

ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'

————— SASSARI —————

DIRETTORE: G. RIVOIRA

COMITATO DI REDAZIONE: M. DATTILO - S. DE MONTIS - F. FATICHENTI
C. GESSA - L. IDDA - F. MARRAS - P. MELIS - A. MILELLA - A. PIETRACAPRINA
R. PROTA - A. VODRET

studi sassaresi

ORGANO UFFICIALE
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI



Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica «A. Capriotti»
dell'Università di Sassari

(Direttore: Prof. F. Fatichenti)

G.A. FARRIS - M. FORTELEONI - L. PAIS

I LIEVITI DELLE SALAMOIE DELLE OLIVE DA MENSA¹

RIASSUNTO

È stata svolta un'indagine microbiologica su 11 campioni di salamoia di olive da mensa della varietà *Tonda*, lavorate nello stabilimento della Cooperativa Olivicoltori di Dolianova (CA). Da essi sono stati isolati 110 ceppi di lieviti, appartenenti alle seguenti specie: *Candida boidinii* (65 ceppi; 90,91% di frequenza), *Candida diddensiae* (2; 9,10%), *Candida krusei* (30; 72,73%), *Cryptococcus infirmo-miniatus* (1; 9,10%), *Hansenula anomala* (1; 9,10%), *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (6; 9,10%), *Saccharomyces cerevisiae* var. *oleaceus* (3; 18,18%), *Saccharomyces cerevisiae* var. *uvarum* (2; 9,10%).

Poiché tutte le specie ritrovate, ad eccezione del *Cryptococcus infirmo-miniatus*, hanno la capacità di fermentare almeno il glucosio, si ritiene che esse partecipino alla complessa microflora delle salamoie, responsabile della fermentazione delle olive da mensa.

SUMMARY

Pickled table-olives (*Tonda* variety) were obtained from Dolianova Cooperative (CA). From 11 samples examined, 110 yeast strains were isolated as follows: 65 of *Candida boidinii* (90,91% frequency); 2 of *Candida diddensiae* (9,10% frequency); 30 of *Candida krusei* (72,73% frequency); 1 of *Cryptococcus infirmo-miniatus* (9,10% frequency); 1 of *Hansenula anomala* (9,10% frequency); 6 of *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (9,10% frequency); 3 of *Saccharomyces cerevisiae* var. *oleaceus* (18,18% frequency); 2 of *Saccharomyces cerevisiae* var. *uvarum* (9,10% frequency).

Since all the species found, except *Cryptococcus infirmo-miniatus*, are capable of fermenting at least glucose, they are probably involved in the pickle microfloral complex responsible for the table-olive fermentation.

INTRODUZIONE

Il processo fermentativo delle olive da mensa è regolato da una complessa microflora, comprendente soprattutto batteri e lieviti (Balatsouras, 1985; Balloni et al., 1974;

¹ Lavoro eseguito con il contributo finanziario della Regione Sarda - Piano Olivicolo Regionale.

Duran Quintana e Gonzalez Cancho, 1977; Duran Quintana et al., 1973; Florenzano et al., 1973; Garcia Garcia et al., 1985; Garrido Fernandez et al., 1985; Gonzalez Cancho e Duran Quintana, 1981; Gonzalez Cancho et al., 1975; Vaughn et al., 1972). Così, per esempio, nelle olive nere in salamoia (Duran Quintana e Gonzalez Cancho, 1977), già nei primi giorni del processo fermentativo si sviluppano alcuni batteri gram-negativi, non sporigeni, appartenenti ai generi *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Aeromonas* e *Achromobacter*. Il loro massimo sviluppo si ha dopo le 24-48 ore dalla messa in salamoia delle olive, per scomparire definitivamente dopo 7-15 giorni. Quando la concentrazione del cloruro di sodio scende al di sotto dell'8%, si ha lo sviluppo di alcuni fermenti lattici, appartenenti ai generi *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus*. Il loro massimo sviluppo si registra intorno al 10° giorno, mentre scompaiono dopo 17-20 giorni.

I lieviti, invece, sono presenti in tutto il periodo fermentativo, registrando il loro massimo sviluppo tra il 10° ed il 25° giorno. A motivo della loro alta persistenza nelle salamoie, i lieviti possono essere considerati, insieme ai fermenti lattici, i responsabili della fermentazione delle olive da mensa. I fattori che più di altri condizionano lo sviluppo microbico nelle salamoie sono: la percentuale di NaCl, la concentrazione zuccherina, il contenuto di oleuropeina e di tannini. La concentrazione del 10% di NaCl è letale per la quasi totalità dei microrganismi, anche se è facilmente tollerata da moltissimi lieviti. L'oleuropeina ed i tannini, che si concentrano nella salamoia, esercitano un effetto inibitore sull'accrescimento dei microrganismi.

Conoscere quindi la composizione e la dinamica dei gruppi microbici delle salamoie delle olive da mensa, crediamo sia di grande interesse, soprattutto se si vuole impostare un lavoro che miri al miglioramento qualitativo del prodotto finito.

Scopo del presente lavoro è l'individuazione dei lieviti della salamoia delle olive da mensa della varietà *Tonda*, coltivate nella zona del Parteolla (CA) e lavorate nello stabilimento della Cooperativa Olivicoltori di Dolianova con il sistema *greco naturale* (salamoia al 6,5% nel periodo invernale e al 7,5% nel periodo primaverile-estivo).

MATERIALI E METODI

Sono stati analizzati 11 campioni di salamoia, provenienti dalle vasche di fermentazione, dopo circa 15 giorni dall'immissione delle olive. La salamoia aveva la seguente composizione: NaCl 7%, acidità (come acido lattico) 0,20 g/l, pH 4,79.

Per la conta e l'isolamento dei lieviti sono stati utilizzati, per ciascun campione, 2 litri di salamoia, rappresentativi dell'intera massa.

Le conte e gli isolamenti sono stati fatti secondo le usuali tecniche microbiologiche, utilizzando come substrato di isolamento e mantenimento dei lieviti il GYEP (glu-

cosio 2%, estratto di lievito 0,5%, peptone 1%) a pH 3,8 ed eseguendo delle diluizioni decimali seriali.

L'identificazione delle colture pure è stata fatta secondo le metodiche proposte da Kreger-van Rij (1984).

RISULTATI E DISCUSSIONE

I dati relativi alle analisi microbiologiche sono riassunti nella Tab. 1; in essa sono riportate, oltre al numero totale dei lieviti isolati, la composizione blastomicetica dei singoli campioni di salamoia e, per ogni specie, la frequenza. Complessivamente sono state isolate 110 colture pure di lieviti, appartenenti alle seguenti specie:

ASPORIGENE

Candida boidinii Ramirez

Candida diddensiae (Phaff, Mrak et Williams) Fell et Meyer

Candida krusei (Castellani) Berkhout

Cryptococcus infirmo-miniatus (Okunuki) Phaff et Fell

SPORIGENE

Hansenula anomala (Hansen) H. et P. Sydow

Saccharomyces cerevisiae Meyen ex Hansen var. *cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae Meyen ex Hansen var. *oleaceus*

Saccharomyces cerevisiae Meyen ex Hansen var. *uvarum*

La *C. boidinii* è la specie più diffusa (90,91% di frequenza), a cui seguono la *C. krusei* (72,73%), il *Sacch. cerevisiae* var. *oleaceus* (18,18%) e la *C. diddensiae*, il *Cr. infirmo-miniatus*, il *Sacch. cerevisiae* var. *cerevisiae*, il *Sacch. cerevisiae* var. *uvarum* (9,10%). Così come appare dalla tab. 2 (Kreger-van Rij, 1984), tutte le specie individuate, ad eccezione del *Cr. infirmo-miniatus*, possiedono la capacità di fermentare almeno il glucosio. Per tale motivo ed anche perché le stesse specie, o specie molto simili, sono state ritrovate nelle salamoie delle olive da altri autori (Duran Quintana e Gonzalez Cancho, 1977; Garrido Fernandez et al., 1985; Gonzalez Cancho et al., 1975; Vaughn et al., 1972), si ritiene che esse partecipino alla complessa microflora responsabile della fermentazione delle olive da mensa della varietà *Tonda*.

È evidente che lo studio dovrà essere ulteriormente allargato, non solo a molti altri campioni di salamoie e varietà di olive, ma anche alla individuazione di altri gruppi microbici, primi fra tutti i fermenti lattici; ciò allo scopo, una volta caratterizzati i

singoli ceppi sia da un punto di vista biochimico che tecnologico, di poterli utilizzare nella fermentazione guidata delle olive da mensa, così come è stato proposto da altri autori (Balloni et al., 1976; Balloni et al., 1974; Pelagatti et al., 1975).

Tab. 2 - Capacità fermentativa delle specie isolate
Fermentative capacity of species isolated

Specie	Zuccheri				
	Glucosio	Galattosio	Saccarosio	Maltosio	Lattosio
<i>C. boidinii</i>	+	—	—	—	—
<i>C. diddensiae</i>	+ o s	— o + s	— o + w	— o + w	—
<i>C. krusei</i>	+	—	—	—	—
<i>Cr. infirmo-miniatus</i>	—	—	—	—	—
<i>H. anomala</i>	+	v	+ o w	v	—
<i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>cerevisiae</i>	+	+	+	+	—
<i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>oleaceus</i>	+	+	—	—	—
<i>Sacch. cerevisiae</i> var. <i>uvarum</i>	+	+	+	+	—

LEGENDA: + fermentazione vigorosa
+ w fermentazione debole
+ w w fermentazione molto debole
+ s fermentazione lenta
— fermentazione assente
v alcuni ceppi appartenenti ad una specie fermentano, altri no

BIBLIOGRAFIA

- BALATSOURAS G., 1985 - Taxonomic and physiological characteristics of the facultative rod type lactic acid bacteria isolated from fermenting green and black olives. *Grasas y Aceites*, 36(4), 239.
- BALLONI W., BRIGHIGNA A., CUCARACHI A., FLORENZANO G., 1974 - Prime ricerche sulla microflora lattica di alcune varietà italiane di olive da tavola e delle relative salamoie. 12° Congresso Internazionale delle Industrie Agricole e Alimentari. Atene, 1-5 aprile.
- BALLONI W., PAOLETTI C., FLORENZANO G., PELAGATTI O., CUCARACHI A., 1976 - Un nuovo metodo di preparazione delle olive da mensa per via microbiologica. 13° Congresso Italiano di Studi sulle Sostanze Grasse. Rapallo, 28-30 ottobre.
- BALLONI W., PELAGATTI O., BRIGHIGNA A., PAOLETTI C., 1974 - Ricerche sulla preparazione industriale delle olive da tavola mediante fermentazione lattica controllata. *Nota II. Ann. Ist. Sper. Elaiot.*, 4, 167.
- DURAN QUINTANA M.C., GARRIDO FERNANDEZ A., GONZALEZ CANCHO F., FERNANDEZ DIEZ M.J., 1973 - Aceitunas negras maduras en salmuera. III. Estudio fisico-quimico y microbiologico de la fermentacion. *Crasas y Aceites*, 24(3), 149.
- DURAN QUINTANA M.C., GONZALEZ CANCHO F., 1977 - Levaduras responsables del proceso de fermentacion de aceitunas negras al natural en salmuera. *Grasas y Aceites*, 28(3), 181.
- FLORENZANO G., MARGHERI M.C., PELOSI E., 1973 - Recherches sur la microflore des olives, pates grignons et sur l'activite lipolitique des especes predominantes. *Industrie Alim. et Agric.*, n. 60-61, 145.
- GARCIA GARCIA P., DURAN QUINTANA C., GARRIDO FERNANDEZ A., 1985 - Fermentacion aerobica de aceitunas maduras en salmuera. *Grasas y Aceites*, 36(1), 14.
- GARRIDO FERNANDEZ A., DURAN QUINTANA M.C., GARCIA GARCIA P., 1985 - New aerobic fermentative process to control the spoilage called «alambrado» in the elaboration of natural black olives in brine. *Strategies in Food Quality Assurance. Proceedings of Euro. Food. Chem. Malle: De Sikkel*, 205.
- GONZALEZ CANCHO F., DURAN QUINTANA M.C., 1981 - Bacterias cocceas del acido lactico en el aderezo de aceitunas verdes. *Grasas y Aceites*, 32(5), 373.

- GONZALEZ CANCHO F., NOSTI VEGA M., DURAN QUINTANA M.C., GARRIDO FERNANDEZ A., FERNANDEZ DIEZ M.J., 1975 - El proceso de fermentacion en las aceitunas negras maduras en salmuera. *Grasas y Aceites*, 26(5), 297.
- KREGER-VAN RIJ N.J.W., 1984 - *The Yeasts. A Taxonomic Study*. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.
- PELAGATTI O., BALLONI W., MATERASSI R., 1975 - Controllo della stabilit  biologica delle olive da mensa preparate con fermentazioni lattiche controllate. *Ann. Ist. Sper. Elaiot.*, 5, 209.
- VAUGHN R.H., STEVENSON K.E., DAV  B.A., PARK H.C., 1972 - Fermenting yeasts associated with softening and gas -pocket formation in olives. *Appl. Microbiol.*, 23(2), 316.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano vivamente il Dott. Carlo Pili dell'ERSAT di Dolianova per aver fornito i campioni.