

Influencia de los parámetros que describen la fermentación espontánea en el Departamento Capital y el Departamento Santa Rita de Catuna en la Provincia de La Rioja, Argentina

5

Sánchez, Carla*

Rodríguez Maslyk, Julieta*

Soloaga, Alejandra*

Martínez, Jimena*

Mercado, Astrid**

López Alsogaray, Soledad***

*Laboratorio de Alimentos y Productos Agroindustriales. Departamento Académico de Ciencias y Tecnologías Aplicadas a la Producción, al Ambiente y al Urbanismo (DACYTAPAU), Universidad Nacional de La Rioja ecsanchez.1981@gmail.com

**Laboratorio de extracción y calificación de aceite y aceitunas fermentadas. Sede Regional Catuna, Universidad Nacional de La Rioja, astridmercado@unlar.edu.ar Facultad de Agronomía y Agroindustrias (FAYA), Universidad Nacional de Santiago del Estero. s.lopezalzogaray27@gmail.com

***Laboratorio de Alimentos y Productos Agroindustriales. Dep. de Ciencias y Tecnologías Aplicadas a la Producción, al Ambiente y al Urbanismo, Universidad Nacional de La Rioja. ecsanchez.1981@gmail.com

Influencia de los parámetros que describen la fermentación espontánea en el Departamento Capital y el Departamento Santa Rita de Catuna en la Provincia de La Rioja, Argentina

Resumen

El presente trabajo hace una revisión de las características físico-química en la fermentación espontánea de aceitunas verdes de mesa, variedad Arauco, según la ubicación geográfica de las mismas en dos regiones productoras en la provincia de La Rioja, Capital y departamento Santa Rita de Catuna, Argentina. El único proceso espontáneo típicamente láctico es el de las aceitunas verdes estilo español, las que se someten a un tratamiento alcalino con una solución de NaOH (1,5%-2,5%), en función del tamaño de los frutos y de la temperatura ambiente para posteriormente ser sometidos a una fermentación láctica (Garrido Fernández, 1997; Lucena, 2016), pudiendo ocurrir que la microflora que desarrolla naturalmente no sea la adecuada para lograr los niveles de acidificación requeridos en consecuencia. El producto terminado no tiene el sabor y el aroma propios del obtenido por la actividad metabólica de los microbios específicos (Hurtado, 2008). Para ello, ha sido importante tener en cuenta el grado de madurez de los frutos, la variedad, el origen geográfico y la técnica de cultivo, ya que la disponibilidad de sustratos fermentables (azúcares), contenido de sal, pH, condiciones aeróbicas / anaeróbicas y control de temperatura son fundamentales para el proceso (Hurtado; 2012).

Palabras clave

Aceitunas, fermentación láctica, espontánea, variables fisicoquímicas

6

Influence of the parameters that describe spontaneous fermentation in the Capital Department and the Santa Rita de Catuna Department in the Province of La Rioja, Argentina

Abstract

The present work reviews the physical-chemical characteristics in the spontaneous fermentation of Arauco variety green table olives according to their geographical location in two producing regions in the province of La Rioja, Capital and department Santa Rita de Catuna, Argentina. The only typically lactic spontaneous process is that of Spanish-style green olives, which are subjected to an alkaline treatment with a NaOH solution (1.5%-2.5%), depending on the size of the fruits and the room temperature to later be subjected to lactic fermentation (Garrido Fernández, 1997; Lucena, 2016), and it may happen that the microflora that develops naturally is not adequate to achieve the required acidification levels, consequently, the finished product does not have the flavor and the aroma typical of that obtained by the metabolic activity of specific microbes (Hurtado, 2008), for this it has been important to take into account the degree of maturity of the fruits, the variety, the geographical origin and the cultivation technique, since the availability of fermentable substrates (sugars), salt content, pH, aerobic/anaerobic conditions and temperature control are critical to the process (Hurtado; 2012).

Keyword

Olives, lactic fermentation, spontaneous, physical-chemical variables

Introducción

La fermentación de las aceitunas de mesa transcurre en Argentina y la provincia de La Rioja, aún en forma espontánea y el seguimiento del proceso se hace principalmente basándose en análisis fisicoquímicos, siendo el control microbiológico muy escaso. Incluso, la propia tecnología actual hace muy difícil esa operación debido a que los utensilios, el interior de los tambores de fermentación, la abertura superior de los mismos, etc., permiten un importante e incontrolado aporte microbiano desde el ambiente exterior. Sin embargo, es evidente que esta situación es desfavorable para la consecución de calidades homogéneas y homologables.

Es difícil hablar en general de la fermentación espontánea, ya que está fuertemente influenciada por las condiciones del fruto y las prácticas locales. En el ecosistema de fermentación de la naturaleza, el proceso se puede dividir en diferentes fases, pero el comienzo y el final de cada fase no están tan bien definidos como en las fermentaciones dirigidas.

Las aceitunas verdes de mesa, al estilo español, se desamarizan inicialmente en una solución alcalina de hidróxido de sodio (lejía). Este proceso se conoce generalmente como preparación de aceitunas verdes de mesa al estilo español, mediante el cual se hidroliza la oleuropeína y la demetiloleuropeína de sabor amargo de acuerdo con resultados anteriores descritos por muestra, mejorando el sabor del producto final.

La fermentación produce ácido láctico, un conservante natural, y también produce un complejo de otros subproductos producto del metabolismo de las bacterias lácticas.

7

Factores condicionantes para el desarrollo de bacterias ácido-lácticas (bal) en la fermentación de aceitunas

El crecimiento de BAL en la fermentación de aceitunas depende de diversos factores. Sin embargo, debido a las propiedades de la oleuropeína y otros polifenoles que forman parte de su composición, la forma de reducir su intenso sabor amargo es fundamental. Los frutos tratados con una solución de hidróxido de sodio («lejía»), usando el «Estilo Sevillano o Español» (de Castro et al., 2002). Se utilizaron soluciones de NaCl en concentraciones del 10% y fueron adicionadas a las vasijas con aceitunas unificadas y duplicadas respectivamente.

El NaOH permite eliminar el sabor amargo permitiendo una mejor disposición para el ingreso de la salmuera al interior del fruto, en cambio, cuando la lejía no penetra adecuadamente, suelen presentar dificultades más o menos importantes e, incluso, en numerosas ocasiones, inhiben completamente el desarrollo de las BAL.

La solución de hidróxido de sodio se utilizó para efectuar la destrucción de oleuropeína, glucósido responsable del sabor amargo característico de estos frutos y cuya presencia es considerada como inhibitoria del desarrollo de los procesos fermentativos normales (de Castro et al., 2002); (Gascón, 2009).

Así pues, el factor más determinante es la presencia de polifenoles; otros condicionantes son la concentración de sal (%NaCl), variedad, temperatura, azúcares disponibles en el medio de fermentación, etc. La concentración de sal y el pH de las salmueras de fermentación son los principales factores que determinan el crecimiento de las BAL. Actualmente, los métodos más comunes

durante la fermentación espontánea que se utilizan para facilitar el crecimiento de las LAB autóctonas incluyen:

- reducir el pH de la salmuera a menos de 4,5, cuyo valor es considerado como un factor de bioseguridad del medio de fermentación.
- mantener la concentración de sal inicial entre 10%-9% durante la fase inicial como lo muestra Randazzo (2010)
- aumentar la concentración de sal si el descenso está dos puntos por debajo de la concentración inicial hacia el final de la fermentación.

Los factores descritos anteriormente son determinantes para el crecimiento de BAL, afortunadamente en este caso, son variables controlables.

Se controlaron las concentraciones de NaCl al 10% en las fermentaciones espontáneas de aceitunas verdes de mesa variedad Arauco en departamento Capital y departamento Catuna en la provincia de La Rioja.

En ambas mediciones, las concentraciones iniciales de salmueras al 10% descendieron su concentración a medida que se producía la estabilización de los frutos (9,3% y 8,2 % respectivamente) y estos valores son los que se consideraron para hacer selectivo el medio de fermentación, por lo que la necesidad de controlar la salmuera hasta la concentración del equilibrio y durante toda la fermentación fue de suma importancia (Gascón, 2009).

En este sentido, las vasijas 1 Unificado y 1 Duplicado, que contenían una concentración inicial de NaCl del 10 %, fueron estabilizadas en 8.5 % y 7.4 % de NaCl para vasijas en fermentación de aceitunas verdes de mesa variedad Arauco en departamento Capital y departamento Catuna respectivamente. Para el caso de aceitunas verdes de mesa del departamento Capital se efectuaron correcciones de las salmueras mediante el agregado de NaCl y correcciones de volumen, completando los mismos en los casos en los que se visualizaba una disminución del volumen de las salmueras, todas éstas medidas correctivas se realizaron con la finalidad de que en 20-25 días los valores de concentración de NaCl quedarán estables (Gascón, 2009). Dicha práctica no fue aplicada a las vasijas de fermentación de aceitunas verdes de mesa variedad Arauco en el departamento Catuna.

8

Con respecto a la evolución del pH, en las salmueras de fermentación espontánea de aceitunas verdes de mesa variedad "Arauco", tanto del departamento Capital como del departamento Catuna, para concentraciones de salmueras al 10% respectivamente se observa en las vasijas de fermentación 1 Unificado y 1 Duplicado, concentración de NaCl 10%, departamento Capital una disminución del valor del pH inicial de 6.73 hacia el final de la fermentación con un valor de 4.53 con respecto al departamento Catuna con un valor inicial de Ph de 6.57 descendiendo de manera muy lenta hacia el final de la fermentación en 5.00 como queda expuesto en la gráfica (véase gráfica N.º 1), El pH en los 25 primeros días, cuando el desarrollo de Gram negativas en la salmuera es muy bajo, desciende cerca de dos unidades para el departamento Capital y de una unidad para el departamento Catuna, provincia de La Rioja, Argentina.

Posteriormente, el pH no sufre variaciones especialmente significativas y continúa bajando de manera muy lenta hasta los 60 días de fermentación tanto para el departamento Capital como para el departamento Catuna (4.81 y 5.47 respectivamente), para estabilizarse con ligeras oscilaciones, en torno a pH promedio 4,53 para el Departamento Capital y de 5.00 para el departamento Catuna, provincia de La Rioja, Argentina, hasta el final de la fermentación.

Las variables de concentración de sal y pH se midieron por duplicado tomando muestras a los 0, 10, 25, 60, cada 15 días y para los 140 y 144 días cada 30 días de iniciado el proceso fermentativo, como lo muestra la Fig. 1.

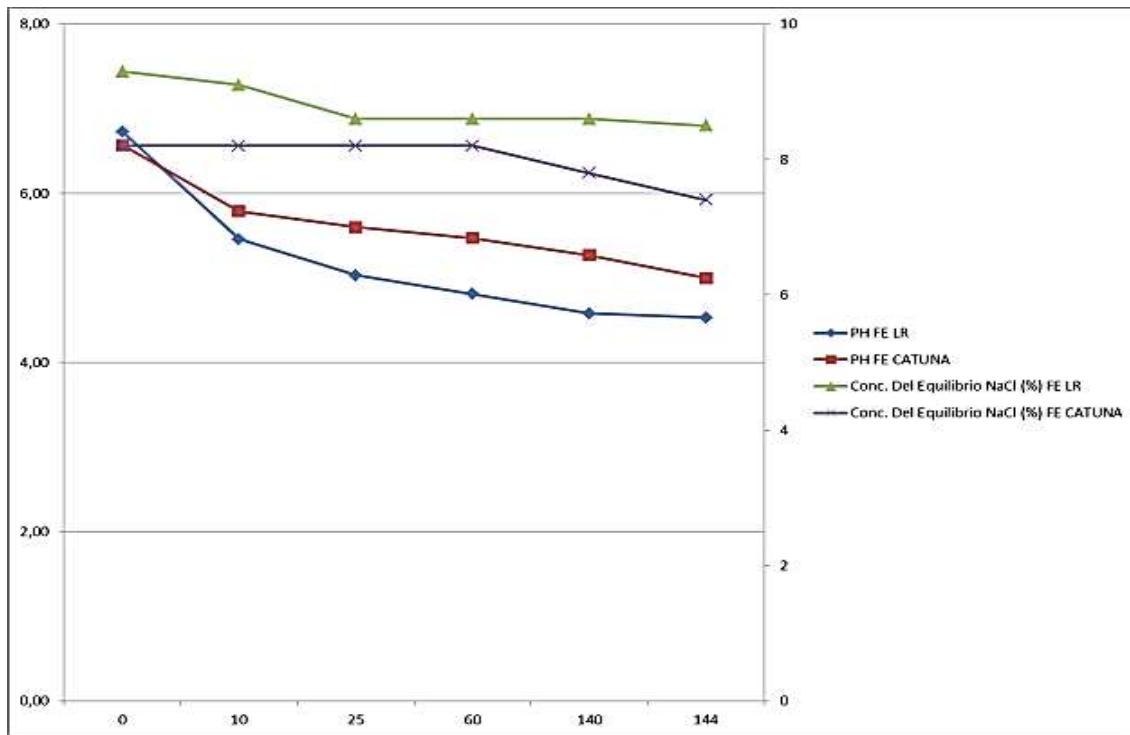


Figura 1. Evolución del pH y concentración de NaCl durante la duración total de la fermentación espontánea, departamento Capital y departamento Catuna.

9

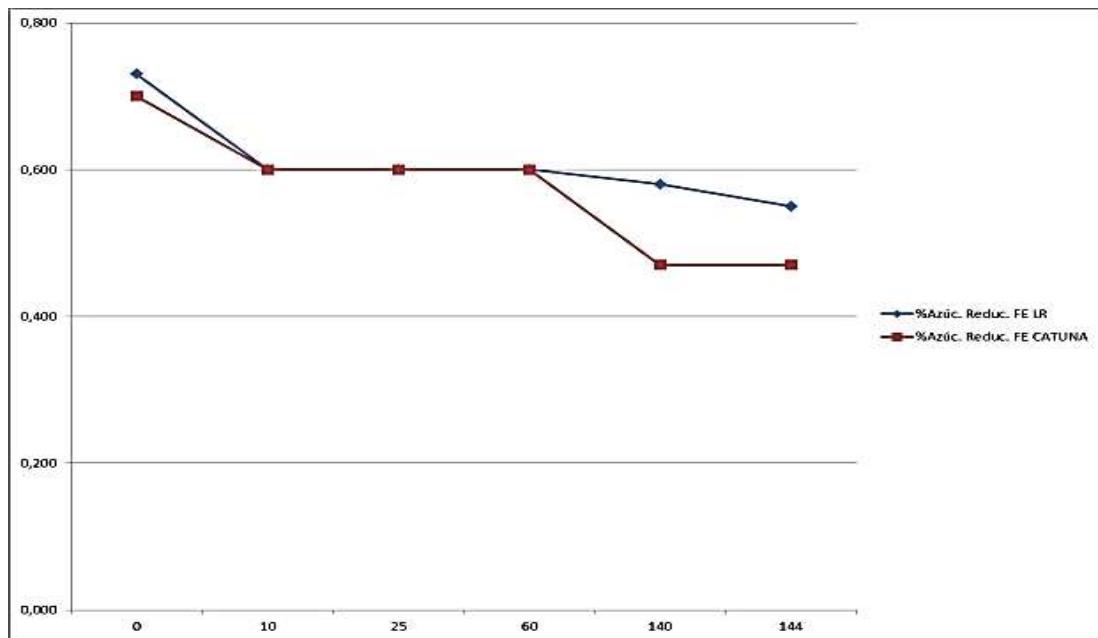
Concentración de azúcares reductores

Los azúcares reductores son el principal sustrato fermentativo, dado que constituyen la fuente hidrocarbonada de energía para los microorganismos, que al consumirla van metabolizando y produciendo la acidez láctica que caracteriza este tipo de fermentación.

Los azúcares naturales del fruto se ven disminuidos notablemente por solubilización durante los procesos de desamarizado y lavados consecuentes, de ahí que cuando se exageran los tiempos y números de lavados, se puede comprometer la normal marcha del proceso y es necesario incluso tener que prever su adición si la fermentación se paralizara (previamente se debería realizar una observación microscópica).

Se considera que 1 gramo de azúcar se metabolizará por los microorganismos dando 1 gramo de ácido láctico, por lo que, si se considera un aumento de acidez desde el inicio hasta alcanzar 0,6% en lático, se necesitarán como mínimo un 0,6% de azúcares reductores en la salmuera (Gascón, 2009).

En este sentido, la concentración de azúcares reductores para las vasijas de fermentación tanto del departamento Capital como del departamento Catuna con concentraciones de NaCl del 10% en ambos casos, fue la necesaria para iniciar el proceso de fermentación espontánea. La disponibilidad de azúcares reductores en cada vasija de fermentación fueron una consecuencia directa de la solubilización de estos durante el desamarizado y de los tipos de lavados que se efectuaron; fue coincidente su descenso a los 10, 25 y 60 días en las vasijas con diferentes ubicaciones geográficas y con la producción de ácido láctico producido en cada una de ellas, como lo muestra la Fig. 2



10

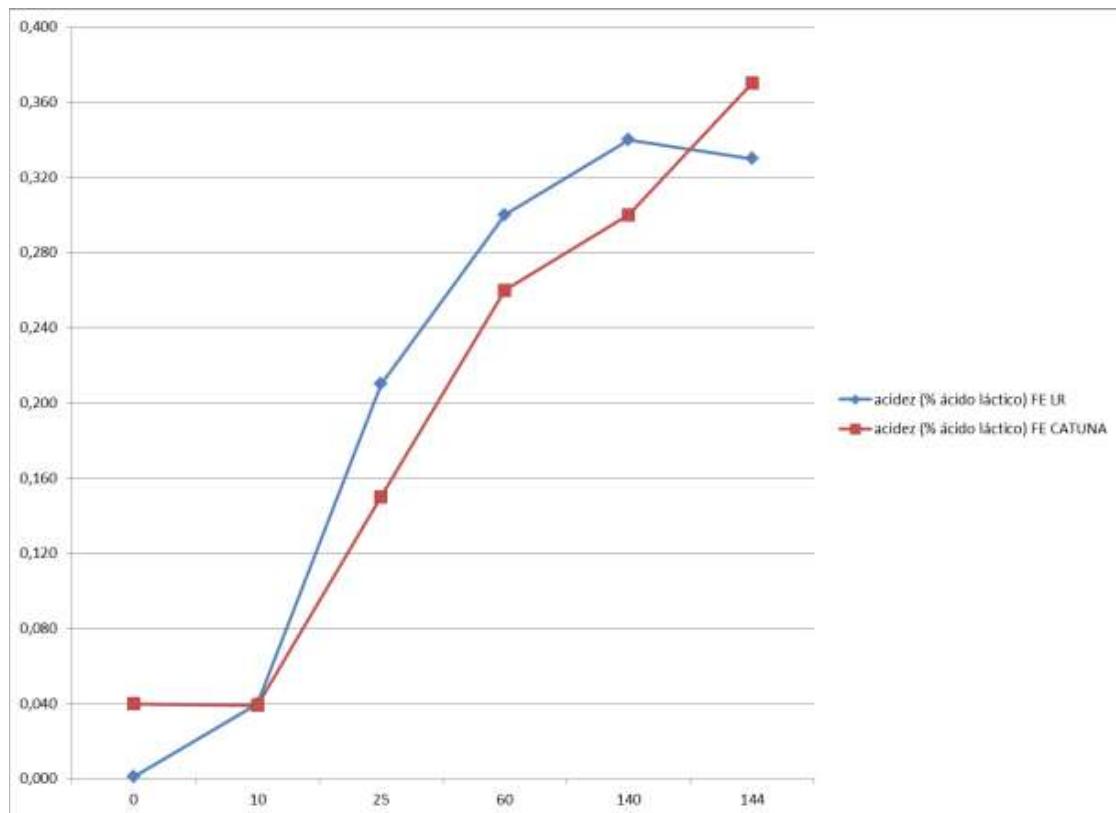
Figura 2. Evolución de la concentración de azúcares reductores durante la fermentación espontánea, departamento Capital y departamento Catuna.

Concentración de ácido láctico en las salmueras de fermentación

En cuanto a la evolución de la acidez de las salmueras en vasijas de fermentación en departamento Capital y departamento Catuna, ambas con concentraciones del 10% NaCl, se observa en las vasijas de fermentación 1 Unificado y 1 Duplicado, para ambos departamentos, un incremento muy lento del valor de la acidez expresada en % ácido láctico hacia el día 60 de fermentación, observándose un leve incremento en departamento Capital respecto al departamento Catuna (0.340%-0.300%, respectivamente), como queda expuesto en la gráfica (véase gráfica N° 4), para luego seguir incrementándose prácticamente sin mayores cambios respecto los valores correspondientes a los 60 días entre los 140 días de fermentación a un valor de 0.340% departamento Capital y 0.300%, departamento Catuna, para luego verificarce un leve incremento al día 144 de fermentación en 0.370% en dichas vasijas no coincidentes con las variaciones de pH en las mismas.

En ambos casos los valores de acidez se encuentran muy por debajo de los valores descritos por Cólica (2005), el cual expresa que a los 25 días de fermentación los valores deben estar comprendidos entre 0,20 y un 0,4 % de acidez expresada en % ácido láctico y a los 60 días de fermentación los valores deben estar comprendidos entre un 0,40 y un 0,60 % de acidez expresada en % ácido láctico, como lo muestra la Fig. 3

E:



11

Figura 3. Evolución de la acidez en las vasijas de fermentación departamento Capital y Catuna durante la fermentación espontánea.

Efecto de la temperatura en la evolución de la fermentación

El proceso fermentativo depende de varios factores tales como Ph, acidez, concentración de sal y de la temperatura de las salmueras, quienes tienen un efecto especial sobre el crecimiento de las BAL, ya que las bacterias del ácido láctico crecen a temperaturas de 20°C a 37°C, es decir pueden ser mesófilas o termófilas (Randazzo, 2010).

Para el caso de nuestro ensayo, las temperaturas de las salmueras en vasijas de fermentación del departamento Capital como de Catuna con concentraciones de NaCl del 10% no han mostrado grandes variaciones teniendo en cuenta la ubicación geográfica de las vasijas de fermentación en donde se han llevado a cabo las fermentaciones, como lo muestra la Fig. 4.

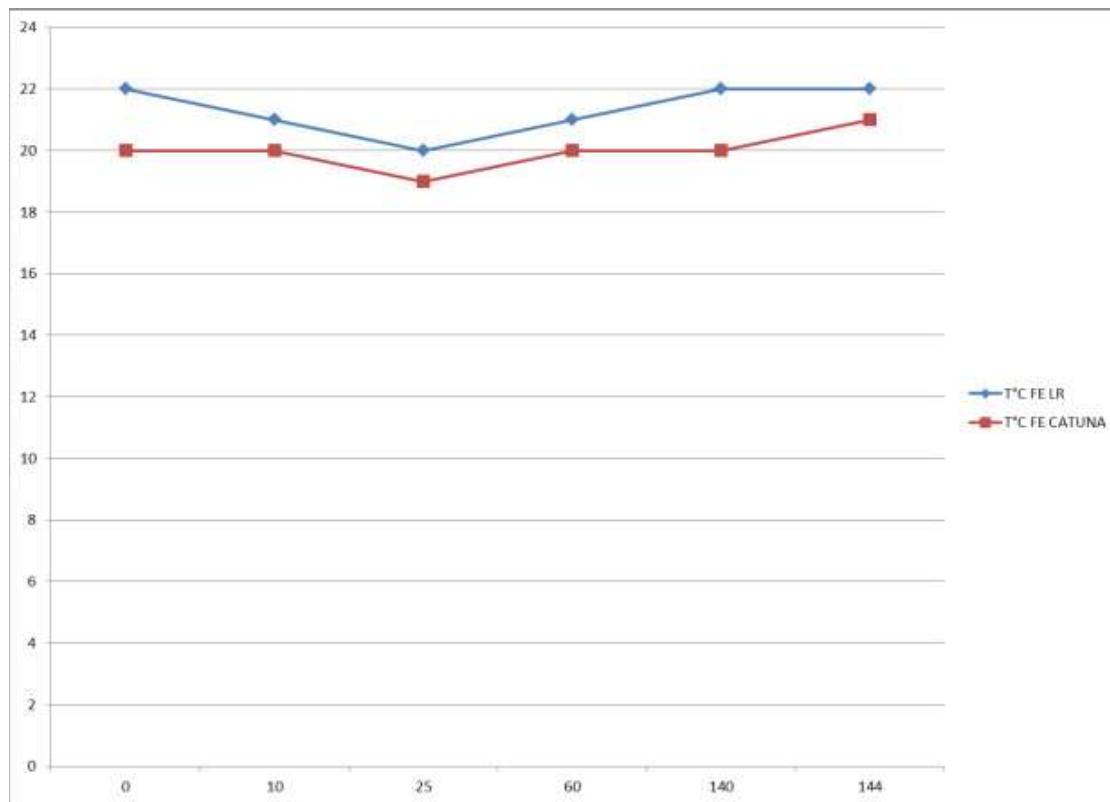


Figura 4. Evolución de la temperatura en las vasijas de fermentación departamento Capital y Catuna durante la fermentación espontánea.

12

Efecto de la acidez de las salmueras sobre el recuento de BAL

En la segunda fase de fermentación (25- 60 días), el crecimiento exponencial de las BAL hace incrementar los valores de la acidez de la salmuera, tanto para vasijas del departamento Capital como para vasijas de fermentación del departamento Catuna, principalmente en forma de ácido láctico, para concentraciones de NaCl del 10%, verificándose la incidencia de la temperatura y concentración de los azúcares reductores en los medios de fermentación descriptos por Tassou (2002), Chammen (2005) y Hurtado (2009). De esta manera, la producción de ácido láctico permite evaluar el éxito de la fermentación en cada una de las fases del proceso, de esta manera el crecimiento de las BAL se hace estacionario, los azúcares se empiezan a agotar en vasijas de fermentación del departamento Capital y Catuna hasta un valor límite de concentración de azúcares reductores del 0.600% (Gascón, 2009).

Cierre

Como se ha puesto de manifiesto el control de los factores físico-químicos en la elaboración de las aceitunas verdes de mesa estilo español pueden también contribuir a obtener productos más seguros en las condiciones actuales de elaboración.¹

¹ Este trabajo se realizó con la participación de docentes y alumnos de la Universidad Nacional de La Rioja bajo la dirección del Dr. Oscar Garro de la Universidad Nacional del Chaco Austral (UNCAUS) y la Dra. Soledad López Alsogaray de la Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), cuyas actividades se encuadrán dentro del Proyecto de Investigación, Científica y Tecnológica-PIC-TO UNLaR N.º 0220-Préstamo BID. También a la directora del laboratorio de microbiología de la Universidad Nacional de La Rioja, Mg. Alejandra Soloaga.

Referencias

- Abriouel, H., Benomar, N., Lucas, R., Gálvez, A. 2011. Culture-independent study of the diversity of microbial populations in brines during fermentation of naturally-fermented Alloreña green table olives. International Journal of Food Microbiology 44, 487e496.
- Aponte, M., Ventorino, V., Blaiotta, G., Volpe, G., Farina, V., Avellone, G., Lanza, C.M., Moschetti, G. 2010. Study of green Sicilian table olive fermentations through microbiological, chemical and sensory analyses. Food Microbiology 27 (1), 162e170.
- Aponte, M., Blaiotta, G., La Croce, F., Mazzaglia, A., Farina, V., Settanni, L., Moschetti, G. 2012. Use of selected autochthonous lactic acid bacteria for Spanish style table olive fermentation. Food Microbiology 30, 8e16.
- Arroyo-López, F.N., Querol, A., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A. 2008. Role of yeasts in table olive production. International Journal of Food Microbiology 128, 189e196.
- Arroyo-López, F.N., Bautista-Gallego, J., Durán-Quintana, M.C., Garrido-Fernández, A. 2008. Effects of ascorbic acid, sodium metabisulfite and sodium chloride on freshness retention and microbial growth during the storage of Manzanilla-Alloreña cracked table. Food Science and Technology 41, 551e560.
- Arroyo-López, F.N., Bautista-Gallego, J., Rodríguez-Gómez, F., Garrido-Fernández, A. 2010. Predictive microbiology and table olives. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.), Current Research and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, pp. 1452e1461.
- Abello L. 2011. Mejora en la conservación de aceituna Alloreña envasada en atmósfera modificada. Informe Técnico. Pp 1-91.
- Arroyo-López, F.N.; Romero, C., Durán- Quintana, M.C., López- López, A., García- García, P., Garrido- Fernandez, A., 2005. Kinetic study of the physicochemical and microbiological and changes in seasoned olives during shelf-life period. J Agri Food Chem 53, 5285-5292.
- Arroyo-López, F.N. 2007. Conservación y envasado de Aceitunas de Mesa "Aliñadas" de la variedad Manzanilla-Alloreña. Diseño de modelos matemáticos para el crecimiento e inhibición de las poblaciones de microorganismos. Tesis Doctoral. Universidad de Sevilla.
- Arroyo-López, F.N., Bautista- Gallego, J., Segovia-Bravo, K.A., Garcia-Garcia P., Duran- Quitana, M.C., Romero, C., Rodríguez- Gómez, F., Garrido- Fernández, A. 2009. Instability profile of fresh packed seasoned Manzanilla-Alloreña table olives. LWT Food Sci Technol. 1629-1639.
- Arroyo-López, F.N., Bautista-Gallego, J., Rodríguez-Gómez F., Garrido-Fernández, A. 2010. Predictive Microbiology and table olives. En: Current Research, technology and Education topics in applied microbiology and microbial biotechnology. Ed. A. Mendez-Vilas. Formatec (Badajoz, España). pp 1452-1461.
- Arroyo-López, F.N., Romero-Gil, V., Bautista-Gallego, J., Rodríguez-Gómez, F., Jiménez-Díaz, R., García-García, P., Querol, A., Garrido-Fernández, A. 2012. Yeasts in table olive processing: desirable or spoilage microorganisms. International Journal of Food Microbiology 160, 42-49.
- Arroyo-López, F.N., Bautista- Gallego, J., Garrido-Fernández, A. 2012. Role of predictive Microbiology in Food preservation. En: Progress in Food Preservation. Ed: Bhat R, Karim Alias A, Paliyath G. Wiley Blackwell UK. pp – 389-404.

Arroyo-López, F.N., García-García, P., Rodríguez-Gómez, F. and Garrido-Fernández A. 2016. Olives: Types and Consumption. In: Caballero, B., Finglas, P., and Toldrá, F. (eds.) *The Encyclopedia of Food and Health* vol. 4, pp 167-170. Oxford: Academic Press.

Arroyo-López, F.N., Garrido-Fernández, A., Jiménez-Díaz, R. 2017. Starter cultures in vegetables with special emphasis in table olives. En: *Starter Cultures in Food Production*, First Edition. Edited by Barbara Speranza, Antonio Bevilacqua, Maria Rosaria Corbo and Milena Sinigaglia. John Wiley & Sons. Pp 283-297.

Balatsouras, G. D. 1964. Composition chimique des olives noires de Grèce. Variations de quelques conditionant en fonction de la région de production. *Inf. Oleic. Int.* 28, 131-156.

Balatsouras, G. D. 1966. -«The chemical composition of the brine of stored greek black olives» *Grasas y Aceites* 17, 83-88.

Bobillo, M. y Marshall, V. M. 1991. Effect of salt and culture aeration on lactate and acetate production by *Lactobacillus plantarum*. *Food Microbiology* 8, 153-160.

Bautista-Gallego, J., Arroyo-López, F.N., Durán-Quintana, M.C., Garrido-Fernández, A. 2008. Individual effects of sodium, potassium, calcium, and magnesium chloride salts on *Lactobacillus pentosus* and *Saccharomyces cerevisiae* growth. *Journal of Food Protection* 71 (7), 1412e1421.

COI (Consejo Oleícola Internacional). 2004. Norma Comercial Aplicable a la Aceituna de Mesa. Documento COI/OT/NC nº. 1, Madrid, España.

COI (Consejo Oleícola Internacional). 2011. Methods for sensory analysis of table olives. Documento COI/OT/MO No 1/Rev.2, Madrid, España.

COI (Consejo Oleícola Internacional). 2017. Estadísticas sobre la producción de aceitunas de mesa. <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/132-world-table-olive-figures>. Último acceso: 17 Octubre 2017. 14

COI (Consejo Oleícola Internacional). 2004. Norma Comercial Aplicable a la Aceituna de Mesa. Documento COI/OT/NC Nº. 1, Madrid, España.

COI (Consejo Oleícola Internacional). 2011. Methods for sensory analysis of table olives. Documento COI/OT/MO No 1/Rev.2, Madrid, España.

COI (Consejo Oleícola Internacional). 2017. Estadísticas sobre la producción de aceitunas de mesa. <http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/132-world-table-olive-figures>. Último acceso: 17 Octubre 2017.

Columela, L.J.M. (42) "De Re Rustica". Vol II. Libro XII. (traducción de J.M. Álvarez de Sotomayor), Nestlé A.E.P.A. Santander (1979), págs. 209-213.

DOUE. Official Journal of the European Union. Regulation №1068/2012. L318/3eL318/4.

Esty JR, Meyer KF. The heat resistance of the spore of *Bacillus botulinus* and allied anaerobes. *Journal of Infectious Diseases*. 1922; 31: 650-663. 2012.

ESYRCE. Encuesta Sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos del Ministerio de Agricultura, alimentación y Medio Ambiente. <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/resultados-de-anos-anteriores/>. Última entrada: 17 Febrero 2017.

Galán-Soldevilla H., Ruiz- Pérez, P. 2012. Panel training programme for the PDO Aceituna Aloreña Málaga. *Grasas y Aceites* 63, 109-117.

Galán-Soldevilla, H., Ruiz- Pérez, P., Hernández-Campuzano, J.A. 2012. Determination of the characteristic sensory profiles of Aloreña table olive. *Grasas y Aceites* 64, 442-452.

Gallardo-Guerrero, L., Gandul- Rojas, B., Moreno-Baquero, J., López- López A., Bautista-Gallego, J., Garrido-Fernández, A. 2013. Pigment, Physicochemical, and Microbiological Changes Related to the Freshness of Cracked Table Olives. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 3737–3747.

Hurtado, A., Requant, C., Bordons, A. & Rozès, N. 2012. Lactic acid bacteria from fermented olives. *Food Microbiology* 31, 1-8.

López-López, A., Garrido-Fernández, A. 2010. Producción, elaboración, composición y valor nutricional de la Aceituna Aloreña de Málaga. Edita Redagua, Málaga.

Panagou, E.Z. 2004. Effect of different packing treatment on the microbiological and physicochemical characteristics of untreated green olives of the Conservolea cultivar. *Journal of Science of Food and Agriculture* 84, 757–764.

Panagou, E.Z. 2006. Greek dry-salted olives: monitoring the dry-salting process and subsequent physico-chemical and microbiological profile during storage under different packing conditions at 4 a 20 °C. *LWT Food Science and Technology* 39, 322–329

Panagou, E.Z., Schillinger, U., Franz, C.M.A.P., Nychas, G.J. 2008. Microbiological and biochemical profile of cv. Conservolea naturally black olives during controlled fermentation with selected strains of lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 25, 328–358.

Panagou, E.Z., Hondrodimou, O., Mallouchos, A., Nychas, J.E. 2011. A study on the implications of NaCl reduction in the fermentation profile of Conservolea natural black olives. *Food Microbiology* 28, 1301e1307.

15

Pelagatti, O., Brighigna, A. 1981. Rivitalizzazione e impiego di fermenti lattici essecati per la preparazione delle olive da tavola col sistema Sivigliano. *Industrie Alimentari*, 182e184.

Peres, C., Catuloa, L., Brito, D., Pintadoa, C. 2008. Lactobacillus pentosus DSM 16366 starter added to brine as freeze-dried and as culture in the nutritive media for Spanish style green olive production. *Grasas y Aceites* 59, 234e238.

Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M. 2010. Use of Lactobacillus plantarum and glucose to control the fermentation of "Bella di Cerignola" table olives, a traditional variety of Apulian region (southern Italy). *Journal of Food Science* 75, 430e436.

Psani, M., Kotzekidou, P. 2006. Technological characteristics of yeast strains and their potential as starter adjuncts in Greek-style black olive fermentation. *World Journal Microbiology and Biotechnology* 22, 1329e1336.

Ranadheera, R.D.C.S., Baines, S.K., Adams, M.C. 2010. Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International* 43, 1e7.

Randazzo, C.L., Restuccia, C., Romano, A.D., Caggia, C. 2004. Lactobacillus casei, dominant species in naturally fermented Sicilian green olives. *International Journal of Food Microbiology* 90, 9e14.

Randazzo, C.L., Fava, G., Tomaselli, F., Romeo, F.V., Pennino, G., Vitello, E., Cinzia, C. 2011. Effect of kaolin and copper-based products and of starter cultures on green table olive fermentation. *Food Microbiology* 28, 910e919.

Rejano Navarro, L., González Cancho, F., De la Borbolla y Alcalá, J.M.R. 1977. Estudios sobre el aderezo de aceitunas. XXIV. Nuevos ensayos sobre el control de la fermentación. *Grasas y Aceites* 28, 255e265.

Rodríguez, H., Curiel, J.A., Landete, J.M., de las Rivas, B., López de Felipe, F., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J.M., Muñoz, R. 2009. Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 132, 79e90.

Rodríguez-Borbolla, J.M., González- Pellisó, G., González-Cancho, F. 1971. Aceitunas verdes y de color cambiante en salmuera. I. Grasas y Aceites 22, 455e460.

Ruiz-Barba, J.L., Piard, J.C., Jiménez-Díaz, R. 1991. Plasmid profiles and curing of plasmids in *Lactobacillus plantarum* strains isolated from green olive fermentation. Journal of Applied Bacteriology 71, 417e421.

Ruiz-Barba, J.L., Cathcart, D.P., Warner, P.J., Jiménez-Díaz, R. 1994. Use of *Lactobacillus plantarum* LPC010, a bacteriocin producer, as a starter culture in spanishstyle green olive fermentations. Applied and Environmental Microbiology 60, 2059e2064.

Ruiz-Barba, J.L., Jiménez-Díaz, R. 1994. Vitamin and amino acid requirements of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from green olive fermentations. Journal of Applied Bacteriology 76, 350e355.

Ruiz-Barba, J.L., Jiménez-Díaz, R. 1995. Availability of essential B-group vitamins to *Lactobacillus plantarum* in green olive fermentation brines. Applied and Environmental Microbiology 61, 1294e1297.

Ruiz-Barba, J.L., Maldonado, A., Jiménez-Díaz, R. 2005. Small-scale total DNA extraction from bacteria and yeast for PCR applications. Analytical Biochemistry 347, 333e335.