43a

[x] Dati seguiti da lettere diverse differiscono all'interno di ciascuna colonna e nell'ambito di ogni fattore in accordo Duncan's Multiple Range Test per $P \leq 0{,}001$.

BIBLIOGRAFIA

1. Fernandez Diez M.J., "The olive. Vol. 2. In The Biochemistry of Fruits and Their Products". Hulme A.C. (Ed.), p. 255, Academic Press, London, UK., 1971.
2. Borbolla y Alcalá J.M.R. de la, Rejano Navarro L., "Sobre la preparacion de las aceitunas estilo sevillano. El tratamento con lejía". Grasas y Aceites, 30, 31, 1981.
3. Brenes Balbuena M., Garcia Garcia P., Duran Quintana M.C., Garrido Fernandez A. 1992. Concentration of phenolic compounds change in storage brines of ripe olives. Journal of Food Science, 58, 347.

4. Piga A, Agabbio M., "Quality improvement of naturally green table olives by controlling some processing parameters". Italian Journal of Food Science, 15 (2), 259-268, 2003.
5. Durán Quintana M.C., García García P, Garrido Fernández A., "Establishment of conditions for green table olive fermentation at low temperature". International Journal of Food Microbiology, 51, 133-143, 1999.
6. Sánchez A.H., Castro de A., Rejano L.., Montaño A., "Comparative study on chemical changes in olive juice and brine during green olive fermentation". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 5975-5980, 2000.
7. Nychas G.J.E., Panagou E.Z., Parker M.L., Waldron K.W., Tassou C.C., "Microbial colonization of naturally black olives during fermentation and associated biochemical activities in the cover brine". Letters in Applied microbiology, 34, 173-177, 2002.
8. Tassou C.C., Panagou E.Z., Katsaboxakis K.Z., "Microbiological and physicochemical changes of naturally black olives fermented at different temperatures and NaCl levels in the brines". Food Microbiology, 19, 606-615, 2002.
9. Montaño A., Sánchez A.H., Casado F.J., Castro de A., Rejano L., "Chemical profile of industrially fermented green olives of different varieties". Food Chemistry, 297-302, 2003.
10. Garrido Fernandez A., Fernandez Diez M.J., Adams M.R. "Control methods": In Table Olives, production and processing, Chapman & Hall, London (UK), pp 461-479, 1997.
11. OAC Official methods of analysis. In: Elrich, K. (Ed.), Moisture in dried fruits. Association of Official Analytical Chemists, Inc., 912, 1990.
12. Juvens B., Henis Y., "Studies on the antimicrobial activity of olive phenolic compounds". Journal of Applied Bacteriology, 33, 721-732, 1970.
13. Ruiz-Barba J.L., Rios Sánchez J.M., Fedriani-Iriso C., Olias J.M., Rios J.L., Jiménez Díaz R., "Bactericidal effect of phenolic compounds from green olives on *Lactobacillus plantarum*". Systematic Applied Microbiology, 1990, 13, 199-205, 1990.
14. Garrido Fernandez A., Fernandez Diez M.J., Adams M.R. "Naturally black olives type": In Table Olives, production and processing, Chapman & Hall, London (UK), pp. 289-387, 1997.

RIASSUNTO

Nel presente studio è stato monitorato, tramite analisi HPLC, il profilo degli acidi organici e dell'etanolo, oltre che le variazioni di tutti gli altri parametri chimico-fisici, durante la fermentazione al naturale di olive verdi della varietà "Nocellara del Belice". Il piano sperimentale prevedeva una tesi acidificata a pH 4 ed una tesi di controllo. I risultati ottenuti evidenziano una fermentazione condotta da lieviti. Sono stati riscontrati tre acidi organici (citrico, acetico e malico) e l'alcol etilico, in concentrazioni significativamente superiori nella tesi acidificata. Tali composti hanno mostrato una tendenza all'incremento durante la fermentazione.

SUMMARY

Changes in organic acids in brines of naturally fermented green olives

In this study, the changes in organic acids and ethanol on brines of naturally fermented green olives "Nocellara del Belice" cv have been monitored. The olives were processed

with acidified to pH 4 or not brines. Results clearly indicate that the fermentation was carried out by yeasts. We detected three organic acids and ethanol, which were in significantly higher amounts in the acidified brines, with respect to control ones. Both acids and ethanol increased significantly during the fermentation.